

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 2 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26500015

研究課題名(和文) ポリアミンによるアンチエイジング

研究課題名(英文) Biological background of polyamine-induced life-span extension of mammals

研究代表者

早田 邦康 (Soda, Kuniyasu)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：00221341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：豆類や野菜類などの健康長寿食や地中海食などの健康長寿食に多く含まれるとされたポリフェノールなどの抗酸化物質と呼ばれる物質の摂取で哺乳類の寿命延長が達成できないことが多くの論文で明らかにされている。我々は、健康長寿食とよばれている豆類、野菜類、きのこ類や魚介類や健康長寿食習慣である地中海食と日本食に多く含まれるポリアミンがマウスの寿命を延長することを報告してきた。この研究では、その背景を検討した。その結果、ポリアミンは抗炎症・抗酸化作用、および遺伝子保護作用などに加えて、遺伝子の異常メチル化と呼ばれるいわば“遺伝子の老化”を抑制する作用を有することを明らかにし、その基礎的背景を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Many experiments have shown that mammalian life-span extension cannot be attained by ingestion of the so-called antioxidants, such as polyphenols contained in healthy macrobiotic foods such as legumes and vegetables and in macrobiotic dietary pattern such as Mediterranean diet. We have reported that the polyamines (spermine and spermidine) contained in so-called healthy macrobiotic diet such as legumes, vegetables, mushrooms, fishes, and shellfishes, and the healthy macrobiotic diet pattern such as Mediterranean diet and the Japanese food extends life-span of mice. The purpose of the study is to unveil the biological background of polyamine-induced mammalian life-span extension. As a result, we found that, in addition to biological activities such as an anti-inflammation, an antioxidant action, a gene protective action, etc., polyamine inhibits abnormal gene methylation associated with aging and aging associated pathologies.

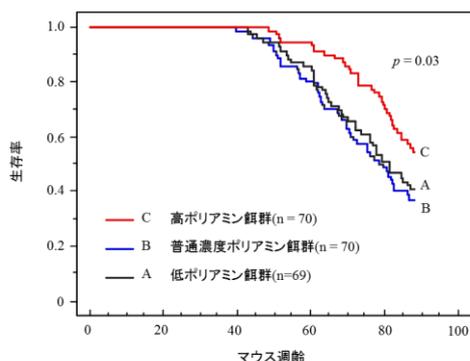
研究分野：アンチエイジング医学

キーワード：生活習慣病 老化 アンチエイジング ポリアミン スペルミン 遺伝子メチル化 遺伝子修飾 健康長寿食

1. 研究開始当初の背景

健康長寿に寄与すると信じられてきた緑黄色野菜や赤ワインに多く含まれるポリフェノール類の健康長寿効果は否定的になってきている。たとえば、天然のポリフェノールなどの抗酸化物質を投与（単独でも混合でも）しても、マウスなどの哺乳類の寿命延長効果が認められないという報告が大勢を占めている。また、基礎的な背景も疑問視されている。すなわち、ポリフェノールの一種であるレスベラトロールにはサーチュイン遺伝子を活性化せず、サーチュインの活性化は長寿をもたらさないことが報告されたからである。また、その他の抗酸化物質による哺乳類の健康長寿効果を明確に示した研究成果は認められない。

日本食や地中海食と呼ばれる食事習慣や大豆などの豆類や野菜および魚介類などの食品は生活習慣病の抑制や寿命延長と関連があり健康長寿食と考えられている。われわれはこれらの食品や食習慣にはポリアミン（スペルミンとスペルミジン）という物質が多量に含まれていることを指摘してきた。そして、合成ポリアミンを加えてポリアミン濃度を高めた餌を食べ続けたマウスの血中のポリアミン濃度が上昇するとともに寿命が延長した。



