

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03792

研究課題名(和文) 酵母に学ぶ長寿戦略

研究課題名(英文) Longevity strategy learned from yeast

研究代表者

饗場 浩文 (Aiba, Hirofumi)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：60211687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：高等動物の寿命を理解する前提として分裂酵母をモデルに細胞寿命制御因子の同定を試みた。その結果、既知の普遍的寿命延長シグナルであるカロリー制限に加えて、新たに硫黄の枯渇が寿命延長シグナルであること、硫黄の枯渇は、リボソームの質的・量的制御を介して寿命を延ばすことを見出した。今後、具体的機構を解明するためにポリソーム解析の実験系を確立した。他方、分裂酵母の寿命を制御する新規因子を遺伝学的に同定するため、大規模スクリーニングを続けた。この中から、複数の新規寿命制御因子の候補を見出すことに成功した。今後、ヒトを含む高等動物にまで共通して保存される因子に着目し機能を解明する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む高等生物の寿命を理解することは健康長寿社会の構築に重要である。本研究では、未だ不明な点が多い高等動物の個体寿命を理解する前提として、分裂酵母をモデルとして用いて細胞寿命の制御機構を理解することを目指した。その結果、既知の普遍的寿命延長シグナルとして知られているカロリー制限以外にも、硫黄の枯渇が新たな寿命延長シグナルとして機能することを見出した。さらに、分裂酵母から新規な長寿変異株を取得し、その原因因子候補を複数同定した。これらの中から、ヒトにまで保存される因子の機能を解明することで寿命制御の新たな知見や寿命創薬の標的因子が見出されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Understanding the control mechanism of cell lifespan is a prerequisite for understanding the lifespan of higher animals. Therefore, we attempted to identify genetic factors that affect cell lifespan using fission yeast as a model. As a result, in addition to the known universal life extension signal, calorie restriction, the new sulfur depletion is a life extension signal, and sulfur depletion prolongs life through qualitative and quantitative control of the ribosome. I found that. In the future, we have established an experimental system for polysome analysis in order to elucidate the specific mechanism. On the other hand, large-scale screening was continued to genetically identify novel factors that control the lifespan of fission yeast. From this, we succeeded in finding multiple candidates for new lifespan control factors. In the future, we plan to elucidate the function by focusing on factors that are commonly conserved in higher animals including humans.

研究分野：微生物学、分子生物学

キーワード：寿命 分裂酵母 老化 微生物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

増殖定常期の酵母は細胞分裂が停止した状態にあり、そこでの生存期間は「経時寿命」と定義される。これは、脳神経細胞や心筋細胞のように分化を終えた細胞の寿命や老化を理解するよいモデルとなる。近年のモデル生物を対象とした研究により寿命関連因子が見出され、さらに種を超えて共通する寿命制御因子の存在が明らかになってきた。しかしながら、寿命の制御機構に関しては不明な点が多く、その解明が望まれる。

2. 研究の目的

健康長寿社会の構築のためには、ヒトに代表される高等動物の寿命を理解する必要があるが、未だその詳細は未解明である。高等動物の寿命を理解する前提としてまず細胞レベルで寿命を理解することが必要と考え、申請者は微生物の専門家の立場から分裂酵母をモデルにこの問題に取り組むこととした。本研究を通して新規かつ普遍的な細胞寿命制御の基盤知識を得ることが大きな目標である。具体的に以下の2点に焦点を当てて解析を進める。

(1) これまでに唯一知られている普遍的な寿命延長シグナルは「カロリー制限」のみである。そこでこれ以外の新規な寿命延長シグナルを同定する。申請者は、「硫黄の枯渇が寿命延長シグナルとして働き、リボソームを介して寿命をのばす」ことを示唆する結果を得た。この具体的な機構を明らかにすることで、寿命制御の新しい概念を提案する。

(2) 分裂酵母の寿命を制御する新規因子を遺伝学的に同定する。この中から、ヒトを含む高等動物にまで共通して保存される因子に着目し、機能を明らかにする。

3. 研究の方法

その1: 「硫黄枯渇によるリボソームの質的・量的変化が寿命を制御する」機構を解明する。

- ・申請者は、分裂酵母の経時寿命を延ばす4条件(長寿遺伝子 Ecl1 の高発現、硫黄制限、窒素制限、カロリー制限)を見つけている。そこでこれら4条件において、リボソーム遺伝子ならびにタンパク質群の発現量を定量し、共通して低下する因子を見つける。

