

# SIRT1による代謝制御機構の解明

長谷川 豊

東北大学病院糖尿病代謝科 助教

(現 カリフォルニア州立大学サンフランシスコ校糖尿病センター Post Doc)

## 緒言 (実験方法)

私たちは誰でも「歳をとる」「老化する」ことを直観的に理解しており、当たり前で避けられない現象と捉えている。しかしながら、老化・寿命のメカニズムの詳細の解明はいまだ不十分であり、老化がいかに細胞分子レベルにてコントロールされているかを解明することは非常に重要である。老化が寿命を制御する分子メカニズムは急速な進歩を遂げつつあり、カロリー制限やインスリン・IGF-1経路、NF- $\kappa$ B経路<sup>1)</sup>、酸化ストレス、テロメア短小化、クロマチン異常など様々なパラダイムにより制御されている<sup>2,3)</sup>。その中で、老化を制御する重要な因子の一つが、酵母よりみつけられたSir2 (silencing information regulator 2) と呼ばれるSirtuin遺伝子である。このSir2は、NAD依存性ヒストン脱アセチル化酵素という活性を有し、エネルギー代謝と老化を制御し結びつける役割を担っている。赤ワインなどに含まれるある種のポリフェノールやSirtuin活性化物質がSir2機能を高めることによりカロリー制限の効果を模倣し、寿命を延長させることがわかっている。

レスベラトロールに代表される食品に含まれるポリフェノールは、スチルベン誘導体ポリフェノールの一つで、ブルーベリーやブドウの果皮、赤ワインに豊富に含まれ、抗酸化物質として知られている。また、フレンチパラドックスとして、心血管病変に対する予防効果が報告されているだけでなく、寿命延長作用が知られるようになった。そのメカニズムのひとつがサーチュイン(Sirtuin) 遺伝子の活性化機構である。

また、食事制限によるカロリー制限 (calorie restriction) にも、寿命を延長させることは、以前より明らかとなっていたが、そのカロリー制限による寿命延長機序としても、細胞レベルにてSirtuin遺伝子が活性化され、老化そのものの進展が抑制されることが示されている。Sirtuin遺伝子は、酵母における抗老化作用を示すSir2 (Silent information regulator 2) より同定された。Sir2

は、NAD依存性ヒストン脱アセチル化酵素という活性を有し、エネルギー代謝と老化を制御し結びつける役割を担っている。さらにSirtuin遺伝子は、動脈硬化の抑制効果や発癌を抑制する機能も有している。

そこで、赤ワインや果実に含まれるポリフェノール類 (レスベラトロールなど) が、いかにしてSirtuin遺伝子 (SIRT1) を活性化し、個体における全身代謝や寿命に影響を及ぼすかを細胞レベル・遺伝子レベルで解明することを目的として研究に着手した。

## 結果

### 1. 核-ミトコンドリア asynchrony における SIRT1 の役割解明

レスベラトロールによるSIRT1活性機序において、electron transport chain (ETC) 複合体が核-ミトコンドリア伝達網を規定する新規の経路を見出すことができた。加齢したマウスでは、この経路を介しゲノム同調性 (genome synchrony) をきたす機序が欠落していることが判明した。さらに、核-ミトコンドリア asynchrony の原因と考えられるのは、加齢に伴うNAD<sup>+</sup>の減少であることが判明した。NAD<sup>+</sup>レベルを上げ、SIRT1活性を上昇させる分子であるsmall moleculesを投与したところ、ミトコンドリアの機能低下を抑制できた。その際に、NAD<sup>+</sup>レベルもしくはSIRT1活性を維持させておくことが、ETC不均衡の是正に必須であることがわかった。同時にSIRT1依存的にこれらの影響が見られることを確認するため、SIRT1-iKOマウスを用いて解析を進めている。

### 2. 核-ミトコンドリア asynchrony 機構により新たに同定された myokine の機序解明

ミトコンドリアが細胞内の周囲の他器官と同調・協調して、ミトコンドリア機能を発揮していく機序は、ほとんどが不明であったが、その機序は加齢に伴い機能低

下をきたすことは判明していた。ヒトゲノムを用いたスクリーニングにより、ミトコンドリア機能を規定する新たな遺伝子が同定した。現時点で同定されている遺伝子数の3倍以上であり、その中で、特に5つの分泌される遺伝子に注目し解析を進めた。

