

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670138

研究課題名(和文) RNA結合蛋白質による寿命制御機構の解明

研究課題名(英文) The analysis for molecular mechanism of lifespan regulation by RNA binding protein

研究代表者

秋山 徹 (Akiyama, Tetsu)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：70150745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、RNA結合タンパク質Mex-3Bの欠損マウスの寿命が延長していることを見出し、その分子機構の解明を試みた。Mex-3B欠損マウスは肥満に抵抗性を有し、カロリー制限を行ったマウスの脂肪組織では、Mex-3Bの発現抑制が認められた。この結果から、Mex-3Bの代謝機能臓器が脂肪組織であること、およびMex-3B欠損マウスはカロリー制限と類似した機構で寿命延長している可能性が示唆された。さらに、脂肪細胞分化誘導実験を行った結果、Mex-3Bの欠損により、脂肪細胞分化が抑制されることが明らかになった。この結果から、Mex-3B欠損マウスの表現型の原因として、脂肪細胞分化の抑制が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Mex-3B is an RNA-binding protein, but its function is poorly understood. We found that Mex-3B-deficient mice are long-lived. We therefore attempted to elucidate the molecular mechanisms underlying lifespan regulation by Mex-3B. We found that Mex-3B deficient mice were resistant to obesity and showed significantly decreased adipocyte tissue weights. In addition, we found that Mex-3B were down-regulated in adipocyte tissues by caloric restriction, a well-known method to extend lifespan. These results suggest that Mex-3B regulates lipid metabolism in adipocyte tissues, and Mex-3B deficiency prolongs lifespan by a mechanism similar to that involved in lifespan extension by caloric restriction. We also performed adipocyte differentiation assays using Mex-3B-deficient cells. We found that Mex-3B deficiency suppressed adipocyte differentiation. Thus, lifespan extension and resistance to obesity seen in Mex-3B-deficient mice may be resulted from suppression of adipocyte differentiation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：寿命 老化 脂肪組織 分化

1. 研究開始当初の背景

Mex-3B は RNA 結合ドメインである KH domain とユビキチン化の関わる Ring domain を持つ RNA 結合タンパク質であるが、動物個体内における機能は未知である。本研究室において作製された Mex-3B 欠損マウスは、雄マウス特異的に寿命が延長していることが見出された。これまでに、Mex-3B と同様に雄マウス特異的に寿命の制御に寄与する因子として SIRT6 (Kanfi *et al*, 2012 *Nature*)、雌雄によらずマウスの寿命に影響を与えるシグナルとして S6K1 signal (Selman *et al*, 2009 *Science*)、NF- κ B signal (Hasegawa *et al*, 2012 *Circulation*)などが報告されている。これらの因子・シグナルのほとんどは機能が既知であり、どのように寿命に影響を与えるのかは、これまでのところ完全ではないものの、かなり明らかになりつつある。しかしながら、Mex-3B の機能はほとんど明らかにされておらず、上記の因子のシグナルに関与している可能性も、全く独立した機構で寿命を調節している可能性も考えられる。また、今回 Mex-3B 欠損マウスにおいて加齢に伴う肥満の抑制が見られたことから、MEX-3B による寿命延長効果が、代謝制御を介している可能性も考えられる。

2. 研究の目的

我々は、RNA 結合蛋白質 Mex-3B が標的 mRNA の 3'UTR に結合して miRNA の作用を抑制することによりその発現を促進し、アポトーシス誘導や炎症応答などに重要な役割を果たしていることをこれまでに見出してきた(未発表 Data)。興味深いことに、我々が作製した Mex-3B 欠損マウスは、野生型マウスと比較して雄マウス特異的に寿命が有意に延長していた。本研究では、Mex-3B の標的 RNA の同定・解析を通じて、これまでに全く報告のない「RNA 結合蛋白質による寿命の制御機構」を解明し、

新たな寿命の制御機構を提唱することを目的とする。Mex-3B 欠損マウスは加齢に伴う肥満が顕著に抑制される表現型を示すことから、まず代謝制御における Mex-3B の機能解析を軸として研究を進める。

