老化・寿命の分子メカニズムと Sir2 蛋白の機能

今井眞一郎

〈要 約〉 21世紀を迎えた我々は今、老化・寿命研究の一大転換期にさしかかっている。分子生物学・遺伝学的手法によってこの複雑な現象にメスが入れられ、老化・寿命をコントロールしているメカニズムの姿が徐々に現われつつある。その結果、各生物種によって多種多様である老化・寿命の背景に、進化的に共通した分子メカニズムの存在が浮かびあがってきている。本稿では、新たな老化・寿命制御因子として Sir2 と呼ばれる蛋白の機能に焦点をあて、その意外な酵素活性、NAD 依存性脱アセチル化酵素活性の老化・寿命のメカニズムにおける重要性を概説する。また最近、老化・寿命のメカニズムにおける進化的共通項としてインスリン・シグナル伝達系の重要性がクローズアップされつつある。線虫においては Sir2 がこのシグナル伝達系に密接に関係して老化・寿命を制御していることが明らかになっており、おそらく哺乳類でもこのメカニズムは保存されていると予想される。Sir2 は NAD によって表わされる細胞のエネルギー代謝状態を、ゲノムのクロマチン制御状態に変換する「エネルギーセンサー」として機能している。Sir2 はこの機能を通して、各生物種に特徴的なエネルギー代謝、特にグルコース代謝の制御系を老化・寿命の制御系へと連結していると考えられる。これらの知見・考察は老化・寿命が「なぜ」進化してきたのかという問題に鍵を与えるものであるが、一方我々は個体において老化が「どのように」起こるのかについても知らねばならない。この問題に対して最後に、老化形質の発現には Sir2 によるゲノムの silencing が解除していくことが重要であるとする「ヘテロクロマチン・アイランド仮説」について述べる。

Key words: Sir2, NAD 依存性脱アセチル化酵素, インスリン・シグナル伝達系, 栄養制限, ヘテロクロマチン・アイランド仮説

(日老医誌 2001; 38:735-739)

はじめに

老化・寿命の分子メカニズムに関する研究は今、大きな転換点にさしかかっている。酵母、線虫、ショウジョウバエ、マウスといった実験動物を用いた老化・寿命の分子遺伝学的研究が急速に進展し、去年から今年にかけて重要な成果が次々と発表されている。その中で現在大きくクローズアップされつつあるのは、各生物種に見られる多種多様な老化・寿命の背景には果たして進化的に保存されている分子メカニズムがあるのか、という問題である。進化学的観点に立てば、老化は個体に対する自然選択圧が生殖期後に弱まることによって生じてきた現象である。つまり個々の生物種における老化のメカニズムは、それぞれの生物種の生活史に密接に関係して進化してきたはずであり、それらの間に何らかの保存性を求

める進化的要請はないと考えられる。しかし、例えば哺乳類においては、中年期以降の死亡率の指数関数的上昇と卵子の枯渇は共通して見られる老化のパターンであり、老化に伴う生理学的変化の多くが非常に似通った相対的時間スケールで観察される¹⁾。さらに最近の線虫とショウジョウバエにおける分子遺伝学的な解析は、この二つの異なる生物種においてインスリン・シグナル伝達系が老化と寿命の制御に重要な共通のメカニズムであることを示した²⁾³⁾。これらの事実は、さまざまに異なる老化と寿命の背景に共通したメカニズムが存在する可能性を示している。共通した分子メカニズムを異なった枠組みの中で使いまわすのは生物の大きな特徴の一つであり、これは発生過程を制御する分子メカニズムにおいて既に明らかである。このような分子生物学的な設計上の制約が生殖期以降に起こる現象に影響を与えていることは十分に考えられることである。

それでは、一体どのような分子メカニズムが老化・寿命のメカニズムの共通項となりうるのだろうか。本稿では Sir2 と呼ばれる分子の機能に焦点をあてて、進化的

The Molecular Mechanism of Aging and Longevity and the Function of Sir2 Proteins

Shin-ichiro Imai: ワシントン大学医学部分子生物学・薬理学部門

図1 老化・寿命の分子メカニズムにおける進化的共通項

酵母, 線虫, ショウジョウバエ, マウスにおいて明らかにされた, あるいは推定されている老化・寿命の調節因子とその関係を図示した. 老化・寿命に影響を与えることが証明されている因子で, ここに挙げてある図式との関係が明らかでないものは省略されている.