- ・上記で認められるリボソームの低下は、単に栄養枯渇による増殖低下の結果ではなく、寿命延長の原因であることを、リボソームの変異株や抗生物質を用いて証明する。

- ・リボソーム遺伝子の発現調節に関わる転写因子群を同定するとともに、リボソームが低下する際に起こる具体的な細胞内変化を見つけ出し、寿命延長との関係を解明する。これにより寿命延長のメカニズムを明らかにする。

- ・硫黄枯渇がオートファジーを誘発することを発見したので Ecl1 の必要性を解析する。

その2: 新規な寿命因子を探索し、機能を明らかにする。

- ・寿命制御の全体像を明らかにする為に、分裂酵母から長寿遺伝子、長寿変異株を大規模にスクリーニングする。この中から高等動物にも保存される因子に着目し、その働きを明らかにする。この過程で創薬ターゲット候補となる寿命因子を抽出する。

- ・長寿因子 Pma1 が寿命を延長する機構を解明する。Pma1 のインヒビター候補を見出したので、これをリード化合物として活性・特異性の高いインヒビターを開発する。これが分裂酵母

ならびに培養細胞や動物個体の寿命に及ぼす効果を調べる。

4 . 研究成果

当初目的に沿った研究計画を遂行し、以下の成果を得た。

その 1 :

トランスクリプトーム解析から長寿遺伝子 Ecl1 の高発現あるいは硫黄制限において、共にリボソーム遺伝子群の発現が低下することを見出した。リボソーム遺伝子の代表として S6 タンパク質 (Rps6) を取りあげ、タンパク質発現量を解析したところ、上記条件に加え、カロリー制限あるいは窒素源の欠乏においても Rps6 タンパク質量が低下することを見出した。すなわち、分裂酵母の経時寿命を延長する諸条件においてリボソーム量の低下が起こることを見出した。この内、硫黄の制限は Ecl1 の発現誘導を引き起こすこと、硫黄制限による寿命延長は Ecl1 ファミリーに依存することから、Ecl1 は硫黄制限による寿命延長を仲介する因子であると結論した。さらにリボソーム機能の低下が寿命延長の原因であることを証明するため、リボソーム変異株 ($\Delta rpl1201$, $\Delta rps002$, $\Delta rpl15$, $\Delta rpl42$ の 4 種) ならびにリボソーム 60S サブユニットの成熟を阻害する抗生物質(Diazaborine)の添加によって、共に寿命が延長することを証明した。今後は、リボソーム遺伝子の発現調節に関わる転写因子を同定すること、ならびにリボソーム低下時の細胞内変化を解析し、寿命制御との関連を解明する予定である。上記に加えて、硫黄枯渇による寿命延長の際にオートファジーが起こること、これが Ecl1 ファミリーに依存すること、オートファジー欠失株では硫黄制限による寿命延長効果が損なわれることも明らかにした。

その 2 :

