

寿命関連遺伝子とイヌにおける寿命操作の可能性

誌名	畜産の研究 = Animal-husbandry
ISSN	00093874
著者名	菅原, 淳史 阿部, 靖之 山中, 賢一 杉村, 智史 諸白, 家奈子 紺野, 耕 吉田, 宗芳 佐藤, 英明
発行元	養賢堂
巻/号	60巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 449-452
発行年月	2006年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



寿命関連遺伝子とイヌにおける寿命操作の可能性

菅原淳史*・阿部靖之*・山中賢一*・杉村智史*・諸白家奈子*・紺野 耕**・吉田宗芳**・佐藤英明*

1. はじめに

人間がイヌの飼育を始めて15000年が経過するともいわれるが、その間に品種改良が進み、現在では500種におよぶ豊富な系統が存在し、形態的、生理的、行動的形質の表現型に非常に大きな多様性を示す。イヌは伴侶動物として、さらには盲導犬、聴導犬などの補助犬としても大きな役割を担っており、最近ではアニマルヒーリングにおいて、最も活用されている動物種の一つである。また、医学分野においては、ガン治療や老化防止などヒト疾患モデル動物として重要な動物種である。

1990年、イヌゲノムの解析が開始され、今日までに1,800個のマーカーを含むゲノム地図の作成やマッピングが進み、研究に広く利用されている¹⁾。そして、イヌのゲノム配列のヒトとの相同性は、25% (6億5,000万塩基対) 以上であることが明らかになった²⁾。さらに最近、イヌゲノムの高品質概要配列と、系統間にわたる一塩基多型 (SNPs) 高密度地図が報告された³⁾。SNP解析により、イヌゲノム全体にわたる長いハプロタイプの存在が示され、系統内および系統間の遺伝的多様性の特徴が明らかとなった。SNP地図により、ゲノム全体の関連研究から、疾患や形質の原因遺伝子の同定が可能となる。このような中で寿命に関する研究も遺伝子のレベルで検討されるようになっていく。

イヌはウシやブタなどと異なり、寿命を全うしう動物である。しかし人の寿命に比べイヌの寿命は短い。イヌを飼育すると多くの場合、愛犬の死に出会うこととなる。愛犬の死を悲しむいわゆる「ペットロス」を経験し、そのクローン作製の望んだり、寿命を長くしてほしいと望む人もい

る。このようなことから寿命関連遺伝子の情報は愛犬家には重要と思われる。そこで本稿では、これまで明らかにされた寿命に影響する遺伝子について他の生物種における研究の進展を含めて論述し、イヌにおける寿命操作の可能性について考えてみたい。

2. 下等動物における寿命研究

寿命研究が目覚ましい進歩をみせたのは、1980年代後半からであり、酵母、線虫、ショウジョウバエ等のモデル動物に関する研究が先駆けとなった。第一に線虫の長寿変異体 *age-1*, *daf-2* が発見され、これにより単一の遺伝的変化が長寿をもたらすことが示された。また、出芽酵母においては寿命決定に関わる遺伝子として、*LAG1* (Longevity Assurance Gene 1), *sir4-42* が報告された。さらにショウジョウバエでは、SOD (superoxide dismutase) 遺伝子、カタラーゼ遺伝子の導入による抗酸化能の亢進がみられ、寿命も延長された。

さらに線虫における遺伝子のクローニングの結果、寿命関連遺伝子 *age-1*, *daf-2*, *daf-16* はインスリン/インスリン様増殖因子-1 (insulin-like growth factor: IGF-1) シグナル伝達経路の構成要素であると明らかになった。そして、*sir-2* (silencing information regulator 2) は酵母・線虫に共通した寿命制御因子であることが明らかになった。以上のように、現在、モデル動物において寿命に関わる因子が同定・解析されつつある。

3. カロリー制限による延命効果

カロリー制限は老化を遅らせ、寿命を延長させる唯一の方法であるが、そのメカニズムは未だ解明されていない。カロリー制限の老化遅延・寿命延長効果は、単細胞生物から哺乳類まで幅広い生

* 東北大学大学院 農学研究科 動物生殖科学分野 (Atsushi Sugawara・Yasuyuki Abe・Ken-ichi Yamanaka・Satoshi Sugimura・Kanako Morohaku・Eimei Sato)

