

アミノ酸代謝が鍵となる酵母の長寿メカニズム

水沼 正樹

はじめに

高齢化が進む現代の日本において、老化を遅延させることにより健康寿命を延ばすことは、QOLの向上のみならず、医療費・介護費などの削減にもつながる重要課題の一つである。一方、老化・寿命に関する基礎研究では、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いた解析から、一つの遺伝子の変異により長寿になることが明らかにされ¹⁾、老化・寿命を遺伝子レベルで理解することが可能となった。さらに、カロリー制限に代表される食餌制限による寿命延長が酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた解析からその仕組みが明らかにされ、その他のモデル生物（線虫、ショウジョウバエ、マウス、サルなど）でも同様のメカニズムの存在が確認されたことから、老化・寿命メカニズムは生物種を問わず、共通点が多いことがわかった²⁾。さらに、カロリー制限したマウスでは、老化に伴う疾患の発症リスクが減るなど有益な効果も認められている²⁾。このような背景から、老化・寿命研究は、単に寿命メカニズムの解明にとどまらず、老化に伴う疾患（生活習慣病など）の発症機構、その予防などに貢献することが期待される。

酵母の寿命

出芽酵母の寿命には、「複製寿命」と「経時寿命」の2種類あることが知られている。細胞の分裂回数は決まっており、複製寿命は、一つの母細胞が一生の間に産生する娘細胞の数、すなわち分裂回数で定義される。一方、分裂しない細胞でもその生存率は日々低下するが、経時寿命は培地中の栄養が枯渇した状態における分裂しない細胞の生存率で定義される。酵母も老化に伴ってさまざまな細胞機能が低下し、ヒトと同じように年老いて、最終的には死を迎える。これまでに、出芽酵母を用いた研究から老化・寿命に関する知見が多く見いだされ、またその普遍性も高いことから、老化・寿命を理解するためのもっともシンプルなモデル生物のツールとして用いられている。

酵母の長寿変異株の取得とその表現型

筆者らは、出芽酵母を使ってメチオニン代謝の中でも、

S-アデノシルメチオニン (SAM) の生理機能に着目して解析を行ってきた。SAMはメチオニンとATPから生合成され(図1)、メチル基のドナーとして生命活動に必須な代謝産物である。SAMはメチル化に利用されたのち、S-アデノシルホモシステイン (SAH) になるが、SAHがSAMの拮抗阻害物質で有害であるため、SAH加水分解酵素SAH1(必須遺伝子)により速やかにホモシステインへと変換される(図1)。筆者らが取得していた *sah1* 変異株は、Sah1が部分的に機能欠損した温度感受性変異株であった³⁾。*sah1* 変異株は増殖遅延を示すとともに顕著に経時寿命が短いことが分かった^{3,4)}。興味深いことに、*sah1* 変異株は野生株と比較して顕著にテロメア長の短縮も観察された。これらのことから、*sah1* 変異株を老化細胞のモデルとして利用することにした。筆者らは、長寿メカニズムの解明を目的としているため、短命の酵母の解析ではなく、長寿変異株を取得し、その仕組みを明らかにすることが重要であろうと考えた。そこで、新規長寿変異株を取得することを目的に、まずは *sah1* 変異株が示す増殖遅延の抑圧を指標に、抑圧変異株のスクリーニングを実施した。その結果、SAH1における復帰変異が11株取得され、それ以外は101株取得した。なんと101個の変異株はすべて一つの遺伝子座に集約され (*YHR032w*)、その変異は優性変異であった (*SSGI* 変異と命名)。さらに、取得した *sah1 SSGI* 二重変異株および *SSGI* 単独変異株の経時寿命を測定したところ、両者とも野生株よりも寿命が延長した⁴⁾。このことから、目的とした長寿変異株の取得に成功した。

これまでに、長寿命の酵母はストレスに対して耐性を

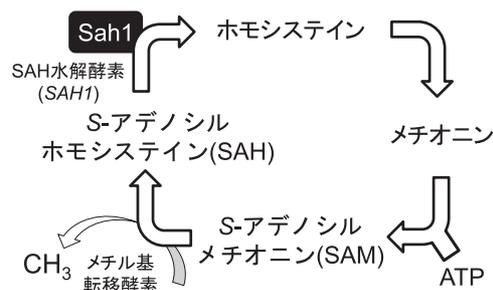


図1. 出芽酵母のメチオニン代謝経路図

示すことも多く報告されていたことから、*SSGI* 単独変異株のストレスに対する影響を調べた。その結果、*SSGI* 変異株は過酸化水素による酸化ストレスやヒートショックなどのストレスに対して耐性を示すことが分かった⁴⁾。

