

《総 説》

分子シャペロンと老化・寿命

永井宏征, 大塚健三

中部大学応用生物学部 細胞ストレス生物学教室

はじめに

老化現象はいかなる生物種にも見られる現象であり、昔から多くの研究者が取り組んできた。しかし、様々な仮説が立てられているが、その分子機構はあまり解明されていない。その中で、加齢に伴いストレス応答が低下することが判明し (Fargnoli et al., 1990), 寿命に分子シャペロンが関与していることが示唆されてきた。さらに近年は熱ショックタンパク質 (Heat shock proteins: HSPs) を中心とする様々な分子シャペロンが老化・寿命に関与していることが線虫やショウジョウバエを中心としたモデル生物で分子遺伝学的な観点から多数報告されている。分子シャペロンには老化・寿命への関与以外にもタンパク質のフォールディングや分解、品質管理など非常に多岐にわたる分野でその役割が知られており、生物の基本的かつ必要不可欠な役割を担っている (Hartl and Hayer-Hartl, 2002)。そこで本稿では、分子シャペロンと老化・寿命に関するこれまでの知見、および最近の動向について概説する。

寿命研究の意義と近年の傾向

近年、老化・寿命が研究対象として非常に注目を浴びている。これは不老長寿や不老不死を目的としているというよりは、ヒトが老化する機構を明らかにし、目前にせまった超高齢化社会において問題となる老化による苦痛や疾病を解決または軽減することを目的としているように思われる。

本稿でも取り上げているように、現在は老化・寿命研究においてモデル生物による研究が盛んに行われている。生物界で統一した機構が存在するとは思えない老化の研究にモデル生物がよく使われるのは、進化的に共通した老化機構の存在を期待するからである。

モデル生物の代表的なものとして酵母や線虫、

ショウジョウバエ、早老症マウスなどが使用されており、これらの実験結果から老化の分子機構が徐々に解明されつつある。特に近年は分子遺伝学的な研究が進展した結果、各種生物間に見られる多種多様な老化・寿命の背景に進化的に共通した分子メカニズムが存在することが明らかになりつつある。

そのメカニズムに分子シャペロンが関与していることが数多く報告されている。これをうまく利用できれば老化の進行を抑制することや、老化に伴う疾病を改善することができるのではないかと期待されている。

分子シャペロンの機能

分子シャペロンはそのほとんどがHSPsである。このHSPsは1962年ショウジョウバエの熱ショック特異的なパフの観察により発見され (Rittossa, 1962), さらに熱ショックにより新たに合成されるタンパク質群として認識されるようになった (Tissieres et al., 1974)。その後、このタンパク質群は大腸菌から哺乳類まで普遍的に存在し、かつ非常によく保存されていることが証明され (Schlesinger, 1990), HSPsが広く研究されるようになった。HSPsは熱ストレスにより誘導されるだけでなく、エタノールやヒ素、カドミウムなどの化学ストレスやX線や紫外線、浸透圧などの物理的ストレス、または過酸化水素などの酸化ストレスといった様々なストレスにより発現誘導される。

HSPsをはじめとする分子シャペロンはストレス条件下もしくは、平常時においても生成する変性タンパク質や構造が不安定なタンパク質にATP依存的に結合し、そのリフォールディングや分解を促進して変性タンパク質の蓄積抑制を行う働きを持つ。さらに新生タンパク質に結合してそのフォー

キーワード: 熱ショックタンパク質, 分子シャペロン, 老化, 寿命

受 理 日: 2006年2月22日受理

ルディングを介助する役割も果たす (Bukau et al., 2000). また, タンパク質のミトコンドリアや小胞体への膜透過やその他の細胞小器官への輸送にも関与しており (Deshaies et al., 1988; Chirico et al., 1988), その他にも TNF- α などの炎症性サイトカインへの細胞耐性の向上といった免疫系での機能 (Jaattela and Wissing, 1993) など多岐にわたる機能を持つ。

