

令和 4 年 4 月 22 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K10998

研究課題名(和文) ミトコンドリアストレス応答を介して寿命を延伸する化合物の同定と作用機序解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms governing lifespan extension via mitochondrial stress responses

研究代表者

中台 枝里子(鹿毛枝里子)(Eriko, Kage-Nakadai)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：40453790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ミトコンドリアストレス応答を介して動物個体の寿命を延伸する化合物を同定することを目的とした。ミトコンドリアストレス応答の活性化を緑色蛍光タンパク質GFPで捉えることができる線虫を用いて、約3000種類の医薬品等化合物を評価した。その結果、高血圧治療薬であるメトラゾンを同定した。メトラゾンを投与した線虫の寿命を測定すると、投与しない線虫に比べて寿命が長くなった。また、メトラゾンによる寿命延伸効果は、ミトコンドリアストレス応答経路を介して発揮されることも確認した。また、メトラゾンの利尿剤としての標的タンパク質SLC12A3の線虫ホモログがその長寿作用に必要なことも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト抗老化の標的として「ミトコンドリアストレス応答」を制御する介入が有効である可能性が考えられるが、これまでに当該作用を期待でき、かつヒトが長期服用した場合の安全性が確認されている化合物は同定されていなかった。本研究では、線虫を用いて、高血圧治療に使われる利尿降圧剤メトラゾンの寿命延伸効果を発見した。本知見は、メトラゾンという薬の新たな薬効を示唆するとともに、ミトコンドリアストレス応答という抗老化のターゲット、抗老化薬という新たなコンセプトの提示につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Accumulating studies have argued that the mitochondrial unfolded protein response (UPR^{mt}) is a mitochondrial stress response that promotes longevity in model organisms. In the present study, we screened an off-patent drug library to identify compounds that activate UPR^{mt} using a mitochondrial chaperone hsp-6::GFP reporter system in *Caenorhabditis elegans*. Metolazone, a diuretic primarily used to treat congestive heart failure and high blood pressure, was identified as a prominent hit as it upregulated hsp-6::GFP and not the endoplasmic reticulum chaperone hsp-4::GFP. Furthermore, metolazone specifically induced the expression of mitochondrial chaperones in the HeLa cell line. Metolazone also extended the lifespan of worms in a atfs-1 and ubl-5-dependent manner. Notably, metolazone failed to increase lifespan in worms with knocked-down nkcc-1. These results suggested that metolazone activates the UPR^{mt} across species and prolongs the lifespan of *C. elegans*.

研究分野：生物系薬学

キーワード：ミトコンドリアストレス応答 長寿 線虫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアストレス応答活性化と長寿が密接に関わることが線虫やマウスを用いた研究から明らかとなってきた。したがって、抗老化の標的として「ミトコンドリアストレス応答」を制御する介入が有効である可能性が考えられる。これまでに、アンチマイシン A (電子伝達系阻害剤、劇物) やクロラムフェニコール (50S リボソーム阻害、抗生物質) などによるミトコンドリア由来タンパク質の翻訳阻害がミトコンドリアストレス応答を誘発し、線虫の寿命を延伸すること、ラパマイシン (mTOR 阻害剤) やオラパリブ (PARP 阻害活性を有する 2014 年 FDA 承認の抗がん剤) などがミトコンドリアストレス応答を介して寿命延伸作用を発揮することが報告されている (Mouchiroud *et al.* 2013 *Cell*; Houtkooper *et al.* 2013 *Nature*)。しかし、ヒトの長期摂取が想定できる食品化合物や市場における実績の長い医薬品に着目した研究や同定された化合物はほとんどない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ミトコンドリアストレス応答を介して寿命延伸効果を発揮する食品化合物または疾病予防などに用いられる医薬品化合物を同定することである。

3. 研究の方法

- 1) ミトコンドリアストレス応答を活性化する食品化合物または医薬品化合物を選別する。
- 2) 線虫に対する寿命延伸効果があるものを選別する。
- 3) 寿命延伸に関わる生体内経路を同定する。
- 4) ヒト培養細胞を用いて当該化合物のミトコンドリアストレス応答活性化能を評価し、ヒト細胞にも同様の作用を発揮するか否か検証する。