図の説明：高ポリアミン餌で飼育したマウスの寿命が延長した（赤線）。

高ポリアミン餌で飼育されたマウスの人組織の遺伝子を検査すると、加齢とともに進行する遺伝子全体の異常メチル化（脱メチル化とメチル化の進行）が抑制されていた。また加齢とともに増加する免疫細胞の細胞膜タンパクである lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1)の増加が抑制されていた。LFA-1は免疫細胞の活性化に重要な役割を担うタンパクであり、免疫細胞の活性化は炎症を誘発する。LFA-1は加齢とともに増加し、Inflamm-agingと呼ばれる加齢に伴って炎症が生じやすくなり、かつその炎症が生活習慣病の原因であることを示す言葉である。よって、加齢とともに増加するLFA-1は老化や生活習慣病の進行を促進する因子

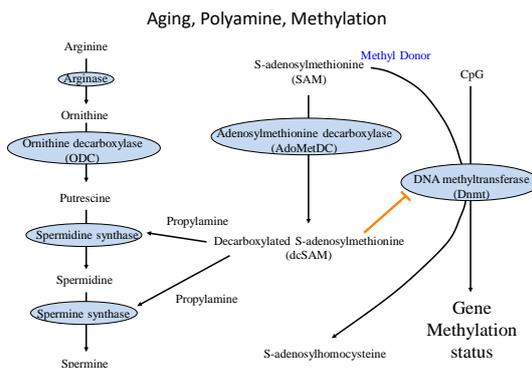
の一つと考えることができる。

ポリアミンには前述の抗酸化物質同様に、抗酸化・抗炎症作用、遺伝子や細胞保護作用がある。しかし、上述したように、このような生理活性のみでは哺乳類の寿命延長や老化抑制は達成できないことが明らかにされている。よって、ポリアミンによる哺乳類の健康長寿効果の基礎的背景を明確にする必要がある。

2. 研究の目的

In vitroの検討では、Jurkat細胞のポリアミン合成酵素の ornithine decarboxylase (ODC)をポリアミン合成阻害剤である difluoromethylornithine (DFMO)で阻害すると、遺伝子全体の異常メチル化が生じ、LFA-1プロモーター領域の脱メチル化とLFA-1タンパクの増加が生じる。その細胞に、ポリアミンを加えて細胞内ポリアミン濃度が上昇すると、遺伝子全体の異常メチル化が抑制されるとともに、LFA-1プロモーター領域のLFA-1発現に密接な関係のある部位がメチル化をうけて、LFA-1タンパクが減少することを明らかにした。

そこで、この研究では、ポリアミン不足による遺伝子異常メチル化の基礎的背景を明確にし、ポリアミンを加えることによる遺伝子異常メチル化の改善の基礎的背景とポリアミンによってプロモーターのメチル化が制御される遺伝子を検索する。



図の説明：ポリアミン合成（図の左）と遺伝子のメチル化制御（図の右）には密接な関係がある。よって、ポリアミン代謝が変化すると、遺伝子のメチル化に係る酵素である DNA methyltransferase (Dnmt)の活性が影響をうける。

3. 研究の方法

これまでに用いてきた Jurkat 細胞に加えて、正常細胞である乳腺上皮細胞を用いて検討する。加齢に伴うポリアミン合成酵素活性の低下を再現するために、ポリアミン合成酵素である ODC活性を DFMOで阻害した細胞でのポリアミン代謝および遺伝子メチル化に係る物質濃度の変化と酵素活性の変化を検討する。さらに、DFMOで処理した細胞にポリアミンを加えてポリアミン濃