に保存された老化・寿命の分子メカニズムについて議論を進めたい.

Sir2—新たな老化・寿命制御因子

Sir2 は最初, 出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の性 (mating type) 決定を制御する因子として見い出された⁴⁾. 酵母におけるヘテロクロマチン構造の構成成分として Sir3, Sir4 と呼ばれる蛋白とともに Sir (Silent Information Regulator) 複合体を形成し, silent mating-type loci (HM loci) およびテロメア領域における転写抑制 (silencing) を担っている⁵⁾. Sir2 は RENT と呼ばれる別の複合体にも含まれ⁶⁾, ribosomal DNA (rDNA) 領域における silencing および相同組換えの抑制を担うとともに, 細胞周期, 減数分裂の制御にも関わりを持っている⁷⁾.

1999年に Sir2 が出芽酵母の寿命と老化の中心的制御因子であることが明らかにされ, Sir2 は初めて老化・寿命研究の舞台に登場してきた⁸⁾⁹⁾. 出芽酵母では大きな mother cell から小さな daughter cell が非対照的に分裂し, それらの mother cell が分裂を停止するまでに産み出した daughter cell の個数によって寿命を計ることができる. これに伴って, bud scar と呼ばれる細胞表面の“傷”の蓄積, 細胞形態の変化, 分裂時間の延長, 接合能の低下 (sterility) といった特徴的な老化兆候も観察される¹⁰⁾. このため50年代より老化現象を示す生物種

の一つとして着目されてきたが, その老化のメカニズムは染色体外に切り出された環状の rDNA (Extrachromosomal Ribosomal DNA Circle; ERC) の蓄積であることが1997年に明らかにされた¹¹⁾. Sir2 は rDNA 領域における相同組み換えの制御を通して, rDNA 領域から ERC が生成される効率を制御することによって酵母の寿命をコントロールする. このため, SIR2 を欠く酵母の寿命が正常の約50%まで短縮してしまうのに対し, SIR2 を1コピー余分に持つ酵母の寿命は正常の30~40%まで延長し, その老化過程も遅延する⁹⁾.

線虫 *C. elegans* における老化は, 酵母のように分裂を基本サイクルとする生物種の老化とは全く対照的である. 線虫の成虫の体細胞はすべて分裂停止細胞からなり, その個体の老化は外的刺激に対する反応性の低下, リポフスチン色素の蓄積, 体内器官の運動性・反応性の低下, 特定の酵素の活性低下, などによって特徴づけられる¹¹⁾¹²⁾. しかし驚くべきことに, 線虫の老化・寿命も Sir2 によって制御されうることが最近明らかになった¹³⁾. 線虫の Sir2 オルソログである *sir-2.1* を強制発現させた個体は, 正常に比べて約50%も寿命が延長する. 一連の遺伝学的解析から, この Sir2 の効果はインスリン/IGF-I・シグナル伝達系を介していることが示唆された. 線虫において, *daf-16* はインスリン/IGF-I・シグナル伝達系の下流に位置する forkhead ファミリーに属する転写

因子であり, *daf-2*はこのシグナル伝達系の始めに位置するインスリン様因子レセプターである⁸⁾. *sir-2.1*は *daf-16*の上流で *daf-2*からのシグナルに反応する遺伝子を制御しているか, または *daf-2*のリガンドとなる因子あるいはその産生をコントロールする因子をコードする遺伝子を制御している可能性が現在考えられている (図1).