分子シャペロンと老化・寿命の関係

近年, 分子シャペロンが老化・寿命に関与していることがわかってきており, この分野ではモデル生物を利用した研究が盛んに行われている。本稿では老化・寿命研究のモデル生物として有名な線虫とショウジョウバエを中心に分子シャペロンと老化・寿命の関係を紹介してゆく。

1) 線虫

1987年に *Caenorhabditis elegans* において長寿命変異体である *age-1* が発見・単離され, 線虫での老化・寿命研究が進んだ (Friedman and Johnson, 1987). その後, 線虫において耐性幼虫形成に関わる *daf-2* や *daf-16* 遺伝子 (Gottlieb and Ruvkun, 1994) が寿命に関与していることが判明し (Kenyon et al. 1993; Larsen et al. 1995), その後これらの変異体を用いた分子遺伝学的な研究により寿命延長代謝経路である insulin-like signaling pathway の存在が広く知られるようになった。この代謝経路はその後, 様々な生物に存在することが証明され (Gems and Partridge, 2001), 老化・寿命研究を加速させた。特に線虫ではこの代謝経路に関与する遺伝子が耐性幼虫形成の研究により早くから知られていたため, それらの遺伝子における変異体の利用や, 各遺伝子を導入または阻害することでその遺伝子の機能解明が盛んに行われてきた。

そのなかで, 耐性幼虫形成阻害に関与し (Vowels and Thomas, 1992; Ogg et al., 1997), insulin-like signaling pathway で寿命延長に働く Daf-16 転写因子が small HSPs (sHSPs) のひとつである Hsp16 と関連を持つことが報告された (Walker and Lithgow, 2003). これは *age-1* 変異体に *hsp16* 遺伝子を過剰発現させると寿命が延長し, さらにこの変異体において *daf-16* 遺伝子に変異を持つ個体は *hsp16* 遺伝子の発現量を増加しても寿命は延長しないというもので, これ

らの実験結果から Daf-16 が Hsp16 の発現を制御していることが報告された。この Daf-16 は Hsp16 以外にも転写因子として他の sHSPs の発現に関与している可能性が示唆されている。この sHSPs が長寿命変異体に共通に見られるストレス耐性 (Lithgow, 1995) に働いていると考えられている (図1)。

同様に熱ショック転写因子 (heat shock

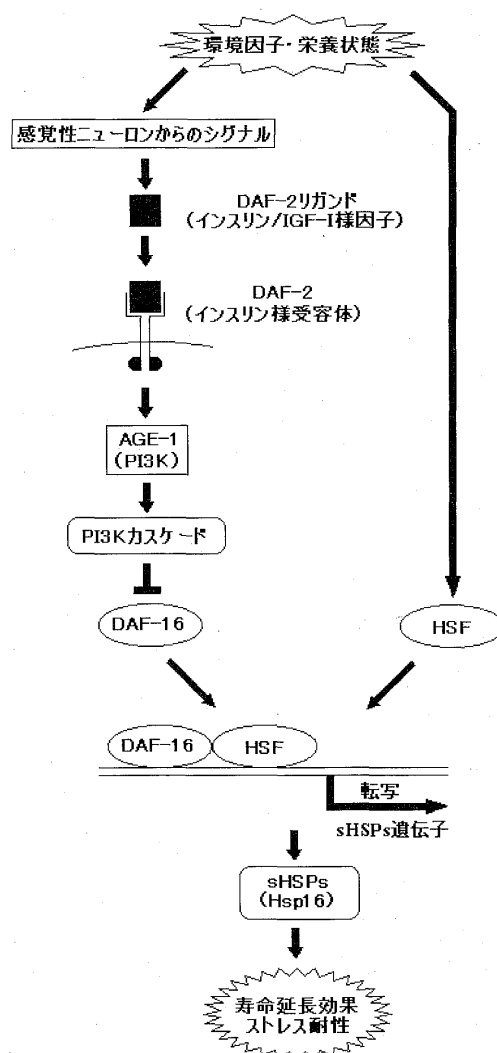


図1. 線虫の Insulin-like signaling pathway における老化・寿命の制御機構。進化的に保存されたシグナル経路を経て DAF-16 は発現が抑制されている。この経路の上流の機能を担うタンパク質の遺伝子に変異が生じた場合, DAF-16 が誘導され sHSPs の発現が促進される。その結果寿命延長効果やストレス耐性を示すと考えられている。sHSPs の発現には HSF の存在も重要であることが示唆されている。Ogg et al., 1997; Hsu et al., 2003 をもとに作成。PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase (ホスファチジルイノシトール3リン酸キナーゼ)

