

個体寿命を制御する内因性分子の研究

東北大学大学院生命科学研究科 分子生命科学専攻
有本 博一

1. はじめに

個体の寿命が科学的研究対象になったのは、1988年の寿命制御遺伝子の発見が契機と考えられる。FriedmanとJohnsonらは、線虫*Caenorhabditis elegans*のage-1遺伝子欠損が寿命を1.5倍に伸ばすことを示した。成虫になるまでの過程には変化がないため、成熟が全体として遅くなっているわけではなく、長寿化したと考えられている。わずかひとつの遺伝子変異が寿命に大きく影響することは、研究者に大きな衝撃を与えた。age-1の作用が発見される前は、寿命制御遺伝子の存在自体を疑う声が大きかった。少数の遺伝子が寿命を決定づけるのなら、すでに長寿を示す突然変異体（例えば、超長寿のヒト）が存在するはずと考えられていたからである。

2000年代になると、ゲノムが解読されたモデル生物を用いて、RNAiを駆使した寿命関連遺伝子の網羅的探索が行われた。その結果、数百の遺伝子が同定された。つまり、個体の寿命も遺伝子で制御された表現型であって、他の表現型と同様に遺伝学的研究が可能である。

これまでに発見された長寿遺伝子は、おもに3つの主要経路に関係している。第一は、インスリン様シグナル経路、第二はカロリー摂取制限に関係する経路、最後にミトコンドリア代謝抑制に関わる経路である。ヒトと進化的に離れた生物で発見された寿命関連遺伝子が、マウスなどヒトにより近い動物において同様の機能をもたらすことがわかり、寿命研究は一気に盛んとなった。

モデル生物は、ゲノム情報を始めとする基礎データが整備され、研究者が同じ条件で実験結果を比較できるなど強力な研究ツールである。老化や寿命の研究には、単細胞生物の酵母を用いる例もあるが、線虫、ショウジョウバエ、マウスなどが主に用いられる。神経組織や筋肉、生殖器官などの構造を備え、寿命が比較的短いことが理由となる。寿命制御の機構を理解することによって、ヒトの老化抑制や疾患予防につなげたいという機運も高まっている。

遺伝子変異を駆使する寿命研究は盛んに実施されているが、寿命関連遺伝子を操作してヒトの寿命を延ばしたり、老化をくい止めたりすることは倫理や安全性の観点から実現性に乏しい。例えば、超長寿マウスでみても、寿命制御遺伝子と成長因子に関連があるために、体長が小さくなる。誕生から継続して影響が続く点でも遺伝子改変は受け入れがたい。

このことから、最近では化合物投与や食品摂取による寿命、老化の制御に関心が高まっている。一般社会でもよく知られている赤ワインの成分レスベラトロールなどがモデル生物の寿命を延長する。しかし、寿命制御遺伝子の効果も最終的には内因性化合物によって発現している可能性が高い。2014年のサイエンス誌を飾ったKatsimpardiらの衝撃的な研究は、若いマウスの血液に老マウスを劇的に若返らせる物質が存在することを示すものであった。

本研究では、生物種に普遍的に存在する内因性化合物Aに着目し、その寿命延長効果と機構を解析した。学術論文として未発表であるため、本報告書内では、具体的な化合物名、遺伝子名が示されていないことをお詫び申し上げます。

2. 方法

この研究では寿命研究に汎用されるモデル生物として線虫を選んだ。寿命が約1ヶ月と比較的短いため、寿命測定実験を繰り返し行う上で利点がある。また、サイズが小さいため投与する化合物量を抑えることができる。線虫のからだは透明であることから組織の老化を観察することにも都合が良い。

