

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450119

研究課題名(和文)メチル供与体・SAMを介した短期絶食による寿命延長メカニズムの解明

研究課題名(英文)Analysis of short-term starvation-induced longevity via methionine metabolism

研究代表者

廣田 恵子(HIROTA, Keiko)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：00375370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：絶食などの栄養ストレスは、細胞内の代謝の変化を惹起し、生体は恒常性を維持する。モデル生物・線虫においては、短期(1日)絶食によって、寿命延長が見られるが、その詳細な分子機序は不明であった。本研究では、短期絶食による長寿命のメカニズムを解明することを目的とした。特に、メチオニン代謝サイクルに着目し、メチオニン代謝サイクルを構成する酵素群の長寿命への関与について解析を行った。その結果、短期絶食による長寿命は、メチオニン代謝サイクルを構成する代謝物量の変化を介していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Many lines of evidence suggest that various restricted dietary regimens, such as caloric restriction and short-term starvation (STS), extend individual lifespans. However, the mechanisms by which STS extends lifespan remain unclear. This study determined that STS, at the beginning of life, increased longevity by prolonging healthy conditions. However, methionine supplementation under STS conditions partially eliminated the increase in longevity, suggesting the partial need for a temporal reduction in methionine to facilitate STS-induced increases in lifespan. To investigate the molecular mechanisms underlying STS-induced longevity, we explored the effects of STS at the metabolite level in the methionine cycle, which implied that the metabolite changes in the methionine cycle were involved in STS-induced longevity.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：線虫 寿命 メチオニン代謝

1. 研究開始当初の背景

栄養・食餌の変化は、内分泌経路や細胞内情報伝達経路を介して受容され、メチル化やリン酸化など翻訳後修飾によって細胞内タンパク質に刻印される。“刻印(修飾)”されたヒストンや転写制御因子などはその機能が変化し、転写環境をダイナミックに変化させることで、生体の恒常性を維持している。

これまでに、私はモデル生物・線虫を使って、寿命制御におけるタンパク質メチル化の重要性を明らかにしてきた。そのような中、メチル化やアセチル化の修飾基供与体である SAM(*S*-adenosylmethionine)や acetylCoA などの量的変化が、タンパク質の修飾を制御することが注目され始めた。これは、メチル化修飾において、メチル基供与体・SAMの量がボトルネックとなって、メチル化を制御していることを示唆している。しかしながら、SAMがいつ、どこで、どのように増減するのかという量的変化やその変化がどのように生理機能に影響を及ぼすかは全く不明であった。

2. 研究の目的

線虫に1日もしくは2日短期絶食を施すと、通常食の線虫に比べて寿命が約30%延長するという報告がなされていたが、その分子メカニズムは未解明であった(Exp. Gerontol. 41: 935-939, 2006)。我々はこの現象に着目し、短期絶食による寿命延長の分子メカニズムの解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) 線虫の移動距離の解析

健康状態の指標の1つとして、移動能力が挙げられる。そこで、専用のソフトウェア(WormLab, MBF Bioscience)を用いて、線虫の1分当たりの移動距離を算出した。

(2) 主要なSAMの代謝(消費)酵素の同定
生体内でのSAM量制御メカニズムの解明は、寿命制御機構解明につながる重要な課題である。SAMの生成はメチオニンからSAM合成酵素により行われる一方、SAMの代謝(消費)は、タンパク質だけでなく、DNA、RNAや脂質などを基質とするメチル化反応に依存することが考えられる。そこで、メチル化酵素をSAM代謝酵素として捉え、SAM量を指標としたメチル化酵素のRNAiスクリーニングを行い、主要なSAM代謝酵素の同定を試みた。

(3) STSによる寿命延長の分子機序

(2)で同定した *phosphoethanolamine methyltransferase-1* (*pmt-1*) 遺伝子について、トランスジェニック線虫を作成した。また、抗PMT-1抗体を作成し、トランスジェ

ニック線虫の発現量を解析した。さらに、トランスジェニック線虫に対して STS 処理を行い寿命測定を行った。

4. 研究成果

(1) 短期絶食を経験した線虫の行動量

まずはじめに、短期絶食による寿命延長が、“健康寿命”の延長であるか否かを明らかにするため、“健康寿命”の指標の一つと考えられる行動量について解析を行った。各生存日数における通常食および短期絶食経験線虫の1分間の移動距離を算出した。その結果、通常食の線虫に比べて、短期絶食を経験した線虫では、どの生存日数においても行動量が有意に高いことが明らかになった。また、溶液中での線虫の行動能力を示す Thrashing 回数についても同様の結果が得られた。従って、短期絶食は、通常食の線虫に比べて、高い行動能を保持したまま寿命を延長していることが明らかとなり、“健康寿命”を延長していることが考えられた。

(2) 短期絶食による長寿命へのメチオニンの関与

短期絶食におけるメチオニン代謝の関与を調べるため、短期絶食時にメチオニンのみを添加して、寿命測定を行った。まず、短期絶食群では寿命が延長し、短期絶食時にメチオニンを添加した群では、通常食群よりは寿命は延長しているものの、添加無しの群に比べて有意に寿命延長がキャンセルされた。この結果は、短期絶食時にメチオニンの摂取量が減少することが寿命の延長に寄与していることを示している。