度を高めた細胞内におけるポリアミン代謝および遺伝子メチル化に係る物質濃度の変化と酵素活性の変化を検討した。

4. 研究成果

DFMO でポリアミン合成酵素である ODC 活性を抑制してポリアミン合成能を加齢細胞に類似させた細胞 (Jurkat および正常乳腺細胞) では、ポリアミン濃度が低下し、ポリアミン合成に必須の decarboxylated S-adenosylmethionine (dcSAM) の濃度が上昇した。dcSAM は遺伝子のメチル化を制御する DNA methyltransferase (Dnmt) 1, 3a, および 3b の酵素活性を低下させた。しかし、これらの酵素の蛋白量 (酵素量) は減少させなかった。さらに、DFMO で処理した細胞にポリアミンを加えるとポリアミン濃度が上昇し、Adenosylmethionine decarboxylase (AdoMetDC) 活性がネガティブフィードバック機構により低下した。AdoMetDC は S-adenosylmethionine (SAM) に作用して dcSAM を合成する酵素であるので、AdoMetDC の活性低下は SAM から dcSAM への変換を阻害し、結果として dcSAM 濃度が減少した。dcSAM は Dnmt の活性を抑制するように作用するために、その減少は Dnmt を活性化させると推測されたが、実際に Dnmt の中でも主に Dnmt 3b を活性化させることが分かった。しかし、ポリアミンを加えても、ポリアミン不足で活性が低下した Dnmt 1 は低下したままであった。得られた成果はこれまで報告されていない新規の知見であり、かつこれまでのほかの分野の研究者による報告と矛盾しない研究成果である。

以前我々は、ポリアミン不足が Not1 という制限酵素で切断される部位の異常メチル化を生じさせ、ポリアミンによって異常メチル化が改善することを報告した。ポリアミン濃度の変化によってメチル化状態が変化する部位は NotI で切断される部位の 10-15% 程度であることを報告している。そし、この研究成果では前述のことを明らかにできた。

ヒトの老化や生活習慣病の進行が遺伝子の異常メチル化と密接な関連のあることと、マウスの長寿研究の成果で高ポリアミン餌 (食) が加齢とともに進行するマウス遺伝子の異常メチル化を抑制した事実を合わせて考えると、ポリアミン濃度の上昇でプロモーター領域の異常メチル化が改善する遺伝子を検索することは、天然成分による健康長寿科学を進めていくうえで極めて重要なことである。

残念ながら、本研究の継続 (遺伝子解析) を計画した平成 29 年度科研費の申請が却下され、資金不足によって本研究の発展が大幅に遅れるという危機的状況にある。

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)

本研究は 3 年前に開始し、平成 29 年 3 月まで継続しておりました。また、遺伝子解析の結果を含めて発表する予定です。現時点で、本研究費による成果の発表はありません。しかし、研究助成受給期間に行った発表は以下のとおりです。

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早田邦康 (SODA, Kuniyasu)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号：00221341

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

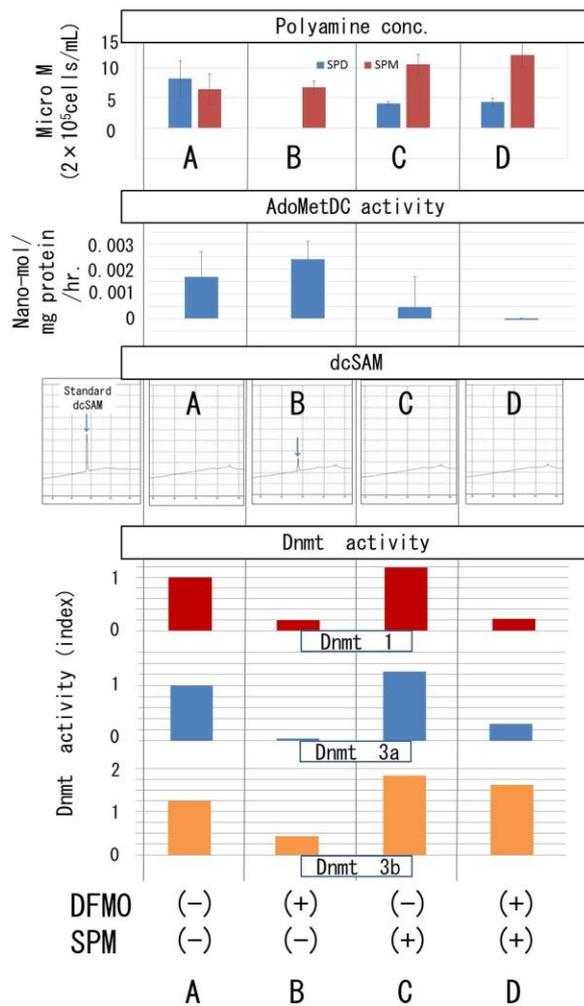
()