Sir2 の酵素活性と栄養制限による 寿命延長のメカニズム

それでは, 酵母と線虫のように全くかけ離れた生物種の間で, なぜ Sir2 は共通して老化・寿命の制御を行うことができるのでしょうか? 興味深いことに, Sir2 蛋白のファミリーはバクテリアからヒトに至るまで広く見出されており¹⁴⁾¹⁵⁾, その機能は幅広い生物種にとって非常に重要なものであることが予想されていた. 昨年, Sir2 が全く新しいタイプの酵素, すなわち nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 依存性ヒストン脱アセチル化酵素であることが発見され, 上記の謎を解くための扉が開かれた^{16)~18)}. クロマチン構造の制御にはヒストンの修飾が重要だが, Sir2 は NAD の濃度に応じてヒストン脱アセチル化酵素活性を現わす. この酵素活性は酵母における silencing と rDNA 組換え抑制に必要とされるばかりでなく, その寿命制御にとって必須であることも明らかになったのである¹⁶⁾. NAD は生体のエネルギー代謝にとって欠かせない物質である. Sir2 は入手可能な NAD のレベルに従ってその脱アセチル化酵素の活性を変え, クロマチンの構造構築を通してゲノムの silencing の状態を調節する. すなわち Sir2 は, NAD で表わされる細胞のエネルギー状態をゲノムの制御状態へと変換する能力を持った「エネルギーセンサー」として機能していることが考えられた¹⁶⁾¹⁹⁾. おそらく Sir2 はこの「エネルギーセンサー」としての機能を通して, 生体におけるエネルギー代謝を老化・寿命のメカニズムに結びつけているのであろう.

この予想は, 老化・寿命のメカニズムの進化的な保存性を考える上で, また別の重要な問いに光をあてることになった. 酵母, 線虫, クモ, ゲツ菌類など幅広い生物種において, 栄養制限が老化を遅延させ, 寿命を延長させる効果を持つ唯一の手段であることが知られている¹⁾¹²⁾. 栄養制限による寿命延長のメカニズムについては, 代謝レベルの低下による酸化ダメージの減少が原因ではないかと考えられてきたが, 実際のメカニズムはまだ不明のままであった. 昨年少なくとも酵母においては, Sir2 と NAD が栄養制限による寿命延長効果に必須であ

ることが明らかにされた²⁰⁾. 酵母の場合, 栄養制限は培地中のグルコースを制限することによって行うことができ, 低グルコース濃度下では酵母の寿命は有意に延長する. グルコースは cAMP-dependent protein kinase (PKA) のシグナル伝達系を活性化させるため, PKA 活性の低下を招くミュータントによって栄養制限の効果を模倣することができる. その一つに, GTP/GDP exchange factor Cdc25p のミュータントである *cdc25-10* がある. このミュータントは野性型に比べ50%近い寿命の延長を示すが, この寿命延長効果は, *SIR2* を欠失させることによって失われる. さらに, NAD 合成系の主要酵素である nicotinic acid phosphoribosyl transferase (NPRTase) をコードする *NPT1* を欠失させても, この効果が失われることが明らかになった. この結果は, Sir2 がその NAD 依存性脱アセチル化酵素としての活性を通してエネルギー代謝と老化・寿命を結び合わせている, という予想を強く裏付けることになった (図1).

Sir2 の酵素活性は, 哺乳類においても高度に保存されている¹⁶⁾. また哺乳類の Sir2 はその酵素活性を通して, 転写抑制を担うことができることも明らかになっている (未発表データ). 老化・寿命と栄養制限の関係が広く普遍的であること, Sir2 の機能も種を超えて保存されていることを考え合わせると, 老化・寿命制御における Sir2 の「エネルギーセンサー」としての重要性も種を超えて保存されていることが十二分に予想される.

老化・寿命の分子メカニズムに おける進化的共通項

最近ショウジョウバエにおいて, インスリン・シグナル伝達系が老化と寿命の制御に重要な役割を果たしていることが二つのグループから独立に報告された²⁾³⁾. ショウジョウバエの *chico* 遺伝子は insulin-receptor substrate (IRS) 蛋白をコードしており, IRS 蛋白はインスリンレセプターから入るシグナルを下流の phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) に伝達する役割を果たしている. この *chico* のホモ変異体およびヘテロ変異体の寿命は野性型に比べてそれぞれ, 48%, 36%も寿命が延長した²⁾. また, ショウジョウバエの *insulin-like receptor* (*InR*) 遺伝子のある特定の変異体は野性型に比べて, メスにおいて85%もの寿命延長を示し, またオスにおいても10日齢での余命が43%延長した³⁾. この *InR* の突然変異の効果は, 神経分泌組織由来のアラタ体 (corpora allata) における幼若ホルモン (juvenile hormone (JH)) の産生低下を通して引き起こされている. 興味深いこと