** 日本動物専門学院付属イヌ科動物科学研究所 (Tsutomu Konno・Muneyoshi Yoshida)

物種でみられる。酵母および線虫では、これに NAD^+ 依存脱アセチル化酵素 Sir2 が関与する⁴⁾。マウスおよびラットでも、カロリー制限によって加齢に伴う疾患の発生が遅れ、寿命の延長が確認されている⁵⁾。またアカゲザルでは、カロリー制限によって体重や脂肪量が減少し、さらに血中脂質レベル、血圧そして IGF-1 の低下が報告されている⁶⁾。これまでの研究成果から、カロリー制限によって生じる組織特異的な遺伝子発現が解析され、さらに内分泌系の変化が明らかになりつつある。

活性酸素による生体物質の損傷は老化の原因の一つである。カロリー制限は代謝活性速度を低下させ、酸化による損傷を減少させ、その結果として老化遅延・寿命延長効果を発揮する⁷⁾。 $p66^{\text{shc}}$ ノックアウトマウスは抗酸化能の亢進によって寿命が延長した好例である。 $p66^{\text{shc}}$ タンパク質は細胞増殖に関する細胞内シグナル伝達分子として機能し、酸化ストレスの応答性にも関与している。近年 $p66^{\text{shc}}$ ノックアウトマウスが作製され、寿命が3割延びたと報告されている。 $p66^{\text{shc}}$ タンパク質は DNA 損傷に対する修復を抑制しており、細胞が酸化ストレスを受けると不活性化され、抑制が解除されて修復機構が機能する。さらに損傷の程度が著しい時には、細胞のアポトーシスを誘導する。 $p66^{\text{shc}}$ ノックアウトマウスは DNA の修復機構に亢進がみられ、酸化ストレスの耐性が高まり寿命が延長した⁸⁾。

しかしながら、代謝低下による酸化的損傷の減少だけが、寿命延長をもたらす唯一のメカニズムではない。これはカロリー制限マウスにおいてインスリン感受性が亢進し、糖尿病になりにくいことから明らかである。老化とともに生体内タンパク質の糖酸化反応が進行し、損傷タンパク質が増加する。このようなことから、老化はインスリンとグルコースにより直接促進されるといえる。すなわち、カロリー制限はインスリン/IGF-1 とグルコースの血漿中レベルを低下させる。動物の成長に関わるインスリン/IGF-1 経路のシグナルが弱まると抗酸化酵素活性が高まり寿命が延びることがセンチウとショウジョウバエの実験より明らかになった^{9,10)}。また、脂肪細胞特異的インスリン受容体 (fat-specific insulin receptor: FIR)

ノックアウトマウスは、食餌摂取量は正常であるが、脂肪量の減少を示し、加齢に伴う肥満そして代謝異常を示さなかった。FIR ノックアウトマウスは、平均寿命が約 18% 増加した。すなわち、脂肪細胞におけるインスリンシグナル伝達を抑制することにより、マウスにおける延命が促進される¹¹⁾。

血中 IGF-1 値の低下の結果、炭水化物が蓄積し、成長および成熟が停止し、さらに損傷タンパク質の蓄積の減少による老化現象の出現が遅れ、飢餓状態を生き抜くことが可能になる。哺乳類における成長調節因子は成長ホルモン/IGF-1 系であり、カロリー制限で血液中の IGF-1 濃度が低下し、結果として延命に至った。

さらに *Klotho* はインスリン/IGF-1 シグナルに関わる遺伝子として老化に深く関わっている。*Klotho* の突然変異により、老化現象の促進したマウス系統が樹立されている。突然変異したマウスは、生後 3~4 週齢までは正常であるが、それ以降は肌の老化、筋肉の衰弱、骨粗鬆症、動脈硬化症、そして肺気腫等の変化を示し、生後 2 ヶ月で死亡する。マウスと同様にヒトにおいても、*Klotho* の変異は寿命、心臓動脈疾患のリスク等に関連する。

一方、*Klotho* を過剰発現するトランスジェニックマウスの系統が作出されている。それらのマウスは雌雄ともに、寿命が 20~30% 延長した。これまで線虫、ショウジョウバエ、そしてマウスの実験からインスリンあるいは IGF-1 シグナルの阻害は動物の寿命を延ばすことが明らかになってきた。この遺伝子によりコードされるタンパク質は、ホルモンのように血液により体内を循環し老化を調節する。実験の結果、*Klotho* 発現に欠陥のあるマウスは血中グルコースレベルおよび血中インスリンレベルが低下しており、インスリンの感受性が増加したことが明らかとなった。*Klotho* ペプチドはインスリンの受容体への結合を阻害するのではなく、細胞内のシグナル経路を遮断することでインスリン活性を低下させると示唆される。