今回注目した化合物Aを異なる濃度で含むNGM培地の上に餌の大腸菌OP50を載せて線虫を飼育した。*C. elegans*には雌雄同体と雄の2つの性があるが、本研究には雌雄同体のみを用いた。測定に用いる集団は、繁殖期の個体を6-24時間飼育し、その間に産み落とされた卵から孵化した個体(>100個体)を用いた(timed-egg-laying)。新たに生まれた個体が混入して寿命測定に影響を与えることを避けるため、2-3日に一度、全ての個体を1匹ずつ別の培地上に移動させた。全ての寿命測定実験は、少なくとも独立に3回実施して平均値に統計処理をおこなった。

3. 結果

3.1 化合物Aが寿命に与える影響

L4ステージに達した線虫を化合物Aを含む培地上で飼育したところ15%の平均寿命延長が見られた。生存曲線からは中齢期の死亡率を低下させ、最長寿命はあまり延長しないことが読み取れた。化合物Aには、構造が類似した生体内分子Bが存在する。Bを用いて同様の実験を行ったが、寿命延長は見

られなかった。ここで、化合物投与をL4期に開始した理由はL1, L2期でのダウナー化を回避するためである。この耐性幼虫は寿命が長く、実験結果の解釈に影響を与える。

化合物Aが抗菌活性を有する場合、餌となる大腸菌が死滅すると結果的に線虫は飢餓状態となる。このためカロリー制限による寿命延長が現れる。この作用を化合物の寿命延長作用と誤認している可能性を排除するため検討し、化合物Aには抗菌活性がないことを明らかにした。

同様に、線虫が化合物の味を忌避し、摂餌量が変化するとカロリー制限機構に基づいて個体寿命に影響がでる。この懸念を除くため、培地の半面にだけが化合物Aを含む状態で実験した。餌を両半分において線虫の摂餌行動を調べた。その結果、特に化合物側の餌（大腸菌）を忌避する傾向は見られなかった。

さらに、繁殖能の低下が寿命に影響するという報告に着目して観察を行ったが、化合物A投与による産卵数の変化は見られなかった。これらの全ての検討に基づいて、化合物A自体に寿命延長作用があると結論した。

3.2 投与のタイミング

3.1ではL4ステージから継続して化合物を投与した。ここでは孵化から成虫3日目までの合計5日間、L4ステージから成虫10日目までの11日間、成虫10日目以降の期間に分けて化合物の投与を行った。その結果、若い時期、老化した段階のみに投与しても寿命が延長しないことがわかった。また、飼育期間全体に継続して投与を続けるよりも、適切な時期に投与を限る方が大きい効果を示すことがわかった。

3.3 老化に対する効果

化合物Aに平均寿命延長作用が見られたので、次に生活の質に関する効果を評価した。

まず、タンパク質凝集体の蓄積に対する化合物の作用を調べた。凝集体蓄積は細胞機能低下の一因となる。例えばポリグルタミンタンパク質は凝集化しやすく、ヒトにおけるハンチントン病の原因と考えられている。

体側筋に蛍光性のポリグルタミンタンパク質を発現する線虫株は、成長とともにポリグルタミン凝集体数が増加し、成虫年齢5日目にその数が飽和になった。化合物Aを、寿命測定実験と同濃度で投与したところ、凝集体数の増加速度がゆるやかとなり、飽和に達するまでに7日間を要した。このことから、化合物Aは老化の指標であるタンパク質凝集体形成を抑制すると結論された。

線虫は老化に伴って顕著に運動能力が低下する。そこで、次に運動能を測定した。水中に線虫をおき、30秒間で何回屈曲運動をするか顕微鏡下で観察する。L4ステージ以降に化合物Aを投与して飼育した個体は、成虫年齢8日間頃までは比較群と同程度の屈曲回数であったが、成虫年齢10日以降になると比較群よりも運動能力の低下が抑制され、3割から8割多い屈曲をおこなった。この実験から、化合物Aは線虫の寿命を延長するだけでなく、運動能力を含む健康状態をながく良好に保つ作用があることが明らかになった。

