

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：34504

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20658

研究課題名(和文) 基底膜による老化抑制機構の研究

研究課題名(英文) Research on anti-aging mechanism by basement membrane

研究代表者

柴田 幸政 (Shibata, Yukimasa)

関西学院大学・生命環境学部・講師

研究者番号：80314053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：コンドロイチンは細胞外マトリックス中にプロテオグリカンとして存在し、線虫ではコンドロイチンの摂取で寿命が延びる。しかし、寿命と健康寿命の調節における内因性コンドロイチンの役割は、研究されていない。今回我々は、コンドロイチン重合因子(ChPF)であるMIG-22の機能獲得型変異により、コンドロイチンが上昇し、線虫の寿命と健康寿命が大幅に延長されることを明らかにした。mig-22(gf)変異体の長寿はSQV-5/コンドロイチン合成酵素(ChSy)に依存していた。さらに、mig-22(gf)変異は、MIG-17/ADAMTSメタロプロテアーゼの異常による健康寿命の減少を効果的に抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コンドロイチンは膝の痛みや肌の皺などの加齢性の症状に対する医薬品やサプリメントとして流通している。また、*C. elegans*でコンドロイチンの摂取によって寿命が延びることが報告されている。しかし、摂取したコンドロイチンではなく、内在性のコンドロイチンが老化に及ぼす効果はわかっていなかった。今回の成果は、内在性のコンドロイチンが老化を抑制することを明らかにした初めての例である。また、細胞外マトリックスによる老化抑制の実態はほとんど分かっておらず、今回、コンドロイチンの抗老化作用を示したことで、基底膜で老化抑制を行う分子が明らかになり、老化を疾患として治療する足掛かりを示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Chondroitin is found as proteoglycans in the extracellular matrix. Ingestion of chondroitin prolongs the lifespan of *C. elegans*. However, the roles of endogenous chondroitin in regulating lifespan and healthspan mostly remain to be investigated. Here, we demonstrate that a gain-of-function mutation in MIG-22, the chondroitin polymerizing factor (ChPF), results in elevated chondroitin levels and a significant extension of both the lifespan and healthspan in *C. elegans*. Importantly, the remarkable longevity observed in mig-22(gf) mutants is dependent on SQV-5/chondroitin synthase (ChSy), highlighting the pivotal role of chondroitin in controlling both lifespan and healthspan. Additionally, the mig-22(gf) mutation effectively suppresses the reduced healthspan associated with the loss of MIG-17/ADAMTS metalloprotease. Our findings suggest that chondroitin functions in the control of healthspan downstream of MIG-17, while regulating lifespan through a pathway independent of MIG-17.

研究分野：発生生物学

キーワード：老化 コンドロイチン *C. elegans* ADAMTSプロテアーゼ 基底膜

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

老化の研究は近年大変盛んに行われており、そのメカニズムが明らかになっている。その結果、老化はゲノムへの変異の蓄積による不可逆な過程ではなく、修復可能な可逆的な過程であることが明らかとなった。老化に関わる転写因子や細胞内小器官、シグナル分子などは比較的よく調べられているのに対し、細胞外マトリックスが老化制御に果たす役割は研究が進んでいない。加齢とともに細胞外マトリックスにダメージが蓄積すること、皮膚では基底膜への幹細胞のアンカーが細胞競合に必須であり加齢による基底膜の劣化が幹細胞の喪失と皮膚の老化を引き起こすことが知られている。しかし、個体老化に対する細胞外マトリックスの役割と、関与するメカニズムはほとんど分かっていなかった。

線虫 *C. elegans* は老化の研究に適したモデル生物であり、その寿命は約一月で哺乳類に比べて非常に短い。一方で老化制御に関わる分子は *C. elegans* からヒトまで保存されているものが多く、インシュリンシグナルなどは *C. elegans* の研究で初めて老化への関与が明らかになった。*C. elegans* ではコンドロイチンの摂取により寿命が伸びることが知られている。コンドロイチンはグルクロン酸と N アセチルガラクトサミンからなる長鎖の糖で、コアタンパク質に結合しコンドロイチンプロテオグリカンの形で細胞外マトリックスに存在する。これまでに内在性のコンドロイチンが *C. elegans* の初期発生や生殖巣の形態形成、陰門の誘導などに必要であることが分かっていたが、内在性のコンドロイチンと老化の関係は分かっていた。

### 2. 研究の目的

本研究では、内在性のコンドロイチンと老化の関係を明らかにし、細胞外マトリックスから老化制御を行うメカニズムを明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