インスリン/IGF-1 シグナルの阻害によって老化を抑制するメカニズムが維持され、寿命が延長する。つまり、*Klotho* ペプチドはインスリン/IGF-1 シグナルを調節し、これらのホルモンと

老化を取り次ぐペプチドホルモンであると示唆される¹²⁾。

4. 体の大きさと寿命

一般的に体の大きい動物種ほど寿命が長い傾向にある¹³⁾。しかしながら、成長ホルモン作用に欠陥がある変異マウスやラットは、野生型より小さく寿命が長い。さらにイヌにおいては、小型犬の寿命が一番長く、中型犬、大型犬の順に短くなる¹⁴⁾。イヌの大きさと血液中のIGF-1の濃度は関連性が強く、大きなイヌほどIGF-1が高濃度になる傾向がある。

*Pit 1*の先天性突然変異による下垂体ホルモン複合欠損症(*PIT 1*異常症)のモデルマウスは、下垂体の成長ホルモン、プロラクチンおよび甲状腺刺激ホルモンが産生されないことで、体の大きさが3分の1程度の矮小マウス(エイムス矮小マウス)になる。そして、エイムス矮小マウスは対照マウスよりも長寿であることが明らかになっている¹⁵⁾。一方、ウシの成長ホルモンを過剰に発現させたトランスジェニックマウスでは、体が大きくなるとともに寿命の短縮が報告された¹⁶⁾。すなわち、成長ホルモン/IGF-1系が体の大きさを支配するとともに、これらのシグナル伝達の変化により寿命の長さに負の相関を及ぼすことが示唆される。

センチュウ、イヌ、ヒト、ウマなどの哺乳類において体が小さいほど寿命が長く、また矮小マウスやカロリー制限マウスでも、体は小さく寿命が長いとともに、成長ホルモン/IGF-1活性が低下し、抗酸化酵素活性が高いことが示された¹⁷⁾。

以上から、個体の器官、組織の老化における機能低下の結果として寿命が尽きる。したがって、老化による機能低下を抑制すれば、寿命が延びることになる。老化に関わる主要な因子は活性酸素であり、この活性酸素の調節に成長ホルモン等が関与しており、体の大きさが直接老化を規定することになる。

5. 平衡器官における耳石と寿命

メダカにおいて平衡器官(半規管)の耳石欠損の突然変異個体が確認され、さらに過重力環境で飼育した個体では、耳石が不均一に発生し重力知

覚に異常がみられる。そこで、チワワからセントバーナードのような同種において非常に大きな体格差を持つイヌにおいて、重力知覚と体の大きさ、さらに寿命の長さの相互関係が示唆されることから、半規管における耳石の分布と寿命の長さとの関連性が注目されている。

突然変異体 *ha* メダカは、半規管の膜迷路の形態に顕著な異常がみられる。*ha* 変異体は、耳石の出現が正常胚に比較して遅く、出現部位も耳石器官の感覚上皮原基以外の部分である。結果として成熟した *ha* 変異体は、卵形嚢の耳石に欠損が生じる¹⁸⁾。また、メダカの卵子と成魚に対して過重力遠心機により5Gの重力を負荷し、一ヶ月間飼育すると背骨が曲がるという報告がある。この個体の屈曲部位の椎間板は潰れ、脊椎骨が融合していた。さらに卵子から5Gの過重力条件下において飼育したメダカは、耳石の石灰化が部分的に不完全であった。

耳石が欠損する突然変異体は重力感受性が低下し、通常環境では成長が抑制される可能性がある。そのような矮小個体は成長ホルモン/IGF-1系の低下から、酸化ストレスに対する耐性が向上し寿命の延長が期待される。イヌにおいて、小型犬ほど遺伝的に耳石の発達が抑制されているとすると、小型犬の寿命が長い傾向にあるのは、重力感受性の低下によって生じる成長ホルモン/IGF-1の分泌低下により、酸化ストレス耐性が向上し、その結果寿命が延長したとも推察される。

6. おわりに

以上のように寿命関連遺伝子について多くの情報が蓄積されてきているが、イヌの飼育に際しての参考になる情報も含まれる。一方、このような寿命関連遺伝子と遺伝子操作・発生工学がドッキングすることにより、イヌの寿命の操作・延長が可能になる日も来るかもしれない。

