

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14574

研究課題名(和文) ROS産生酵素による寿命延長機構の解明

研究課題名(英文) Lifespan extension by peroxidase/dual oxidase-mediated ROS signaling through pyrroloquinoline quinone in *C. elegans*

研究代表者

森 郁恵 (MORI, Ikue)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：90219999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：活性酸素(ROS)は、生命現象において重要な機能を担っている。特に、ミトコンドリアから放出される低レベルのROS(mtROS)は、寿命を延長させることが知られている。本研究では、線虫の解析により、生体膜で作用するDual oxidase(BLI-3)によって生成されたROSが、peroxidase(MLT-7)によって分解されることによって、低レベルのROSが産生されることで、線虫の寿命を延長させることを見出した。また、Redox co-factorであるpyrroloquinoline quinone(PQQ)は、生体膜依存的BLI-3を活性化させることも突き止めた。

研究成果の概要(英文)：Reactive oxygen species (ROS) are recognized as important signal molecules regulating various biological processes. Low levels of ROS released from mitochondria extend lifespan. We identified a novel mechanism of ROS-mediated lifespan extension by generating fine-tuned ROS level at the plasma membrane through a peroxidase/dual oxidase system in *Caenorhabditis elegans*. A redox co-factor, pyrroloquinoline quinone (PQQ), activates dual oxidase (DUOX)/BLI-3 to produce the ROS H₂O₂ at the plasma membrane, which is subsequently degraded by peroxidase/MLT-7 to generate the appropriate levels of ROS. The ROS signal appeared to be mediated by the oxidative stress transcriptional factors SKN-1/Nrf2 and JUN-1. We propose that low levels of ROS, fine-tuned by the peroxidase/dual oxidase system at the plasma membrane, act as second messengers, to extend lifespan by the effect of hormesis.

研究分野：神経科学

キーワード：老化 活性酸素 遺伝学 線虫

1. 研究開始当初の背景

フリーラジカル理論の提唱以来 (Herman, 1956)、ROS の老化促進論は、広く研究者に受け入れられてきた。しかしながら、近年の発生・再生分野での ROS のシグナル伝達分子としての関与や、老化・寿命の分野での ROS の寿命延長物質としての働きの報告により、酸化ストレスのセントラルドグマとしての従来の ROS の毒性論を見直すべき時期にきている (Finkel, 2011, Yee et al., 2014)。ピロロキノリンキノン PQQ は、抗酸化作用、ミトコンドリア新生、神経保護等の生理活性を持つ他に、抗老化作用を持つことが提唱されている。実際、PQQ を餌から除いたマウスは、発達不全、生殖能低下、骨不全等の早期

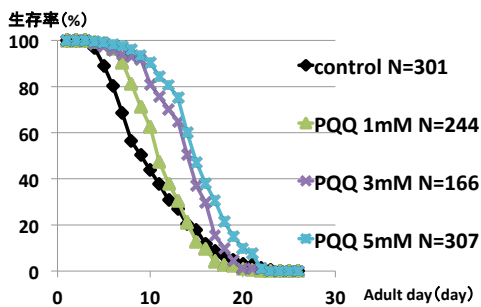


図1:PQQの濃度依存的寿命延長効果

X軸は成虫後の日数、Y軸は生存率を示す。
成虫になるまでPQQ無しで飼育し、成虫後それぞれのPQQの濃度の培地で飼育した。

老化様症状を示すことも示されている (Rucker et al., 2009)。しかし、動物の寿命への効果は現在まで不明であった。

申請者らは、線虫を用いて PQQ の寿命への関与を解析し、濃度依存的に寿命を延長することを新たに見いだした (図 1)。

2. 研究の目的

申請者らによる分子遺伝学的な解析により、PQQ による寿命延長機構として以下のモデルが考えられた (図 2)。PQQ が Dual Oxidase /BLI-3 を活性化し、ROS を産生する。この ROS が 2nd メッセンジャーとなり、ストレス応答性 MAPK カスケードの活性化を介して転写因子 SKN-1 の活性化を導く。SKN-1 は、phase II 解毒酵素群の発現を誘導し、寿命促進作用のあるミトコンドリア由来の ROS や細胞内毒素などをスカベンジャーし長寿を実現する。本研究では、このモデルを、分子遺伝学的・細胞生物学的な解析により補強・検証し、PQQ によって Dual Oxidase /BLI-3 が産生する ROS が、寿命を延長する機構の全体像解明を目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、PQQ による Dual Oxidase /BLI-3 を介した寿命延長機構を、分子遺伝学、細胞生物学、光学的手法を補完的に用いて解明していく。具体的には、申請者らが提唱し

ている寿命延長機構モデル (図 2) を分子遺伝学・細胞生物学的解析により多角度から検証・補強していく。

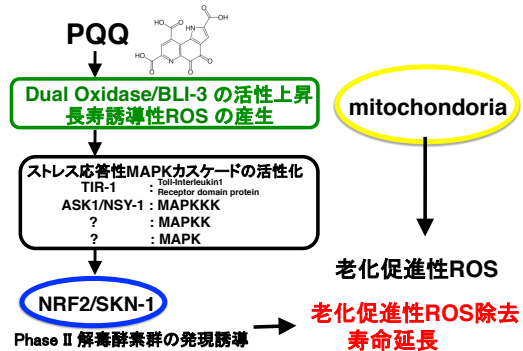


図2:PQQによる Dual Oxidase/BLI-3 を介した寿命延長機構モデル

4. 研究成果

活性酸素 (Reactive oxygen species、ROS) は、近年、様々な生命現象において重要な機能を担っていることが知られてきた。特に、ミトコンドリアから放出される低レベルの ROS (mtROS) は、寿命を延長させることが明らかになった。本研究では、線虫の遺伝学的解析により、生体膜で作用する Dual oxidase (BLI-3) によって生成された ROS が、peroxidase (MLT-7) によって分解されることによって、生体膜依存的に、低レベルの ROS が産生されることで、線虫の寿命を延長させることを見出した。