分裂酵母から長寿命変異株をスクリーニングし、glucanosyltransferase をコードする *gas1* 遺伝子の変異により細胞壁ストレスが惹起され Pmk1 と Sty1 MAP キナーゼを介して寿命を延長することを見出した。また、セリ科植物由来の天然化合物 tschimganine (TMN) が Sty1 を介して寿命延長することを見出した。また TMN と同様の活性を示す類縁体を特定した。現在、TMN が有する生育阻害活性に着目し、これを解消する変異株をスクリーニングしており、本解析を通して TMN の作用機序に関する知見が得られると期待している。必須因子 Pma1 (H⁺-ATPase) の活性低下型変異によって寿命が延長することを見出したのを契機に、Pma1 阻害剤の開発と寿命延長効果の解析を進めている。現在までに、阻害活性と寿命延長効果を有する化合物の最小構造に関する知見が蓄積できた。今後、阻害剤の具体的作用機構を解明する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ohtsuka, H., Kato, T., Sato, T., Shimasaki, T., Kojima, T., and Aiba, H.	4. 巻 294
2. 論文標題 Leucine depletion extends the lifespans of leucine-auxotrophic fission yeast by inducing Ecl1 family genes via the transcription factor Fil1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol. Genet. Genomics	6. 最初と最後の頁 1499-1509
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00438-019-01592-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hibi Takahide, Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Inui Shougo, Shibuya Masatoshi, Tatsukawa Hideki, Kanie Kei, Yamamoto Yoshihiko, Aiba Hirofumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Tschinganine and its derivatives extend the chronological life span of yeast via activation of the Sty1 pathway	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 620 ~ 637
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 岡崎亜美、小菅清二、三輪由紀子、饗場浩文、村上浩士
2. 発表標題 S. pombeでの減数分裂におけるFkh2の減数分裂前DNA複製と減数分裂を連携するチェックポイント機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小菅清二、山田貴富、村上優子、饗場浩文、村上浩士
2. 発表標題 分裂酵母におけるDNA 複製と相同組換え開始を制御するCds1 キナーゼと転写因子Mei4 の機能解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島崎嵩史、今井優希、榎村千尋、大塚北斗、井原邦夫、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるgas1 変異による寿命延長機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤哲平、大塚北斗、加藤敬典、島崎嵩史、饗場浩文
2. 発表標題 アミノ酸枯渇に応答する分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 Family 遺伝子の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林未来登、佐藤哲平、大塚北斗、島崎嵩史、饗場浩文
2. 発表標題 マグネシウム枯渇条件下における分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 family遺伝子の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八田佳子、筒井優、服部允起、島崎嵩史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における (Ecl1ファミリー遺伝子を介した) 硫黄枯渇による細胞小型化の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Murakami, Seiji Kosuge, Takatomi Yamada, Hirofumi Aiba, and Yuko Murakami
2. 発表標題 Phosphorylation of Mei4 by Cds1 in the meiotic DNA replication checkpoint linking pre-meiotic DNA replication and meiotic recombination in fission yeast.
3. 学会等名 The 10 th International Fission Yeast Meeting (EMBO Workshop, Barcelona, Spain) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirofumi Aiba, Hokuto Ohtsuka, Takanori Kato, Teppei Sato, and Takafumi Shimasaki.
2. 発表標題 Leucine depletion extends the lifespans of fission yeast by inducing Ecl1 family genes via the transcription factor Fil1.
3. 学会等名 The 10 th International Fission Yeast Meeting (EMBO Workshop, Barcelona, Spain) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小菅清二、山田貴富、饗場浩文、村上優子、村上浩士
2. 発表標題 分裂酵母DNA複製チェックポイントキナーゼCds1による転写因子Mei4のリン酸化を介した減数分裂相同組換えの制御機構
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 筒井優、服部允起、島崎高史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 硫黄枯渇に対する細胞応答の解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井滉太郎、岡本啓佑、島崎嵩史、大塚北斗、井原邦夫、饗場浩文
2. 発表標題 経時寿命を延長する分裂酵母変異株のスクリーニングと新規寿命関連因子の同定
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 持田尚宏、日比駿秀、大塚北斗、島崎嵩史、乾祥吾、澁谷正俊、山本芳彦、饗場浩文
2. 発表標題 Tschinganinによる酵母の経時寿命延長の機構解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤敬典、佐藤哲平、島崎嵩史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 アミノ酸枯渇条件下における分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 family遺伝子の解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 榎村千尋、今井優希、坪内聡、島崎嵩史、大塚北斗、井原邦夫、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母の細胞壁リモデリングタンパク質Gas1の変異株が長寿命表現型を示す機構の解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 筒井優、服部允起、島崎嵩史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における硫黄枯渇と細胞応答
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第183回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤哲平、加藤敬典、島崎嵩史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 アミノ酸枯渇による寿命延長と分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 Familyの解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第183回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小菅清二、山田貴富、村上優子、饗場浩文、村上浩士
2. 発表標題 分裂酵母DNA複製チェックポイント因子Cds1のリン酸化による転写因子Mei4を介した相同組換え開始の制御機構
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第51回研究報告会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------