(3) SAM合成酵素・SAMS-1の短期絶食による寿命延長への関与

メチオニンは、SAM合成酵素によってSAMへと代謝される。(2)の実験結果から、短期絶食時のメチオニン摂取量の減少が寿命延長に重要であることが示唆されたため、次にメチオニン代謝物であるSAMの関与について解析を行った。線虫においては、SAMS(SAM synthetase)-1, -3, -4, -5の4つが同定されている。中でもSAMS-1は主要なSAM合成酵素であることが報告されており、*sams-1*ノックダウンはSAM量を約40%まで減少させる。*sams-1*変異体は、成長遅延、産卵数減少などのほかに寿命が延長することが報告されている。そこで、この*sams-1*変異体に短期絶食を施し、寿命測定を行った。その結果、通常食の*sams-1*変異体は通常食の野生型に比較して、報告通り寿命が延長した。一方、短期絶食を経験した*sams-1*変異体は、通常食の*sams-1*変異体と同様の寿命を示した。この結果から、短期絶食による寿命延長には、SAM量の減少が関与していることが示唆された。

(4) PMT-1の短期絶食による寿命延長への関

与

SAM 代謝酵素として同定した PMT-1 の過剰発現 (トランスジェニック) 線虫を 3 系統樹立し、発現解析を行ったところ、いずれも PMT-1 発現量が増加していた。そこで、トランスジェニック線虫に短期絶食を施し、寿命測定を行った。その結果、通常食の *pmt-1* トランスジェニック線虫は通常食の野生型に比較して、寿命が延長した。さらに、短期絶食を経験した *pmt-1* トランスジェニック線虫は、通常食の *pmt-1* トランスジェニック線虫と同様の寿命を示した。この結果から、短期絶食による寿命延長には、メチオニン代謝サイクルが関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

Yokoyama W.*, Hirota K.*, Wan H., Sumi N., Miyata M., Araoi S., Nomura N., Kako K., and Fukamizu A. rRNA adenine methylation requires T07A9.8 gene as *rram-1* in *Caenorhabditis elegans*.
査読有り *J. Biochem.* 163, 465-474 (2018) *(equal contribution)

Araoi S., Daitoku H., Yokoyama A., Kako K., Hirota K., Fukamizu A. The GATA transcription factor ELT-2 modulates both the expression and methyltransferase activity of PRMT-1 in *Caenorhabditis elegans*.
査読有り *J. Biochem.* 163, 433-440 (2018)

Hirota K., Shigekawa C., Araoi S., Sha L., Inagawa T., Kanou A., Kako K., Daitoku H., and Fukamizu A. Simultaneous ablation of *prmt-1* and *prmt-5* abolishes asymmetric and symmetric arginine dimethylations in *Caenorhabditis elegans*.
査読有り *J. Biochem.* 161, 521-527 (2017)

Kanou A., Kako K., Hirota K., and Fukamizu A. PRMT-5 converts monomethylarginines into symmetrical dimethylarginines in *Caenorhabditis elegans*.
査読有り *J. Biochem.* 161, 231-235 (2017)

[学会発表](計 13 件)

廣田恵子、深水昭吉 「栄養環境ストレスが寿命に与える影響」
日本放射線影響学会第59回大会、2016年

深水昭吉、波田一誠、廣田恵子 「TCA サイクルとアセチル化・脱アセチル化による初期発生の調節」
第89回日本生化学会大会 (シンポジウム)、2016年

深水昭吉、廣田恵子 「寿命を動かす栄養飢餓とメチオニン代謝」
第5回日本DOHaD研究会学術集会、2016年

形田恵理子、廣田恵子、角直亮、石原誠司、小島真梨子、加香孝一郎、深水昭吉 「線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いたメチル化酵素・PMT-1 の S-adenosylmethioine 代謝への影響」
BMB2016、2016年

Yamauchi R., Hirota K., Xu Z., Kako K., and Fukamizu, A. Effects of Dietary Restriction on Reproduction in *C. elegans*.
Tsukuba Global Science Week、2016年

深水昭吉、廣田恵子 「寿命を動かす代謝の仕組み」
第39回日本基礎老化学会大会、2016年

狩野明彦、加香孝一郎、廣田恵子、深水昭吉 「線虫を用いたタンパク質アルギニンメチル基転移酵素の探索」
BMB2015、2015年

山内理恵子、廣田恵子、徐照、飯塚慧、大徳浩照、加香孝一郎、深水昭吉 「生殖系列におけるメチオニン代謝の機能解析」
BMB2015、2015年

Kanou A., Hirota K., Kako K., and Fukamizu A. 「Screening for arginine methyltransferases.」
新学術領域「転写代謝システム」領域班会議、2015年

山内理恵子、廣田恵子、徐照、加香孝一郎、大徳浩照、深水昭吉 「食餌性メチオニン制限がメチオニン量及び S-adenosyl-L-methionine 量へ与える影響」
新学術領域「転写代謝システム」若手ワークショップ、2015年

Yamauchi R., Hirota K., Xu Z., Iizuka, K., Daitoku, H., Kako, K., and Fukamizu, A. 「Dietary methionine

restriction in axenic medium decreases both methionine and S-adenosyl-L-methionine levels.」

6th Asia-pacific *C.elegans* Meeting、
2014 年

山内理恵子、廣田恵子、徐照、飯塚慧、
大徳浩照、加香孝一郎、深水昭吉「食餌
性メチオニン制限によるメチオニン及び
S-adenosyl-L-methionine への影響」
新学術領域「転写代謝システム」領域班
会議、2014 年

石原誠司、廣田恵子、加香孝一郎、深水
昭吉「線虫 *Caenorhabditis elegans* に
おける *phosphoethanolamine*
methyltransferase-1 の SAM 代謝への影
響」

新学術領域「転写代謝システム」領域班
会議、2014 年

6 . 研究組織

(1)研究代表者

廣田 恵子 (HIROTA, Keiko)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：00375370

(2)連携研究者

加香 孝一郎 (KAKO, Koichiro)

筑波大学・生命環境系・講師

研究者番号：60311594