3. 研究の方法

本研究では、Mex-3B による寿命制御機構の分子メカニズムを、マウス個体における表現型の解析、および分子生物学・生化学的手法を用いた解析により、明らかにすることを目的とする。Mex-3B 欠損マウスは加齢に伴う肥満が顕著に抑制される表現型を呈したことから、Mex-3B 欠損マウスではカロリー制限に伴う寿命延長に近い機構で寿命が延長している可能性があると考え、特に代謝制御に着目し、カロリー制限・肥満による寿命・代謝変化に対する Mex-3B の寄与も解明したいと考えている。1年間に絞って本研究を行い、Mex-3B による寿命制御機構解明の足がかりを得る。次年度以降は、Mex-3B の上流の解析なども含めて規模を拡大して基盤研究に応募して本研究を発展させたいと考えている。

4. 研究成果

我々は RNA 結合タンパク質 Mex-3B の欠損マウスが雄特異的に寿命延長していることを見出したことを発端とし、Mex-3B による寿命制御機構の解明を試みた。

1) Mex-3B 欠損マウスの表現系の解析を行ったところ、Mex-3B 欠損マウスは加齢に伴う肥満に対して抵抗性を有しており、特に脂肪組織重量の顕著な減少が確認された。このことから、Mex-3B が代謝制御に関与していることが示唆された。

2) Mex-3B はヒト、マウスにおいて、全身にユビキタスに発現していることが確認された。これまでに摂取カロリーの制限は、寿命延長を行う有効な手段として報告されている。そこで野生型マウスに対して摂取

カロリーの制限実験を行ったところ、内臓脂肪組織において、Mex-3B の mRNA、タンパク質レベルでの発現抑制が認められた。以上の結果から、Mex-3B の代謝機能臓器が内臓脂肪組織であること、ならびに Mex-3B 欠損マウスがカロリー制限を模倣して寿命延長の表現型を呈している可能性が示唆された。

3) *in vitro* における脂肪細胞分化誘導実験を Mex-3B を欠損させた 3T3-L1 細胞および MEF(Mouse Embryonic Fibroblast) を用いて行った。その結果、Mex-3B の欠損は脂肪細胞分化を抑制することが見出された。また、Mex-3B 欠損マウスの内臓脂肪組織においては、脂肪細胞分化シグナルの発現抑制が認められた。以上の結果から、Mex-3B 欠損マウスがやせ型の表現型を示す原因として、脂肪細胞分化の抑制が示唆された。

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)

[雑誌論文] (計 11 件)

Shinji Mori, Yuta Tezuka, Akihiko Arakawa, Noriko Handa, Mikako Shirouzu, Tetsu Akiyama, Shigeyuki Yokoyama: Crystal structure of the guanylate kinase domain from Discs large homolog 1 (DLG1/SAP97). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 435, 334-338 doi: 10.1016/j.bbrc.2013.04.056. (2013) 査読有

Oh Sasaki, Mitsuru Imamura, Yusuke Yamazumi, Hiroaki Harada, Taku Matsumoto, Katsuhide Okunishi, Kazuyuki Nakagome, Ryoichi Tanaka, Tetsu Akiyama, Kazuhiko Yamamoto and Makoto Dohi*. Alendronate attenuates eosinophilic airway inflammation associated with suppression of Th2 cytokines, Th17 cytokines, and eotaxin-2. *J. Immunol.* 191, 2879-2889 doi: 10.4049/jimmunol.1300460.

(2013) 査読有

R Koyama-Nasu, Y Nasu-Nishimura, T Todo, Y Ino, N Saito, H Aburatani, K Funato, K Echizen, H Sugano, R Haruta, M Matsui, R Takahashi, E Manabe, T Oda and T Akiyama. The critical role of cyclin D2 in cell cycle progression and tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene*, 32, 3840-3845; doi:10.1038/onc.2012.399 (2013) 査読有

R Koyama-Nasu, R Haruta, Y Nasu-Nishimura, K Taniue, Y Katou, K Shirahige, T Todo, Y Ino, A Mukasa, N Saito, M Matsui, R Takahashi, A Hoshino-Okubo, H Sugano, E Manabe, K Funato and T Akiyam. The pleiotrophin-ALK axis is required for tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene* 33, 2236-2244; doi:10.1038/onc.2013.168. (2013) 査読有

Yoshihiro Kawasaki, Shiori Furukawa, Rina Sato, Tetsu Akiyama. Differences in the localization of the APC-Asef/Asef2 complex between APC wild-type and mutant cells. *Cancer Sci.* Aug;104(8):1135-8. doi: 10.1111/cas.12180. (2013) 査読有