factor:HSF)もsHSPsの発現に関与しており、この遺伝子の発現を抑制すると寿命が縮まることが証明されている(Morley and Morimoto, 2003)。HSFはhsp遺伝子のプロモーターに存在するコンセンサス配列(heat shock element; HSE)に結合してその転写を促進する進化的に非常に保存されたタンパク質である。このhsf遺伝子をRNAiにより翻訳阻害した個体はHsp16の発現を抑制し、さらにストレス感受性が増して寿命も短くなることが報告されている(Walker et al., 2003)。逆にhsf遺伝子を過剰発現すると熱や酸化ストレス耐性、寿命延長効果を示すことが確認されている。さらにHSFの発現をRNAiにより抑制するとHsp16をはじめとするDAF-16標的遺伝子のmRNAの発現量が抑制される。また、これらの遺伝子の上流域にはHSFとDaf-16の結合領域が存在し、これらの転写因子がDAF-16標的遺伝子の発現を制御している可能性が示唆されている(Hsu et al., 2003)。

これらの他にも線虫のHsp70ファミリーであるHsp70AやHsp70Fを過剰発現すると寿命が延長することも報告されている(Yokoyama et al., 2002)。これらは寿命延長代謝経路に直接関与するよりは老化による変性タンパク質の修復・分解など分子シャペロンとしての一般的な機能により寿命延長効果を示すと考えられている。

2) ショウジョウバエ

ショウジョウバエでは古くから温熱耐性の誘導により平均寿命がわずかではあるがしかし有意に延長するという報告がされていた(Khazaeli et al., 1997)。さらに熱ストレス誘導型Hsp70の発現量を増加させると寿命が延長するという結果もあり(Tatar et al., 1997)、分子シャペロンの寿命への関与が示唆された。この現象は線虫と同様に加齢に伴い発生する損傷タンパク質をHsp70の分子シャペロン機能によりリフォールディングまたは分解して変性タンパク質が細胞内に蓄積するのを防いでいると考えられている。

ショウジョウバエにおいても線虫と同様にsHSPsが寿命に大きく関わっているようである。しかし線虫のHsp16とは異なり、ショウジョウバエではhsp22やhsp23のmRNAが加齢とともに増加することが報告されている(Wheeler

et al., 1995)。さらにその後の研究によりhsp22とhsp23遺伝子のRNA発現レベルが寿命やストレス耐性に関与していることが報告された(Kurapati et al., 2000)。さらに老化したショウジョウバエの頭部において最もhsp22のmRNAが増加していることがわかり、Hsp22の発現は転写レベルと転写後レベルの両方で調整されていることも判明した(King and Tower, 1999)。また、他のsHSPsであるhsp26やhsp27の遺伝子を過剰発現しても寿命が延長し、さらにパラコートや熱ショック、飢餓に対するストレス耐性も増加することが知られている(Wang, 2004)。このようにショウジョウバエにおいても線虫と同様にsHSPsが寿命に深く関与していることが数多く報告されている。