にマウスにおいても、神経内分泌系の異常、特に成長ホルモン—IGF-Iの系の異常と老化・寿命の間に密接な関係があることが見い出されている。例えば、脳下垂体の発達不全によって成長ホルモンや他の下垂体ホルモンが産生されない Ames マウス (*Prop1* 遺伝子の突然変異)²¹⁾ や Snell マウス (*Pit1* 遺伝子の突然変異)²²⁾、成長ホルモンレセプターの遺伝子のノックアウトにより血中の IGF-I が異常に低値になっている Laron 症候群モデルマウス²³⁾において、老化の遅延、寿命の延長が報告されている。

このような酵母、線虫、ショウジョウバエ、マウスでの結果をすべて考え合わせると、老化・寿命の分子メカニズムにおける進化的共通項として、エネルギー代謝、特にグルコース代謝の調節系の重要性が浮かび上がってくる。そして、Sir2 はまさにこのグルコース代謝の調節系の中で「エネルギーセンサー」としての役割を担うことによって、エネルギー代謝を老化・寿命のメカニズムへと直結させているのであろう (図1)。酵母のような単細胞生物種においては、グルコースが細胞内のシグナル伝達に直接的に関与しているために、Sir2 もそのシグナル伝達系の中で働くようになっている。しかし、線虫やハエ、さらにはマウスといった多細胞生物種においては、グルコース代謝は神経内分泌系から分泌される種々のホルモンによって調節され、細胞内ではインスリン・シグナル伝達系が重要な働きを担うように進化してきている。このようなグルコース代謝調節の進化とともに、Sir2 の作用点も変わってきたのであろう。この一連の考察はまた、老化・寿命の進化学に新たな視点を与える。Kenyon²⁴⁾ および Guarente²⁵⁾ はそれぞれ、生物が栄養的に過酷な環境下において生殖を抑制し、環境が改善されるまで代謝的な休眠状態を保つようにすることが子孫を最大限に残すために重要であったとし、このような能力の獲得が選択圧となって老化・寿命の共通した分子メカニズムが進化したのではないかと推察している。

老化の「ヘテロクロマチン・アイランド」仮説

実は以上の考察においても、「老化」という現象がなぜ起こるのかという問題自体は自明ではない。しかし、Sir2 の機能が高度に保存されていることから、Sir2 によるゲノムワイドな silencing の維持がゲノムの不安定性や不適切な遺伝子の発現を抑制するために重要であることが考えられる。酵母の場合には、この silencing の効果は rDNA 領域における相同組み換えの抑制を通して ERC の産生を抑制するという形で現われる。他の生物種の場合には、ゲノムそのものの進化とともに、silencing の

部位もおそらくは異なっていることであろう。しかし、ゲノムの特定部位の silencing がその生物種の進化的適合度を高めるようになっていることは十分に考えられる。この場合に、Sir2 による silencing が徐々に失われ、それらの遺伝子が発現するようになることが老化形質の発現に結びつく可能性が考えられる。この点、Sir 複合体が DNA ダメージによって生じるシグナルに応答して、本来のヘテロクロマチン構造から解離する性質をもっていることは非常に重要である²⁶⁾²⁷⁾。哺乳類の場合も、ダメージによって生じるシグナルによって Sir2 による silencing が解けるメカニズムが保存されていることが予想される。細胞がダメージから回復したときに、もし silencing の状態が100%もとに戻らなければ、時間経過の中で細胞がダメージを被るたびに Sir2 による silencing は徐々に解除され、その制御下にあった遺伝子群が発現する結果となる。細胞分裂を繰り返している組織では DNA の複製の際にそうしたダメージがおこる可能性があるし、分裂を停止している組織ではおそらく酸化ダメージが大きな役割を果たしているであろう。筆者と共同研究者の北野 (現 ERATO 北野共生プロジェクト総括者) は、silencing を受けている部位はゲノム上に「島上に」散在し (ヘテロクロマチン・アイランド)、その漸次的な解離が老化形質の発現の本質であろうとする「ヘテロクロマチン・アイランド仮説」を提唱した²⁸⁾。次の重要なステップは、哺乳類における Sir2 の機能を明らかにし、この仮説を検証することである。私の研究室はこの問題に立ち向かうべく、ワシントン大学医学部において現在スタートしたところである。