また、Redox co-factor である pyrroloquinoline quinone (PQQ) は、線虫 *C. elegans* の寿命を延長する作用があることを明らかにした。PQQ が、生体膜依存的 BLI-3 を活性化させることで、ROS を産生させ、生体膜依存的 MLT-7 によって、ROS の分解系が働き、最終的に、寿命延長に必要な、適切なレベルの ROS が産生することを突き止めた。

さらに、生体膜で産生した低レベルの ROS は、酸化ストレスに関与することが知られている転写因子である SKN-1/Nrf2 と JUN-1 を介して、寿命延長を促進することも明らかにした。in vitro の細胞学的実験により、PQQ は、線虫の BLI-3 のみならず、ヒトの dual oxidase である DUOX1 と 2 も活性化して、ROS を産生させることもわかった。

本研究の解析により、ミトコンドリアから放出される mtROS とは独立に、膜依存的な活性酸素の合成/分解系を介して産生した低レベルの ROS が存在することを発見し、その膜依存的な ROS が、セカンドメッセンジャーとして機能することにより、ホルメシス効果によって寿命を延長させることが示唆された (図 3)。

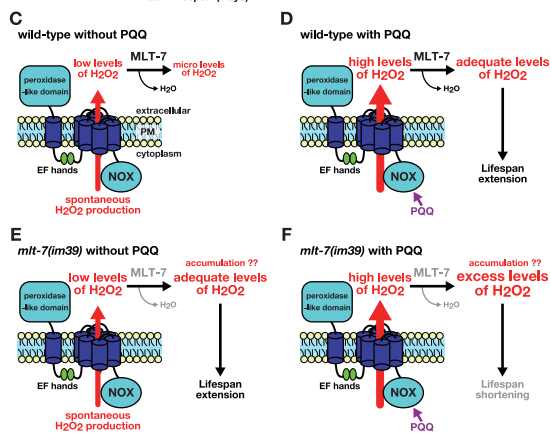


図3：生体膜依存的 ROS 産生による寿命延長機構モデル

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Tsukada, Y., Yamao, M., Naoki, H., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A., Ishii, S. & Mori, I. Reconstruction of spatial thermal gradient encoded in thermosensory neuron AFD in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci.* **36** (9): 2571-2581 (2016). (査読あり)

2. Kobayashi, K., Nakano, S., Amano, M., Tsuboi, D., Nishioka, T., Ikeda, S., Yokoyama, G., Kaibuchi, K. and Mori, I. Single-Cell memory regulates a neural circuit for sensory behavior. *Cell Reports* **14** (1): 11-21 (2016). (査読あり)

3. Yoshida, A.*, Nakano, S.*, Suzuki, T., Ihara, K., Higashiyama, T. and Mori, I. (*equally contributed) A glial K⁺/Cl⁻ cotransporter modifies temperature-evoked dynamics in *Caenorhabditis elegans* sensory neurons. *Genes, Brain, Behav.* doi: 10.1111/gbb.12260 (2015). (査読あり)

4. Aoki, I. and Mori, I. Molecular biology of thermosensory transduction in *C. elegans*. *Curr Opin Neurobiol.* **34**: 117-124 (2015). (査読あり)

5. Yoshinari, Y., Mori, S., Igarashi, R., Sugi, T., Yokota, H., Ikeda, K., Sumiya, H., Mori, I., Tochio, H., *Harada, Y. and Shirakawa, M. Optically Detected Magnetic Resonance of Nanodiamonds In Vivo; Implementation of Selective Imaging and Fast Sampling. *J Nanosci Nanotechnol.*

15 (2): 1014-1021 (2015). (査読あり)

[学会発表] (計 16 件)

招待講演 2 件

1. 森 郁恵, 「線虫行動と神経回路の包括的解析から記憶、学習、意思決定のメカニズムを探る」, 第34回日本生理心理学会大会, 豊田講堂, 名古屋市, 2016. 5. 14.

2. Ikue Mori, “Unveiling principle of neural circuits underlying learning, memory and decision-making”, Sciece Lecture Series at Department of Life Sciences, Pekin University, 北京大学, 北京市, 2016. 5. 27 .

外 14 件

[図書] (計 1 件)

三浦耕太, 塚田祐基 「Image J ではじめる生物画像解析」, 学研プラス, ISBN-10:4780909368, 2016 年.

[産業財産権]

○取得状況 (計 2 件うち未公開 1 件)

名称: 新規な寿命延長剤、該寿命延長剤を用いた寿命延長方法、新規なデュアルオキシダーゼ活性化剤、デュアルオキシダーゼの活性化方法、寿命延長剤の製造、及びデュアルオキシダーゼ活性化剤の製造

(PCT/JP2015/076796)

発明者: 森 郁恵, 笹倉寛之, 池本一人, 中野昌彦

番号: W0/2016/047637

取得年月日: 2015 年 9 月 18 日

国内外の別: PCT 出願

[その他]

ホームページ等

名古屋大学理学研究科分子神経生物学講座
<http://elegans.bio.nagoya-u.ac.jp/~lab/index.html>

名古屋大学理学研究科ニューロサイエンス研究センターHP

<https://nsi.bio.nagoya-u.ac.jp/jp/about/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 郁恵 (MORI, Ikue)

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 90219999

(2) 連携研究者

中野 俊詩 (NAKANO, Shunji)

名古屋大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：60608529

(3) 連携研究者

塚田 祐基 (TSUKADA, Yuki)

名古屋大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：8058000