3.4 寿命延長のメカニズム

すでに述べたように寿命延長に関わる遺伝子の多くは、3つの主要な経路に関係する。そこで、これらの代表的遺伝子を欠損させた株を用意し、化合物Aによる寿命延長作用との関連を調査した。

遺伝子Bは、その欠損によって寿命が20%程度延長する寿命抑制遺伝子である。この株に化合物Aを投与して、投与の有無で寿命の変化を調べたところ、投与群で13%程度さらに寿命が延長した。このことは遺伝子Bが関与する寿命制御機構と化合物Aが関与する機構が互いに独立していることを示している。

次に遺伝子Cを取り上げた。この遺伝子を欠損させると、上の遺伝子Bとは異なる機構で線虫の平均寿命が20%程度延長する。化合物Aは、この欠損株において平均寿命を延長しなかった。この結果は、化合物Aの作用が遺伝子Cを必要とすることを意味する可能性がある。

遺伝子Dは、線虫の寿命制御に関わる主要なもので、野生型よりも100%程度寿命が延長する。化合物Aを投与すると、寿命が長い遺伝子D欠損株の平均寿命を7%程度短縮した。化合物Aと化学構造が類似する化合物Eを使っても同様の寿命短縮効果がみられることから、その作用機序について共通の機構が働いていると考えられる（省略）。

今回の研究で化合物Aと寿命の関係を着想したのは、化合物Aの生体内生成に関わる別の内因性分子の存在がある。最近、他の研究グループは、この内因性分子が線虫寿命を延長すること、そして、その機構には遺伝子FとGが関わっていることを発表した。そこで、筆者らも遺伝子FとGについて取り上げることにした。

遺伝子Fは老化や寿命制御の主要な制御因子である。哺乳類の場合には複数のホモログが存在するが線虫には一種類しか存在しない。先ほど化合物Aの作用が遺伝子Cを必要とすることが分かったが、遺伝子Cが寿命延長を行う際には、遺伝子Fが通常同時に関与しないと考えられている。しかし、今回調べてみると、化合物Aの寿命延長作用には遺伝子CだけでなくFも必要であることがわかった。このことから、教科書的に知られている遺伝子Cの作用以外の機構が寿命延長に重要であるという示唆を得た。

遺伝子Gは細胞保護に関わるタンパク質群の発現制御をおこなう転写因子をコードしている。主要

な寿命制御メカニズムのひとつでは遺伝子FとGがともに働いている。化合物Aは遺伝子Gの欠損条件下では平均寿命を延長しなかった。

これらの遺伝子F, Gに関する結果は、上記内因性分子の寿命延長機構と化合物Aの寿命延長機構が同一もしくは関連していることを暗示している。

3.5 恒常性維持機構Hとの関係

化合物Aの寿命延長作用は、代表的な3つの主要寿命制御機構だけでは十分に説明できない。そこで、化合物Aが有する別の生理作用Hと寿命制御遺伝子との関係を調査した。

生理作用Hを評価できる線虫株を用意し、化合物Aを投与したところ予期した通りHの活性化が見られた。生理機構Hは、上で取り上げた遺伝子Fを必要としないことが多い。この点で化合物Aが機構Hを活性化する機構は、通常のものとは違うと考えられる。機構Hは、通常はタンパク質Iを必要とするが、最近ではIが関与しない活性化機構も知られている。実際に調べたところ、化合物AはIの関与がない条件でHを活性化していることがわかった。

これまでの検討結果は、線虫の細胞内で生理作用Hが活性化し、化合物Aの寿命延長効果に働いたと考えて矛盾がない。

4. まとめ

今回、筆者らは内因性分子である化合物Aの個体寿命延長効果を発見し、その作用機構を各種の寿命制御遺伝子の関与、恒常性維持機構Hとの関係に絞って検討した。単なる寿命延長効果だけでなく運動能力など生活の質の改善が見られていることから、将来的には、哺乳類での検証につなげていきたい。

5. 発表論文

なし