文 献

- 1) Finch C: Longevity, Senescence, and the Genome. University of Chicago Press, Chicago and London 1990.
- 2) Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, Oldham S, Stocker H, Hafen E, et al: Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science* 2001; 292: 104—106.
- 3) Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu M-P, Yin C-M, Garofalo RS: A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 2001; 292: 107—110.
- 4) Klar AJS, Fogel S, MacLeod K: MAR1-A regulator of the *HMa* and *HMa* loci in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 1979; 93: 37—50.
- 5) Guarente L: Diverse and dynamic functions of the Sir silencing complex. *Nat. Genet* 1999; 23: 281—285.
- 6) Straight AF, Shou W, Dowd GJ, Turck CW, Deshaies RJ, Johnson AD, et al: Net1, a Sir2-associated nucleolar pro-

- tein required for rDNA silencing and nucleolar integrity. *Cell* 1999; 97 (2) : 245—256.
- 7) Garcia SN, Pillus L : Net results of nucleolar dynamics. *Cell* 1999; 97 : 825—828.
- 8) Guarente L, Kenyon C : Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature* 2000; 408 : 255—262.
- 9) Kaerberlein M, McVey M, Guarente L : The *SIR2/3/4* complex and *SIR2* alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev* 1999; 13 (19) : 2570—2580.
- 10) Sinclair D, Mills K, Guarente L : Aging in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annu. Rev. Microbiol* 1998; 52 : 533—560.
- 11) Sinclair DA, Guarente L : Extrachromosomal rDNA circles—a cause of aging in yeast. *Cell* 1997; 91 : 1033—1042.
- 12) Arking R : Biology of aging. 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA 1998.
- 13) Tissenbaum HA, Guarente L : Increased dosage of a *sir-2* gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2001; 410 : 227—230.
- 14) Brachmann CB, Sherman JM, Devine SE, Cameron EE, Pillus L, Boeke JD : The *SIR2* gene family, conserved from bacteria to humans, functions in silencing, cell cycle progression, and chromosome stability. *Genes Dev* 1995; 9 : 2888—2902.
- 15) Frye RA : Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem. Biophys Res Commun* 2000; 273 : 793—798.
- 16) Imai S, Armstrong CM, Kaerberlein M, Guarente L : Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* 2000; 403 : 795—800.
- 17) Landry J, Sutton A, Tafrov ST, Heller RC, Stebbins J, Pillus L, et al. : The silencing protein *SIR2* and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 : 5807—5811.
- 18) Smith JS, Brachmann CB, Celic I, Kenna MA, Muhammad S, Starai VJ, et al. : A phylogenetically conserved NAD⁺-dependent protein deacetylase activity in the Sir2 protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 : 6658—6663.
- 19) Imai S, Johnson FB, Marciniak RA, McVey M, Park PU, Guarente L : Sir2 : An NAD-dependent histone deacetylase that connects chromatin silencing, metabolism, and aging. *Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol* 2000; 65 : 297—302.
- 20) Lin S-J, Defossez P-A, Guarente L : Life span extension by calorie restriction in *S. cerevisiae* requires NAD and *SIR2*. *Science* 2000; 289 : 2126—2128.
- 21) Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A : Dwarf mice and the ageing process. *Nature* 1996; 684 : 33.
- 22) Flurkey K, Papaconstantinou J, Miller RA, Harrison DE : Lifespan extension and delayed immune and collagen aging in mutant mice with defects in growth hormone production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 : 6736—6741.
- 23) Coschigano KT, Clemmons D, Bellush LL, JJ K : Assessment of growth parameters and life span of GFR/BP gene-disrupted mice. *Endocrinology* 2000; 141 : 2608—2613.
- 24) Kenyon C : A conserved regulatory system for aging. *Cell* 2001; 105 : 165—168.
- 25) Guarente L : *SIR2* and aging—the exception that proves the rule. *Trends Genet* 2001; 17 : 391—392.
- 26) Martin SG, Laroche T, Suka N, Grunstein M, Gasser SM : relocalization of telomeric Ku and SIR proteins in response to DNA strand breaks in yeast. *Cell* 1999; 97 : 621—633.
- 27) Mills KD, Sinclair DA, Guarente L : *MEC1*-dependent redistribution of the Sir3 silencing protein from telomeres to DNA double-strand breaks. *Cell* 1999; 97 : 609—620.
- 28) Imai S, Kitano H : Heterochromatin islands and their dynamic reorganization : a hypothesis for three distinctive features of cellular aging. *Exp Gerontol* 1998; 33 : 555—570.