そのうちの1つの分泌蛋白が加齢マウス骨格筋の発現を変化させる myokine であることを同定した。その新規 myokine の骨格筋回復効果、その他臓器・全身代謝への影響を解析した。その新規 myokine は、骨格筋細胞から直接血中に分泌され、全身に循環している分泌蛋白であった。今後、全身代謝・糖代謝への影響、加齢に及ぼす役割についての説明を進める予定である。

### 3. SIRT1によるO結合型糖化蛋白の規定

脂肪細胞においてSIRT1がグリコシル化 (Glycosylation) に及ぼす影響についての検討を行った。グリコシル化は、翻訳後修飾の重要な役割を担っている。グリコシル化には、N結合型グリコシル化とO結合型グリコシル化の2つのタイプが存在する。SIRT1欠損マウスの脂肪細胞におけるO結合型糖化蛋白 (O-GlcNAc) の発現が、野生型マウスと比較して、上昇していることが判明した

(図1)。すなわち、翻訳後修飾にてSIRT1が脂肪細胞における糖化蛋白を規定していることが示唆された。その詳細な機序の解明のため、シグナル伝達に及ぼす役割解明と主に修飾を受けている糖化蛋白の同定説明を行っている。

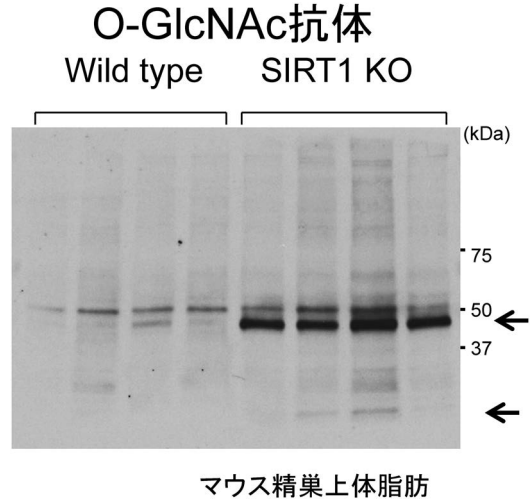


図1 精巢上体脂肪におけるO-GlcNAc結合蛋白の発現

SIRT1欠損マウスの精巢上体脂肪では、O-GlcNAc結合蛋白の増加が認められた。

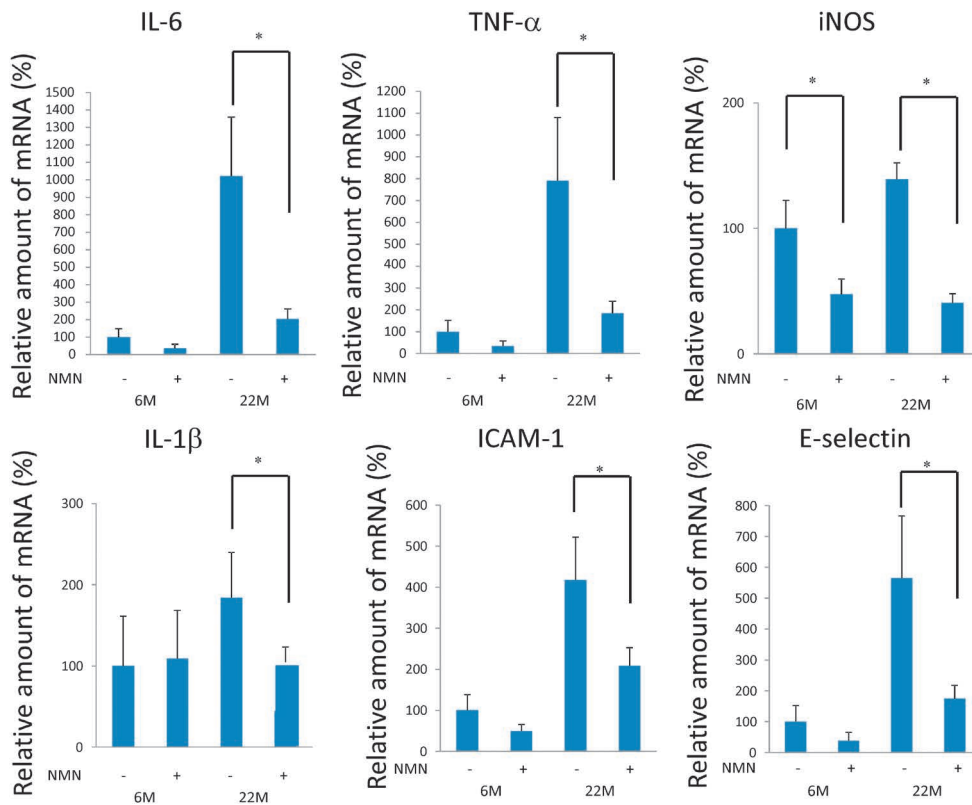


図2 NMN投与による大動脈遺伝子発現変化

#### 4. NMNによる大動脈の炎症や動脈硬化に及ぼす役割の検討

Sirtuinは、NAD依存性ヒストン脱アセチル化酵素という活性を有し、エネルギー代謝と老化を制御し結びつける役割を担っている。そこで、NADレベルを上昇・維持させSIRT1活性を上昇させる機序が示唆されているNicotinamide mononucleotide (NMN)<sup>4)</sup>を用いて、この薬剤が大動脈における炎症や動脈硬化に及ぼす役割検討を行った。6ヶ月齢マウスと22週令の加齢マウスにそれぞれ5日間連日で500 mg/kg体重のNMNの腹腔内投与を行い検討した。NMNは、大動脈においてTNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、iNOSといった炎症性サイトカイン・ホルモンの発現上昇を抑え、特に、加齢した22ヶ月齢マウスの大動脈における炎症を有意に抑制することがわかった(図2)。