Hideaki Toki, Maki Inoue, Hiromi Motegi, Osamu Minowa, Hiroaki Kanda, Noriko Yamamoto, Ami Ikeda, Yuko Karashima, Junko Matsui, Hideki Kaneda, Ikuo Miura, Tomohiro Suzuki, Shigeharu Wakana, Hiroshi Masuya, Yoichi Gondo, Toshihiko Shiroishi, Tetsu Akiyama, Ryoji Yao, Tetsuo Noda. Novel mouse model for Gardner syndrome generated by a large-scale N-ethyl-N-nitrosourea mutagenesis program. *Cancer Sci.* Jul;104(7):937-44. doi: 10.1111/cas.12161. (2013) 査読有

Akiko Iizuka-Kogo, Tetsu Akiyama, Takao Senda. Decreased apoptosis and persistence of

the common nephric duct during the development of an aberrant vesicoureteral junction in *dlg1* gene-targeted mice. *Anat Rec.* 296(12):1936-42. doi: 10.1002/ar.22814.(2013) 査読有

Echizen, K., Nakada, M., Hayashi, T., Sabit, H., Furuta, T., Nakai, M., Koyama-Nasu, R., Nishimura, Y., Taniue, K., Morishita, Y., Hirano, S., Terai, K., Todo, T., Ino, Y., Mukasa, A., Takayanagi, T., Ohtani, R., Saito, N., Akiyama, T. PCDH10 is required for the tumorigenicity of glioblastoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 31;444(1):13-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.12.138.(2014) 査読有

Shiori Furukawa, Yoshihiro Kawasaki, Masaya Miyamoto, Masaya Hiyoshi, Joji Kitayama, Tetsu Akiyama. The miR-1-NOTCH3-Asef pathway is important for colorectal tumor cell migration. *PLoS One.* Nov 11;8(11):e80609. doi: 10.1371/journal.pone.0080609 (2013) 査読有

Tsuji, S., Kawasaki, Y., Furukawa, S., Taniue, K., Hayashi, T., Okuno, M., Hiyoshi, M., Kitayama, J., Akiyama, T. The miR-363-GATA6-Lgr5 pathway is critical for colorectal tumorigenesis. *Nat. Commun.* 2014;5:3150. doi: 10.1038/ncomms4150. (2014) 査読有

Takanori Onouchi, Katsunori Kobayashi, Kazuyoshi Sakai, Atsushi Shimomura, Ron Smits, Chiho Sumi-Ichinose, Masafumi Kurosumi, Keizo Takao, Ryuji Nomura, Akiko Iizuka-Kogo, Hidenori Suzuki, Kazunao Kondo, Tetsu Akiyama, Tsuyoshi Miyakawa, Riccardo Fodde and Takao Senda, Riccardo Fodde, Takao Senda. Targeted deletion of the C-terminus of the mouse adenomatous polyposis coli tumor suppressor results in neurologic phenotypes related to schizophrenia. *Molecular Brain.* 7(1):21. doi:

10.1186/1756-6606-7-21.(2014) 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

Kenzui Taniue, Tetsu Akiyama, Functional analysis of a novel long ncRNA involved in the tumorigenicity of colorectal cancer. (ポスター), AACR, 米国, 2013/4/8

高井 弘基、秋山 徹, 神経膠芽腫の発症における 5-hydroxymethylcytosine の役割 / Role of 5-hydroxymethylcytosine in the tumorigenicity of glioblastoma cells (口頭), 第 72 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜(横浜), 2013/10/3

川崎 善博、秋山 徹, The role of miR-363-GATA6-Lgr5 pathway in colorectal tumorigenesis (ポスター), 第 72 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜(横浜), 2013/10/3

山角 祐介、秋山 徹, RNA 結合タンパク質 D8 は c-jun の転写後制御を介して APC (Min/+)マウスにおける腫瘍形成を制御する (ポスター), 第 72 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜(横浜), 2013/10/4

Kenzui Taniue, Tetsu Akiyama, "Long non-coding RNA ASBEL required for tumorigenicity of colon cancer (ポスター), Long Noncoding RNAs: Marching toward Mechanism, 米国, 2014/3/3

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 延寿命制御活性を有する物質をスクリーニングする方法

発明者: 秋山徹 他 3 名

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2013-153564

出願年月日: 2013/7/24

国内外の別：国内

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

秋山 徹 (AKIYAMA, Tetsu)
東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
研究者番号：70150745

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：