

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19227

研究課題名(和文)新規寿命制御シグナル：硫黄枯渇によるリボソーム抑制と寿命延長機構の解明

研究課題名(英文)Characterization of novel signals for lifespan extension in fission 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) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：「寿命がいかにして決まるのか？」は、現代生物学が解くべきテーマの1つであり、その解明は健康長寿社会を実現する上でも重要である。高等動物の寿命を理解するためには、まず細胞レベルで寿命を理解することが必須と考え分裂酵母をモデルに細胞寿命の解析を行い以下の新規成果を得た。(1)新規な寿命延長シグナルとして硫黄枯渇を見出した。(2)硫黄枯渇は寿命延長因子Ecl1の発現を誘導し、寿命を延ばすことを見出した。(3)硫黄枯渇はリボソームの発現をEcl1ファミリーに依存的に低下させ、これが寿命延長の理由であることを示唆した。これらの成果により、ヒトの健康長寿創薬の展開に向けて重要な知見を蓄積することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「寿命がいかにして決まるのか？」を解明することは健康長寿社会を実現する上でも重要である。ヒトを始めとする高等動物の寿命を理解するためには、まず細胞レベルで寿命を理解することが必須となる。そこで申請者は、分裂酵母をモデルに細胞寿命の制御機構を解明することに挑戦した。その結果、これまで唯一知られていたカロリー制限以外に、新たな寿命延長シグナルとして硫黄の枯渇を見出した。加えて、リボソームの量的・質的变化(翻訳活性変化)が寿命を制御する可能性を示した。これらの成果によって、ヒトの健康長寿に貢献する創薬ターゲットを見出し健康長寿創薬を展開するための基盤的知識を蓄積することができた。

研究成果の概要(英文)："How is lifespan determined?" is one of the themes that should be solved. To understand the longevity of humans and other higher animals, it is essential to understand the longevity at the cellular level. Then I attempted to elucidate the control mechanism of cellular longevity using fission yeast as a model. As a result, the following new findings were obtained. (1) Caloric restriction was the only known lifespan-extending signal, but in this study, we found sulfur depletion as a new lifespan-extending signal. (2) Sulfur depletion induced the expression of Ecl1 (extender of chronological lifespan 1) that was discovered by the applicant, and found that the lifespan extension by sulfur depletion depends on the Ecl1 family. (3) Sulfur depletion reduced ribosome expression in an Ecl1 family-dependent manner, suggesting that this is the reason for the extension of lifespan. We have accumulated important knowledge for the development of human health and longevity drug discovery.

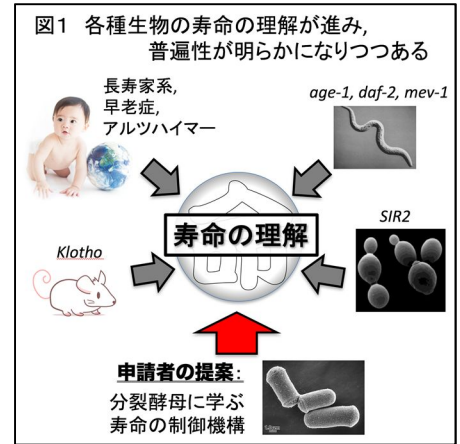
研究分野：微生物学

キーワード：分裂酵母 細胞寿命

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(右図1)。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。特に今後の寿命研究における中心課題の1つは、新規な寿命延長シグナルならびに未知の寿命因子の同定と解明である。既にカロリー制限(食餌制限)が普遍的な寿命延長シグナルであることが示されているが、これ以外の情報は乏しい。これらに焦点を当てた研究を推進し、



「細胞レベルで寿命制御機構を解明し、普遍的な寿命の理解に繋げる」ことが望まれている。

## 2. 研究の目的

「寿命がいかにして決まるのか?」を解明することは現代生物学が取り組むべき重要課題の1つである。ヒトに代表される高等動物の寿命を理解するためには、その前提としてまず細胞レベルで寿命を理解することが必須である。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。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。具体的な目的は以下の2点である。

- 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

### Ecl1 の発現制御の解析

Ecl1 は高発現すると、SD 液体培地での 100 時間培養後の生存率が約 1000 倍上昇する機能未知の小タンパク質(80 アミノ酸)として取得したが、寿命延長機構の詳細は不明である。そこで、Ecl1 の機能を理解するために発現を誘導するシグナルを探索すると共に、誘導に関わる転写因子を見つける。

### リボソームの質的・量的変化と寿命制御の解析

申請者らは、硫黄欠乏時に多くのリボソーム遺伝子の発現が特異的に低下し、これが Ecl1 に依存すること、加えて、寿命延長を引き起こす諸条件でも同様にリボソーム遺伝子の発現が低下する予備の結果を得ている。硫黄は重要な栄養源ゆえ、その枯渇は生育を阻害する。これに伴うリボソームの低下は、単に栄養枯渇による生育阻害の結果ではなく、寿命延長の原因(シグナル)となっていることを示す必要がある。そこで、生育に影響を及ぼさない範囲でリボソームを標的とする抗生物質を添加して細胞寿命が延びることを確認する。