しかし、ショウジョウバエの場合はsHSPsがinsulin-like signaling pathwayで機能しているというよりは酸化的ストレスによる老化を抑制する働きを持っているようである。酸化的ストレスとはミトコンドリア内における好氣的呼吸において不可避免的に発生する活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)による分子レベルでの酸化的傷害のことであり、それによって細胞、組織、生体全体の機能が低下する。これが、老化の大きな要因の一つとして古くから知られている。寿命の長い生物種ほどROSの発生率が低い傾向にあり、実験的にも抗酸化酵素(super oxide dismutase: SOD)を過剰発現することでROSの発生を抑えている個体は老化に関連した変化が軽減し、寿命が延長することが報告されている(Orr et al., 1994)。ここで、ショウジョウバエにおいてミトコンドリアのマトリックスに存在するHsp22が欠損すると寿命が縮まり、熱ショックへの耐性もなくなる(Morrow et al., 2004a)。逆にその発現量を適度に増加させると寿命が延長して酸化ストレスや熱ストレスへの耐性も増加することが確認されている(Morrow et al., 2004b)。さらにHsp22はミトコンドリアに局在していることが知られている。ミトコンドリアでは加齢や好気呼吸により発生したROSがミトコンドリアDNAの損傷やタンパク質の誤修飾を引き起こし、異常タンパク質による凝集体が形成されている。Hsp22はこれらの凝集体形成を抑制する働きをしていると考えられている(図2)。

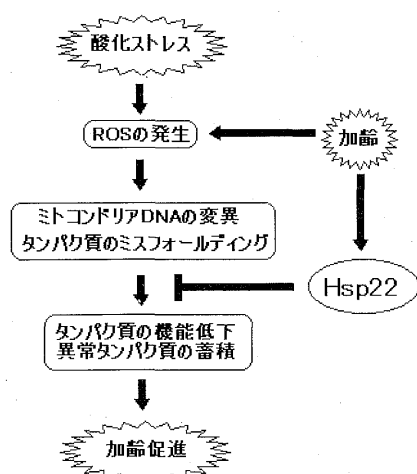


図2. ショウジョウバエのミトコンドリア内における酸化ストレスや加齢に対するHsp22の機能. 酸化ストレスや加齢により発生したROSはミトコンドリア内において加齢促進に働く. Hsp22はこの途中の経路を阻害することで加齢促進を抑制していると考えられている. Morrow et al., 2004をもとに作成.

さらにショウジョウバエにもinsulin-like signaling pathwayが存在し, この経路に参与するInr (*daf-2*) やchicoなどの遺伝子が欠損した変異体の寿命は延長することが証明されている (Tatar et al., 2001; Clancy et al., 2001). しかし, 現在のところsHSPsがショウジョウバエにおいてinsulin-like signaling pathwayに参与しているかどうかは分かっていない.

3) 哺乳類

マウスやラットを用いた老化研究は古くから行われていた. 特にカロリー制限により老化が遅れることや寿命が延びることが分かっており (Weindruch and Walford, 1982; Yu et al., 1982), この場合, ROSによる損傷を受けたタンパク質や核酸が少なくなることが報告されている. これは, カロリー制限により発生するROSが減少し, その結果酸化的損傷が低下すると考えられている.

その後, 老化に伴いストレス応答も減少してゆくことが判明した. たとえばラットにおいて若い個体と老齢な個体から得た肺と肌の繊維芽細胞を比較すると熱ストレスを受けた時に, RNAレベル, タンパクレベルともにHsp70の発現が老齢な個体は減少していること (ストレス応答の低下) が報告されている (Fargnoli et al.,

1989). おもしろいことに, このストレス応答の低下はカロリー制限により抑えられることも報告されており, 老齢の個体でもカロリー制限をした個体から単離した培養肝細胞のストレス応答反応は若い個体から単離したものと同程度である (Heydari et al., 1993). 以上のことから老化にストレス応答が深く関与していることが哺乳類でも認められている.

さらに近年, ヒトにおいても加齢に伴うHsp70の発現量変化が示された. これは, 血清中とリンパ球中のHsp70のレベルを年齢別に調べたもので, とくにリンパ球中のHsp70レベルについては加齢に伴う顕著な現象が報告されている (Jin et al., 2004).

このように分子シャペロンはすべての生物において普遍的に老化・寿命に関与しているようである. 今後さらなる研究の進展により, 分子シャペロンの老化・寿命への機能がより具体的になってくると考えられる.