研究者番号：

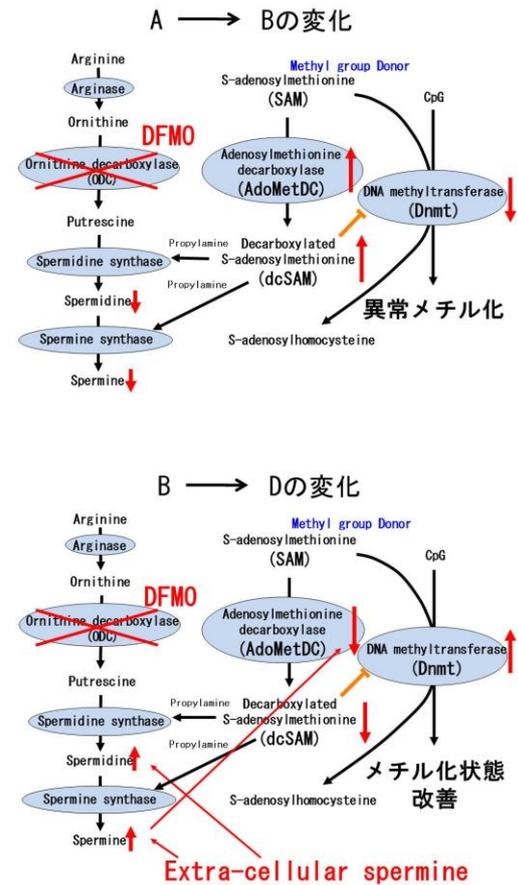
(4) 研究協力者

()

研究結果図



左図 結果のまとめ (論文未発表のため、取り扱い注意)
 通常培養の Jurkat 細胞 (A) と比較すると、DFMO でポリアミン合成を阻害した細胞 (B) では、ポリアミン濃度が低下し (polyamine conc. 図)、AdoMetDC が軽度活性化され (AdoMetDC 図)、dcSAM 濃度が上昇し (dcSAM 図)、その結果、dcSAM によって抑制されるとされてきた Dnmt 活性がすべて抑制された (Dnmt activity 図)。DFMO で処理した細胞にスペルミンを加えると (D)、ポリアミン濃度が上昇し (polyamine conc. 図)、AdoMetDC 活性が抑制され (AdoMetDC 図)、dcSAM 濃度が低下し (dcSAM 図)、Dnmt の中でも Dnmt 3b のみが活性化した (Dnmt activity 図の右端)。DFMO を加えずにスペルミンのみを加えた細胞 (C) でも、AdoMetDC 活性が抑制され (AdoMetDC 図)、dcSAM 濃度が低下し (dcSAM 図)、Dnmt はすべて活性化された。(Dnmt activity 図)。



右図 結果のまとめ (論文未発表のため、取り扱い注意)
 図は Jurkat 細胞を DFMO で処理した時のポリアミン合成および遺伝子メチル化に係る物質濃度や酵素活性に係る変化を示した。下図は DFMO でポリアミン合成を阻害した細胞に、細胞外からスペルミンを供給した際に生じる変化を示した。

ODC; ornithine decarboxylase、DFMO; α -difluoromethylornithine、SAM; S-adenosylmethionine、AdoMetDC; S-adenosylmethionine decarboxylase、dcSAM; Decarboxylated S-adenosylmethionine、Dnmt; DNA methyltransferase