参考文献

- 1) 星野由美, 阿部靖之, 富岡郁夫, 紺野耕, 吉田宗芳, 佐藤英明. イヌにおけるゲノム研究の現状と展望. 畜産の研究, 58: 703 - 706, 2004
- 2) Kirkness, E.F., Bafna, V., Halpern, A.L., Levy, S., Remington, K., Rusch, D.B., Delcher, A.L., Pop, M., Wang,

- W., Fraser, C.M., Venter, J.C.: The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science*, 301: 1898 – 1903, 2003
- 3) Lindblad-Toh, K., Wada, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J.L., Kulbokas III, E.J., Zody, M.C., Mauceli, E., Xie, X. Breen, M., Wayne, R.K., Ostrander, E.A., Ponting, C.P., Galibert, F., Smith, D.R., deJong, P.J., Kirkness, E., Alvarez, P., Biagi, T., Brockman, W., Butler, J., Chin, C., Cook, A., Cuff, J., Daly, M.J., DeCaprio, D., Gnerre, S., Brabherr, M., Kellis, M., Kleber, M., Bardeleben, C., Goodstadt, L., Heger, A., Hite, C., Kim, L., Koepfli, K., Parker, H.G., Pollinger, J.P., Searle, S.M.J., Sutter, N.B., Thomas, R., Webber, C., Lander, E.S.: Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 438: 803 – 819, 2005
 - 4) Guarente, L., Picard, F.: Calorie restriction - the SIR2 connection. *Cell*, 120: 473 – 482, 2005
 - 5) Masoro, E.J.: Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol*, 35: 299 – 305, 2000
 - 6) Mattison, J.A., Lane, M.A., Roth, G.S., Ingram, D.K.: Calorie restriction in rhesus monkeys. *Exp Gerontol*, 38: 35 – 46, 2003
 - 7) Schriener, S.E., Linford, N.J., Martin, G.M., Treuting, P., Ogburn, C.E., Emond, M., Coskun, P.E., Ladiges, W., Wolf, N., Remmen, H.V., Wallace, D. Crabinovitch, P.S.: Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science*, 308: 1909 – 1911, 2005
 - 8) Migliaccio, E., Giorgio, M., Mele, S., Pelicci, G., Reboldi, P., Pandolfi, P.P., Lanfrancone, L., Pelicci, P.G.: The p66^{shc} adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature*, 402: 309 – 313, 1999
 - 9) Kimura, K.D., Tissenbaum, H.A., Liu, Y., Ruvkun, G.: daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 277: 942 – 946, 1997
 - 10) Clancy, D.J., Gems, D., Harshman, L.G., Oldham, S., Stocker, H., Hafen, E., Leivers, S.J., Partridge, L.: Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science*, 292: 104 – 106, 2001
 - 11) Bluher, M., Kahn, B.B., Khan, C.R.: Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science*, 299: 572 – 574, 2003
 - 12) Kurosu, H., Yamamoto, M., Clark, J.D., Pastor, J.V., Nandi, A., Gurnani, P., McGuinness, O.P., Chikuda, H., Yamaguchi, M., Kawaguchi, H., Shimomura, I., Takayama, Y., Herz, J., Kahn, C.R., Rosenblatt, K.P., Kuro-o, M.: Suppression of aging in mice by the hormone klotho. *Science*, 309: 1829 – 1833, 2005
 - 13) Calder, W.A., 3rd: Body size, mortality, and longevity. *J Theor Biol*, 102: 135 – 144, 1983
 - 14) Li, Y., Deeb, B., Pendergrass, W., Wolf, N.: Cellular proliferative capacity and life span in small and large dogs. *J Gerontol*, 51: 403 – 408, 1996
 - 15) Brown-Borg, H.M., Borg, K.E., Meliska, C.J., Barke, A.: Dwarf mice and the ageing process. *Nature*, 384: 33, 1996
 - 16) Pendergrass, W.R., Li, Y., Jiang, D., Wolf, N.S.: Decrease in cellular replicative potential in “giant” mice transfected with the bovine growth hormone gene correlates to shortened life span. *J Cell Physiol*, 156: 96 – 103, 1993
 - 17) Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M.S., Walker, D.W., Clayton, P.E., Wallace, D.C., Malfroy, B., Doctrow, S.R., Lithgow, G.J.: Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, 289: 1567 – 1569, 2000
 - 18) Mizuno, R., Ijiri, K.: Otolith formation in a mutant medaka with a deficiency in gravity-sensing. *Adv. Space Res.*, 32: 1513 – 1520, 2003
-