さらに、*SSGI* 単独変異株を用いてオミックス解析を実施した。まず、遺伝子発現を調べるため、マイクロアレイ解析を実施した結果、*SSGI* 変異株ではメチオニン代謝とグルコース代謝に関与する遺伝子が多数高発現していた。興味深いことに、これらグルコース代謝関連遺伝子の多くはカロリー制限により誘導される遺伝子と重複していた⁴⁾。このことから *SSGI* 変異株ではカロリー制限様の現象が起こっていることが予想された。このことを確かめるため、*SSGI* 変異株をカロリー制限すると、野生株にカロリー制限した寿命の結果と同程度になった⁴⁾。このことから、*SSGI* 変異株はカロリー制限模倣株になっていることが示唆された。次に、代謝の変化を調べるため、メタボローム解析を行ったところ、*SSGI* 変異株ではメチオニンの減少とSAMの高蓄積が観察された⁴⁾。これは、先述のメチオニン代謝系の遺伝子の高発現の結果を裏付けるものであった。

SSGI 変異株の寿命延長メカニズム

SSGI 変異株はSAMを高蓄積していたことから、寿命延長に単にSAM自身が高蓄積すればいいのか、あるいはSAM合成活性化のどちらが重要なのか調べた。まず、培地中にSAMを添加し、野生株にSAMをとり込ませてみたが、寿命延長は観察されなかった。次に、SAM合成酵素を過剰発現する株を作製し、SAM合成を活性化させ、SAMを高蓄積させたところ、寿命が延長した(図2)。さらに、*SSGI* 変異株にSAM合成酵素を同時に破壊した株 (*SSGI sam1Δ*) を構築し、その寿命を調べたところ、*SSGI* の寿命延長効果は消失した⁴⁾。

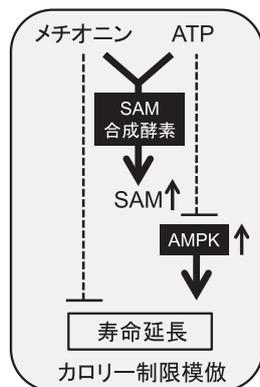


図2. 出芽酵母の促進による寿命延長メカニズム

以上の結果から、SAM合成活性化が寿命延長に重要であることが分かった。

これまでに、カロリー制限をすると、ATPの減少によりAMP依存性プロテインキナーゼ (AMPK) が活性化し、異化代謝が促進され、長寿命となることが知られている⁵⁾。先述のようにSAM合成には、メチオニンとATPを必要とする(図2)。したがって、*SSGI* 変異株やSAM合成酵素過剰発現株では、ATPが消費されることによりAMPK活性が亢進することが予想された。実際、これら両株共にAMPKの活性化が観察され、*SSGI* 変異株にAMPKを破壊した株は寿命延長しなかった⁴⁾。

SAM合成促進の生理的意義

SAM合成促進による寿命延長の生理的意義を明らかにするため、野生株を用いて培地のグルコース濃度を変化させ、SAMの蓄積と寿命との関連を調べた。その結果、通常培地で使用している2%グルコース濃度で培養すると、SAMはほとんど検出されなかった。次に、0.05%グルコースで培養すると有意にSAMの蓄積が観察され、AMPKの活性化および寿命延長も観察された。一方、SAM合成酵素を破壊した株では、寿命延長は観察されなかった⁴⁾。以上の結果から、SAM合成促進および関連するシグナル伝達は、食餌制限のメディエーターという役割を持つことが示唆された(図2)。

おわりに

最近の寿命研究のトピックスとして、栄養状態や腸内細菌叢などの環境因子が原因で生じた特定の代謝産物が寿命を制御する例が見いだされている。たとえば、 α -ケトグルタル酸⁶⁾や硫化水素 (H_2S)⁷⁾などがモデル生物の寿命延長効果を示すことが報告されている。これまでSAMはメチル基供与体としての役割が広く注目を浴びているが、今回筆者らは、SAM合成促進および関連するシグナル伝達経路による寿命制御機構を初めて見いだした。SAMは抗鬱、肝機能、アルツハイマー病などの疾患や質の高い睡眠にも効果があることも示唆されている。また、2型糖尿病治療薬として使用されているメトホルミンはAMPKの活性化に関わることも報告されている⁸⁾。これらのことは、SAM合成促進によるAMPK活性化とSAM蓄積は生体にさまざまな利点をもたらすことが期待される。老化を抑制・遅延させることは老化に伴って発症する疾患の予防につながる。特に代謝産物や代謝経路は高等生物にも高く保存されていることから、代謝産物による寿命制御メカニズム解明は“健康寿命”の延長に貢献することが期待できる。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人発酵研究所及び公益財団法人野田産業科学研究所および科研費（16H04898）の支援によって行われた。

文 献

- 1) Friedman, D. B. and Johnson, T. E.: *Genetics*, **118**, 75 (1988).
- 2) Fontana, L. *et al.*: *Science*, **328**, 321 (2010).
- 3) Mizunuma, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16 (2004).
- 4) Ogawa, T. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 11913 (2016).
- 5) Mair, W. and Dillin, A.: *Annu. Rev. Biochem.*, **77**, 1 (2008).
- 6) Chin, R. M. *et al.*: *Nature*, **510**, 7505 (2014).
- 7) Hine, C. *et al.*: *Cell*, **160**, 1 (2015).
- 8) López-Otín, C. *et al.*: *Cell*, **166**, 802 (2016).