おわりに

モデル生物を使用した研究は老化研究のごく一部分にすぎない. しかし近年, 線虫やショウジョウバエを中心にして分子レベルでの解析が急展開している. そのなかでも本稿で紹介したようにHSPsを中心とした分子シャペロンの存在が注目されている. HSPsの発現を促進すると寿命が延長することが多く報告されていることから, 副作用がなく, ストレス応答を促進する分子シャペロン誘導剤をもちいた寿命延長の試みがなされている (Ohtsuka et al., 2005). 分子シャペロン誘導剤ではないが, 薬剤による寿命延長実験はすでにいくつも行われている. たとえばヒトの抗痙攣治療薬であるエトサクシミドや (Everson et al., 2005), 銀杏の抽出成分であるEGb 761が線虫において温熱耐性や寿命延長効果を示す (Wu et al., 2003) ことが報告されている. 今後, 分子シャペロンの老化・寿命への影響がより解明され, 分子シャペロン誘導剤が無毒であることが証明することができれば, 寿命延長薬または老化抑制薬として臨床で使える可能性があり, 今後の研究に大きな期待がもたれる.

引用文献

- Bukau, B., Deuerling, E., Pfund, C. and Craig, E. A. 2000. Getting newly synthesized proteins into shape. *Cell* 101:119-122.
- Clancy, D. J., Germs, D., Harshman, L. G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leevers, S. J. and Partidge, L. 2001. Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science* 292:104-106.
- Chirico, W. J., Waters, M. G. and Blobel, G. 1988. 70K heat shock related proteins stimulate protein translocation into microsomes. *Nature* 332:805-810.
- Deshaies, R. J., Koch, B. D., Washburne, M. W., Craig, E. A. and Schekman, R. 1988. A subfamily of stress proteins facilitates translocation of secretory and mitochondrial precursor polypeptides. *Nature* 332:800-805.
- Everson, K., Huang, C., Yamben, I., Covey, D. F. and Kornfeld, K. 2005. Anticonvulsant medications extend worm life-span. *Science* 307:258-262.
- Fargnoli, J., Kunisada, T., Fornace, A. J. and Schneider, E. L. 1989. Decreased expression of heat shock protein70 mRNA and protein after heat treatment in cells of aged rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:846-850.
- Friedman, D. B. and Johnson, T. E. 1987. A mutation the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* 118:75-86.
- Gems, D. and Partridge, L. 2001. Insulin/IGF signaling and aging: seeing the bigger picture. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11:287-292.
- Gottlieb, S. and Ruvkun, G. 1994. daf-2, daf16 and daf-23: Genetically interacting genes controlling dauer formation in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 137:107-120.
- Hartl, F. U. and Hartl, M. H. 2002. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 295:1852-1858.
- Heydari, A. R., Wu, B., Takahasi, R., Strong, R. and Richardson, A. 1993. Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol. Cell. Biol.* 13:2909-2918.
- Hsu, A. L., Murphy, C. T. and Kenyon, C. 2003. Regulation of aging and age-related disease by DAF-16 and heat shock factor. *Science* 300:1142-1145.
- Jattela, M. and Wissing, D. 1993. Heat-shock proteins protect cells from monocyte cytotoxicity: possible mechanism of self-protection. *J. Exp. Med.* 177:231-236.
- Jin, X., Wang, R., Xiao, C., Cheng, L., Wang, F., Yang, L., Feng, T., Chen, M., Chen, S., Fu, X., Deng, J., Wang, R., Tang, F., Wei, Q., Tanguay, R. M. and Wu, T. 2004. Serum and lymphocyte levels of heat shock protein 70 in aging: *Cell Stress Chaperones* 9:69-75.
- Kenyon, C., Chang, J., Gensch, E., Rudner, A. and Tabtiang, R. 1993. A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 366:461-466.
- Khgazaeli, A. A., Tatar, M., Pletcher, S. D. and Curtsinger, J. W. 1997. Heat-induced longevity extension in *Drosophila*. I. Heat treatment, mortality, and thermotolerance. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 52:48-52.
- King, V. and Tower, J. 1999. Aging-specific expression of *Drosophila* hsp22. *Dev. Biol.* 207:108-118.
- Kurapati, R., Passananti, H. B., Rose, M. R. and Tower, J. 2000. Increased hsp22 RNA levels in *Drosophila* lines genetically selected for increased longevity. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 55:552-559.
- Lersen, P. L., Albert, P. S. and Riddle, D. L. 1995. Genes that regulate both development and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 139:1567-1583.
- Lithgow, G. J., White, T. M., Melov, W. S. and Johnson, T. 1995. Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7540-7544.
- Morley, J. F. and Morimoto, R.I. 2004. Regulation of longevity in *Caenorhabditis elegans* by heat shock factor and molecular chaperones. *Mol. Biol. Cell* 15:657-664.
- Morrow, G., Battistini, S., Zhang, P. and Tanguay, R. M. 2004a. Decreased lifespan in the absence