さらに、加齢したマウス大動脈においてICAM-1、E-selectinといった接着因子の発現を有意に抑えていた(図2)。血管における炎症や接着因子を抑えることにより、動脈硬化の発症や進展を抑制する効果が期待でき、加齢に伴う血管の炎症や動脈硬化に深く関わっていることが示唆された。今後は、動脈硬化のモデルマウスであるApoE欠損マウスや加齢モデルマウスへのNMN投与により、このNMNの動脈硬化の発症進展機序への役割解明を進めていく予定である。

#### 考 察

Sirtuinの活性機構が細胞内でどのように活性化されるかを分子レベルで詳細に解明することは非常に重要であると考えられる。代謝調節への役割解明だけではなく、老化の抑制、あるいは寿命の延長につながる可能性が考えられる。さらなる詳細な機序解明により、食におけるSirtuin遺伝子の活性化機構と細胞老化・個体寿命を標的とした創薬につながる可能性も考えられ、食によ

る老化予防や臨床応用につながることを期待したい。

#### 要 約

本研究は、ブルーベリーやブドウの果皮、赤ワインに豊富に含まれるレスベラトロールなどによりが活性化されるSirtuinが、個体の組織における全身代謝や老化・寿命に及ぼす影響を検討したものである。

1. レスベラトロールで活性化されるSIRT1が細胞内における核-ミトコンドリア伝達網を規定することが示唆された。
2. 核-ミトコンドリア asynchrony 機構により、新規の myokine を同定できた。
3. SIRT1が脂肪細胞における糖化蛋白を規定していることが示唆された。
4. Nicotinamide mononucleotide (NMN) は、大動脈における炎症や接着因子の遺伝子発現を抑える。特に、加齢したマウス大動脈での炎症や接着因子の発現を有意に抑制した。

以上より、SIRT1は細胞内の核-ミトコンドリア伝達網を規定し、各臓器や組織における様々な生理活性に変化を与え、全身代謝や老化・寿命を規定することが示唆された。

#### 謝 辞

本研究課題を遂行するにあたり、公益財団法人三島海雲記念財団ならびに選考に携わっていただいた諸先生方に心より深謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) Y. Hasegawa, et al.: *Circulation*, **125**(9), 1122-1133, 2012.
- 2) L. Fontana, et al.: *Science*, **328**(5976), 321-326, 2010.
- 3) F. M. Cerqueira, A. J. Kowaltowski: *Ageing Res. Rev.*, **12**(1), 22-28, 2013.
- 4) J. Yoshino, et al.: *Cell Metab.*, **14**(4), 528-536, 2011.