## 新規長寿因子の探索と解析

経時寿命が延長する変異株をスクリーニングする。すでに取得した変異株は全ゲノム配列解析を行い、原因遺伝子を特定する。他方、高発現することで分裂酵母の経時寿命を延ばす遺伝子をスクリーニングし、その機能を明らかにする。

## 寿命創薬に向けたターゲットの開発

スクリーニングにより得られる寿命因子のうち、高等動物にまで普遍的に保存される因子に着目して構造-機能相関を解析する。各因子の活性に影響を及ぼす低分子化合物をスクリーニングすると共に、得られた化合物をリード化合物として、活性・特異性の高い化合物を探索する。まず、長寿因子 Pma1 を対象に、簡便なアッセイ系を確立し、インヒビターを探索する。

## 4. 研究成果

Ecl1 の発現制御の解析において、硫黄枯渇が ecl1 の転写誘導シグナルであること、転写因子 Zip1 が関与することを見出した。硫黄枯渇により、分裂酵母の Ecl1 依存的に寿命延長が起こること、この際、リボソームの低下が起こることを見出した。加えて、リボソーム活性を低下させる抗生物質で処理することにより、分裂酵母の寿命が延長することを見出した。これにより、硫黄枯渇によるリボソームの低下が寿命延長の原因であることを示唆した。

他方、新規な寿命制御因子の探索と機能解明を通して新しい寿命制御機構を理解する目的で、経時寿命が延長する分裂酵母の変異株をスクリーニングし、No.36 変異株を取得した。この変異株の長寿命の原因遺伝子の特定を行った結果、-1,3-グルカン転移酵素をコードする gas1<sup>+</sup> に生じた変異が長寿命の原因であることが明らかになった。さらに No.36 変異株が細胞壁溶解酵素である Zymolyase に対して感受性を示したことから、細胞壁ストレスと経時寿命の関係性について解析を行ったところ、細胞壁合成阻害剤である micafungin を低濃度で添加することで、分裂酵母の経時寿命が顕著に延長した。これらの結果から、No.36 変異株の寿命延長は、細胞壁ストレスによる寿命延長と同様のメカニズムで引き起こされることが示唆された。またこの No.36 変異による寿命延長は、カロリー制限と同様の機構で引き起こされる可能性が示唆された。そこで我々は、カロリー制限による寿命延長に関連する因子である Sty1 MAPK(Mitogen-Activated Protein Kinase)に着目し、No.36 変異による寿命延長が Sty1 に依存するか解析を行ったところ、No.36 変異による寿命延長は Sty1 を欠損することで大きく抑制された。さらに Western blot 解析により、Sty1 の活性化に関わるリン酸状態を調べたところ、定常期において No.36 変異株では野生株と比較して Sty1 のリン酸化レベルが高く、活性化していることが明らかになった。以上の結果から、No.36 変異株による寿命延長は Sty1 の活性化を介して引き起こされることが示唆された。以上の解析を通して、分裂酵母の経時寿命延長機構に関する知見が蓄積した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Aiba Hirofumi	4. 巻 17
2. 論文標題 Factors extending the chronological lifespan of yeast: Ecl1 family genes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FEMS Yeast Research	6. 最初と最後の頁 6 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsyr/fox066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Takinami Masahiro, Shimasaki Takafumi, Hibi Takahide, Murakami Hiroshi, Aiba Hirofumi	4. 巻 105
2. 論文標題 Sulfur restriction extends fission yeast chronological lifespan through Ecl1 family genes by downregulation of ribosome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 84 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.13686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohtsuka, Hokuto, Kato Takanori, Sato Teppei, Shimasaki Takafumi, Kojima Takaaki, Aiba Hirofumi	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. Genomic	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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

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

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 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 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 加藤敬典、佐藤哲平、島崎高史、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 持田尚宏、日比駿秀、大塚北斗、島崎高史、乾祥吾、澁谷正俊、山本芳彦、饗場浩文
2. 発表標題 Tschinganine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 松井滉太郎、岡本啓佑、島崎高史、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 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 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 日比駿秀、大塚北斗、島崎高史、乾祥吾、澁谷正俊、山本芳彦、饗場浩文
2. 発表標題 Tschinganineとその類縁体はSty1経路を活性化して酵母の経時寿命を延長する
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤敬典、滝浪奨洋、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母においてロイシン又はマグネシウム枯渇条件では経時寿命延長因子Ecl1の発現量が上昇する
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小菅清二、山田貴富、饗場浩文、村上浩士
2. 発表標題 減数分裂時のDNA複製と相同組換えを連携するチェックポイント
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第50回研究報告会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日比駿秀、滝浪奨洋、島崎高史、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 新規な寿命延長シグナル：硫黄制限：の発見とその作用機構の解明
3. 学会等名 第63回日本薬学会東海支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母の経時寿命を延ばす遺伝子と変異株の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hirofumi Aiba
2. 発表標題 How is fission yeast long-lived? ~Longevity strategy to learn from yeast~
3. 学会等名 5th HiHA international symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八田佳子、筒井優、服部允起、島崎高史、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 小林未来登、佐藤哲平、大塚北斗、島崎高史、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 佐藤哲平、大塚北斗、加藤敬典、島崎高史、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 島崎高史、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 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 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

〔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