- of expression of the mitochondrial small heat shock protein Hsp22 in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.* 279:43382-43385.
- Morrow, G., Samson, M., Michaud, S. and Tanguay, R. M. 2004b. Overexpression of the small mitochondrial Hsp22 extends *Drosophila* life span and increases resistance to oxidative stress. *FASEB J.* 18:598-599.
- Ogg, S., Paradis, S., Gottfried, S., Patterson, G. I., Lee, L., Tissenbaum, H. A. and Ruckun, G. 1997. The fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in *C. elegans*. *Nature* 389:994-999.
- Ohtsuka, K., Kawasima, D., GU, Y. and Saito, K. 2005. Inducers and co-inducers of molecular chaperones. *Int. J. Hyperthermia* 21:703-711.
- Orr, W. C., Mockett, R. J., Benes, J. J. and Sohal, R. S. 2003. Effects of overexpression of copper-zinc and thioredoxin reductase genes on longevity in *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.* 278:26418-26422.
- Ritossa, F. 1962. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*. 18:571-573.
- Schlesinger, M. J. 1990. Heat shock proteins. *J. Biol. Chem.* 265. 12111-12114.
- Tatar, M., Khazaeli, A. A. and Curtsinger, J. W. 1997. Chaperoning extended life. *Nature* 390:30.
- Tatar, M., Kopelman, D., Epstein, D., Tu, M. P., Yin, C. M., and Garofalo, R. S. 2001. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 292:107-110.
- Tissieres, A., Mitchell, H. K. and Tracy, U. M. 1974. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: Relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.* 84:389-392.
- Vowels, J. J. and Thomas, J. H. 1992. Genetic analysis of chemosensory control of dauer formation in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 130:105-123.
- Walker, G. A. and Lithgow, G. J. 2003. Lifespan extension in *C. elegans* by a molecular chaperone dependent upon insulin-like signals. *Aging Cell* 2:131-139.
- Walker, G. A., Thompson, F. J., Brawley, A., Scanlon, T. and Devaney, E. 2003. Heat shock factor functions at the convergence of the stress response and developmental pathways in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.* 10:164-174.
- Wang, H. D., Esfarjani, P. K. and Benzer, S. 2004. Multiple-stress analysis for isolation of *Drosophila* longevity genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:12610-12615.
- Weindruch, R. and Walford, R. I. 1982. Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science* 215:1415-1418.
- Wheeler, J. C., Bieschke, E. T., and Tower, J. 1995. Muscle-specific expression of *Drosophila* hsp70 in response to aging and oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:10408-10412.
- Wu, Z., Smith, J. V., Paramasivam, V., Butko, P., Khan, I., Cypser, J. R., Luo, Y. 2002. Ginkgo biloba extract EGB761 increases stress resistance and extends life span of *Caenorhabditis elegans*. *Cell. Mol. Biol.* 48:725-731.
- Yokoyama, K., Fukumoto, K., Murakami, T., Harada, S., Hosono, R., Wadahwa, R., Mitsui, Y. and Ohkuma, S. 2002. Extended longevity of *Caenorhabditis elegans* by knocking in extra copies of hsp70F, a homolog of mot-2(mortalin)/mthsp70/Grp75. *FEBS Lett.* 516:53-57.
- Yu, B. P., Masoro, E. J., Murata, I., Bertand, H. A. and Lynd, F. T. 1982. Life span study of SPF Fischer 344 male rats fed ad libitum or restricted diet: longevity, growth, lean body mass and disease. *J. Gerontol.* 37:130-141.