4. 研究成果

1) 一次スクリーニングとカウンターアッセイ

off-patent 医薬品、薬理活性既知化合物ライブラリ、Prestwick ファイトケミカルライブラリを用いた。ミトコンドリアストレス応答活性化により発現が上昇するミトコンドリアシャペロン遺伝子 (*hsp-6*) のプロモーターと GFP の融合遺伝子を導入した線虫を用いて、その GFP 蛍光強度を上昇させる化合物を探索した (図 1)。陽性対照としてアンチマイシン A を用いた。非特異的に小胞体ストレス応答も活性化する化合物は排除した (カウンターアッセイ)。その結果ヒット化合物 (8 種類) を得た。

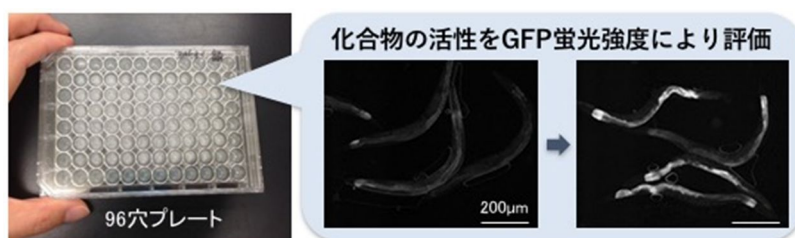


図 1. ミトコンドリアストレス応答活性化により GFP 発現が上昇するような遺伝子導入を行った線虫を 96 穴プレートで培養、化合物を添加し、24 時間後に評価。多種類の化合物を同時に評価できるハイスループットな実験系を構築。

2) 線虫に対する寿命延伸効果の測定

ヒット化合物の 1 つであるメトラゾン (利尿降圧薬) について検討を行った。培地に化合物を添加し、線虫の寿命を測定した結果、寿命延伸作用を確認した (図 2)。

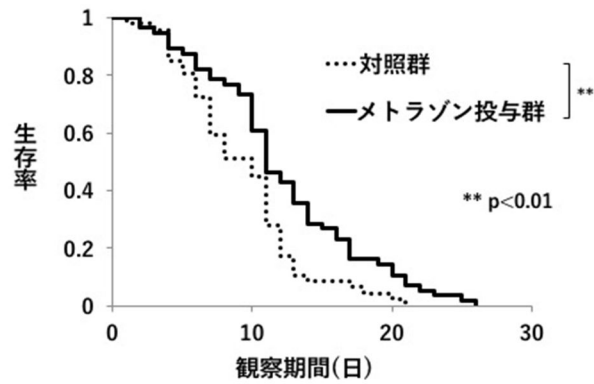


図2. メトラゾン投与により線虫の寿命が有意に延伸。

3) 寿命延伸に関わる生体内経路の同定

線虫変異体や RNAi を用いた検証を行った。具体的には、ミトコンドリアストレス応答活性化に必須な *ubl-5* 遺伝子などのノックダウンやノックアウトにより効果が消失するか検証を行った。その結果、いずれの場合においても寿命延伸効果が消失したことから、本化合物がミトコンドリアストレス応答活性化を介して寿命を延長することが示唆された。また同様の実験により、メトラゾンの利尿剤としての標的タンパク質 SLC12A3 の線虫ホモログがその長寿作用に必要なことも明らかにした。

4) ヒト培養細胞における検証

ミトコンドリアストレス応答活性化の有無を検証した。化合物をヒト培養細胞の培養液に添加し、ミトコンドリアシャペロン遺伝子の発現変動をリアルタイム PCR により定量した。その結果、HEp-2 細胞を用いた実験において、メトラゾン添加によりヒトミトコンドリアシャペロン遺伝子 *HSPA9* の発現が上昇すること、小胞体シャペロン遺伝子 *HSPA5* の発現は上昇しないことを確認した。

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 3件）

1. 著者名 Ito A, Zhao Q, Tanaka Y, Yasui M, Katayama R, Sun S, Tanimoto Y, Nishikawa Y, Kage-Nakadai E.	4. 巻 22
2. 論文標題 Metolazone upregulates mitochondrial chaperones and extends lifespan in <i>Caenorhabditis elegans</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biogerontology	6. 最初と最後の頁 119-131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10522-020-09907-6	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

〔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
---------	---------