細胞外マトリックスの再構成に必要な MIG-17/ADAMTS プロテアーゼの変異体は生殖巣の形成異常を引き起こす。この表現型を指標に抑圧変異をスクリーニングし *k185* という優性変異が得られた。*k185* の原因遺伝子はコンドロイチン重合因子をコードする MIG-22 であった。そこで、*mig-22(k185)* 変異体でコンドロイチンが増加し老化を抑制する可能性を考え、その検証をおこなった。コンドロイチンが個体老化の抑制に関わっている場合、コンドロイチン合成酵素 SQV-5 の機能低下型変異 *k175* では老化が早く進行すると考えられるのでこれも同時に検証した。老化の指標は、寿命と健康寿命とし、健康寿命は運動能力の低下、摂食行動と排便行動の周期運動の長期化、体長の短縮の4つを指標とした。

コンドロイチンによる老化抑制に関与する分子として、MIG-17 が予想される。しかし、MIG-17 と老化の関係は知られていなかったため、上記老化指標を用いて老化との関係を調べた。その上で、*mig-17(k174)mig-22(k185)* 二重変異体を用いて、MIG-17 と MIG-22 の関係性を調べた。

### 4. 研究成果

まず、新規に単離した *mig-22(k185)* 変異体のコンドロイチン量を定量したところ、野生株に比べて約2倍に増加していることが明らかになった。既存の *sqv-5(k175)* 変異体ではコンドロイチン量が低下していることがわかっており、今回の定量でも野生株の10%まで低下していることを確認している。これにより、内在性のコンドロイチンを遺伝学的に操作することができた。従来はコンドロイチン量を増加させるために、コンドロイチンの摂取を行っていたが、コンドロイチンは長鎖の多糖でありどのような形で消化吸収されるか定かではなく、生体内のコンドロイチン量への影響も不明であった。今回、新たに *mig-22(k185)* 変異体を単離することで確実に内在性コンドロイチンを増加させることができ、その効果をより簡単に確実に確かめることができるようになった。

内在性コンドロイチンの老化抑制効果を明らかにするために、*mig-22(k185)* 変異体で寿命と健康寿命を調べた。その結果、*mig-22(k185)* 変異体では寿命が野生型より約30%長くなっていることがわかった。また、健康寿命の定量では、老化に伴う運動能力の低下、周期運動の長期化、体長の短縮を指標とした。いずれの場合も野生型に比べて、老化に伴う数値の変化が少なく、健康寿命が長くなっていることが確認できた。一方で、コンドロイチン量が少ない *sqv-5(k175)* 変異体では、寿命と健康寿命のいずれも野生型より短くなっていた。*sqv-5(k175)* 変異体でのコンドロイチン量の低下が、健康寿命の短縮の原因であれば、コンドロイチンの摂取により回復するはずである。周期運動の長期化を指標に、*sqv-5(k175)* 変異体でのコンドロイチン摂取の効果を調べたところ、健康寿命の短縮が回復していることが確認できた。以上の結果から、*C. elegans* において内在性コンドロイチンが老化を抑制することが明らかになった。

*mig-22(k185)* 変異は *mig-17(k174)* 変異体の生殖巣の形成異常を抑圧する変異として単離した。そこで老化過程でもこれら二つの変異の関係性が保たれている可能性を考え、まず、*mig-17(k174)* 変異体の寿命と健康寿命を調べた。その結果、寿命は野生型と同じであるものの、健康寿命が野生型より短くなっていることがわかった。さらに、*mig-17(k174)* 変異体の健康寿命の短

縮は、*mig-22(k185)*変異によって抑圧されることも確認した。MIG-17 は基底膜の再構成に必要な ADAMTS プロテアーゼである。また、コンドロイチンはコアタンパクと結合した、コンドロイチンプロテオグリカンの形で存在する。ここから、基底膜において MIG-17/ADAMTS プロテアーゼの下流で、コンドロイチンプロテオグリカンが老化を抑制していると考えられる。コンドロイチンプロテオグリカンの下流については、今後更なる研究で明らかにしていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shibata Yukimasa, Tanaka Yuri, Sasakura Hiroyuki, Morioka Yuki, Sassa Toshihiro, Fujii Shion, Mitsuzumi Kaito, Ikeno Masashi, Kubota Yukihiko, Kimura Kenji, Toyoda Hidenao, Takeuchi Kosei, Nishiwaki Kiyoji	4. 巻 14
2. 論文標題 Endogenous chondroitin extends the lifespan and healthspan in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-55417-7	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 柴田幸政
2. 発表標題 コンドロイチン重合因子MIG-22の変異による老化の遅延と寿命延長
3. 学会等名 分子生物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柴田幸政
2. 発表標題 A gain-of-function mutation in chondroitin polymerizing factor extends lifespan and healthspan
3. 学会等名 24th International <i>C. elegans</i> Conference（国際学会）
4. 発表年 2023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
---------	---------