

分裂酵母における成長と死のトレードオフ

1. 発表者：

中岡 秀憲（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 特任助教）
若本 祐一（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 准教授）

2. 発表のポイント：

- ◆マイクロ流体デバイス（注1）を用いて分裂酵母の長期生細胞イメージングを実現し、細胞老化が起きない細胞系列があることを示した。
- ◆老化しない細胞系列であっても細胞死は確率的に生じることを確認し、さらに成長率の高い環境においては死亡率も高いという相関関係があることを明らかにした。
- ◆これまでに老化や細胞死と強く相関することが知られていた細胞質内部の蛋白質凝集体（注2）について、細胞成長や細胞死の誘導に直接影響するものではないことを示唆し、蛋白質凝集体の生理機能について再考を促す必要性を示した。

3. 発表概要：

成長と死はあらゆる種類の細胞に関わる根本的な性質です。ストレス条件下での細胞成長抑制あるいは細胞死が起きるメカニズムについてはよく研究されているものの、非ストレス環境での成長と死の関係性についてはあまり議論されてきませんでした。その一因として、非ストレス環境での死亡率が非常に低く、定量が難しいことが挙げられます。今回、東京大学大学院総合文化研究科の中岡秀憲特任助教、若本祐一准教授の研究グループは、分裂酵母を生きたまま長期的に観察できる実験系を開発し、ある特定の細胞系列においては非ストレス環境における細胞の成長率と死亡率が変わらず一定であり老化現象が見られないこと、および従来細胞老化のマーカーと考えられてきた蛋白質凝集体が細胞成長や死亡に直接影響を与えるものではないことを示しました。さらに研究グループは成長率と死亡率の間にはシンプルな正の相関（即ち生と死のトレードオフ）があることを発見しました。今後、成長と死のバランスという新たな観点が、一見複雑な細胞の生理状態をシンプルに記述する方法を提供することが期待されます。

4. 発表内容：

「成長・分裂」および「死」はあらゆる細胞に共通している根源的な性質であり、増殖率と死亡率は細胞の生理状態を評価する強力な指標です。例えばある遺伝子の欠損が細胞に与える影響を知りたいとき、あるいは抗がん剤や抗生物質等の薬剤の効能を評価したいとき、まずは標的となる細胞の増殖能や生存能を調べてみることは細胞生物学の基本です。また、ヒトから出芽酵母にいたるまで、様々な生物種が「老化」することが知られていますが、この老化現象もやはり成長・分裂能の低下と死亡率の上昇という形で定義されています。このように重要な「成長・分裂」と「死」ですが、意外なことに健康に増殖している細胞集団における成長率と死亡率の関係性は明らかになっていません。その理由の一つは、死亡率の定量が難しいことにあります。現代生物学で主に研究対象とされているモデル生物、とりわけ大腸菌や酵母のような微生物は好適な培養環境が知られているため、安定して指数関数的に増殖している細胞集団

内では死細胞はほとんど見つかりません。そのため、ある細胞の内因的死亡確率がどの程度かを精確に見積もるためには新しい観察技術が必要でした。

今回、東京大学大学院総合文化研究科の中岡秀憲特任助教、若本祐一准教授の研究グループは、分裂酵母を対象として、微細加工された樹脂で作られた極小の細胞培養装置（マイクロ流体デバイス）の中で1,000以上の多数の独立した細胞系列を長期間にわたって顕微鏡観察できる実験系を構築しました。このシステムでは、微小流路内部にトラップされた細胞がいわば「親細胞」となり、次々と子孫細胞を生み出しますが、その子孫細胞を洗い流すことができる工夫が施されています。従って、従来の実験系では子孫細胞の指数関数的増殖によって覆い隠されていた「親細胞の細胞死」と、そこに至るまでの成長・分裂および任意の細胞内部構造体や遺伝子発現ダイナミクス等の履歴を全て直接観察することが可能になりました（図1）。

本研究グループは、まず分裂酵母の典型的な培養条件の範囲内で100世代近く細胞培養を続け、その間細胞の分裂率と死亡率が極めて安定して一定であることを見出しました。これはマイクロ流体デバイスが定常的な培養環境を実現できていることの証拠であると共に、分裂酵母には細胞老化表現型を示さない細胞系列があるということを強く示唆する結果です。一般に微生物には細胞分裂によって生じる2個の細胞の大きさが異なるタイプ（非対称分裂）と同じタイプ（対称分裂）が存在することが知られていますが、非対称分裂型の種では細胞内部の老廃物やダメージを積極的に特定の細胞に偏らせることによって老化する系列と老化を免れる系列を生み出していると考えられています。一方で、本研究グループが対象とした分裂酵母は対称分裂型の種であり、このような種では老化系列を積極的に決めることはせず、ランダムにダメージを分配していることが示唆されます。

次に本研究グループはいくつかの非ストレス環境において分裂酵母の成長率と死亡率を定量し、これらの中にシンプルな正の相関関係があることを発見しました。即ち、成長率が高い環境においては、死亡のリスクも高まっているということです。本研究グループがテストした環境条件における分裂酵母の世代時間は約4時間から2時間の範囲内でしたが、死亡率はそれに対応して世代当たり0.5%から1.2%へと上昇しました。また、死亡率の上昇は成長率の上昇に対して概ね線型であることが分かりました。今回発見された成長と死のトレードオフ法則は、安定して持続的に成長する細胞の生理状態にはある種の拘束条件があることを示しています。逆にこの法則からずれるような場合には、その環境では細胞がストレスを感じているか、あるいは定常的成長状態にないことを表している可能性があります。

本研究グループはさらに、これまでに細胞老化や細胞死と関連することが報告されている細胞質内部の蛋白質凝集体のダイナミクスを定量的に測定することで、細胞死の直前に蛋白質凝集が突然加速することを見出しました。これは細胞死と蛋白質凝集の相関関係を説明するものと考えられる一方で、凝集加速反応の開始自体はその時点での凝集体量と関係なく生じることが分かりました。つまり、これまで考えられてきたような、「蛋白質凝集体量がある閾値を超えると細胞死が誘導される」という単純なモデルは成立せず、細胞死誘導のシグナルは別に存在することが示唆されます。

本研究により、様々な環境における細胞生理状態を、成長と死のバランスという新しい観点で捉えることが可能になりました。また、細胞死に至る直前には蛋白質凝集の加速のような細胞状態の急速かつ大きな変化が起きていることが明らかとなりました。これらの知見と併せて本研究の計測システムを他のモデル生物にも拡張していくことで、細胞の恒常性維持メカニズムの理解という生命科学基礎研究における大きな課題に貢献することが期待されます。

本研究の一部は日本医療研究開発機構（および文部科学省）の生命動態システム科学推進拠点事業、および日本学術振興会科学研究費助成事業の支援を受けて実施されました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「PLOS Biology」（6月20日オンライン版掲載予定）

論文タイトル：Aging, mortality, and the fast growth trade-off of *Schizosaccharomyces pombe*

著者：Hidenori Nakaoka, Yuichi Wakamoto*

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻関連基礎科学系

准教授 若本 祐一（わかもと ゆういち）

電話番号：03-5454-4326

Email: cwaka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

（注1）マイクロ流体デバイス：元々半導体の製作過程で利用されてきた技術を応用し、主に無色透明な樹脂を細胞のサイズに近いスケール（マイクロメートル：1 mm の 1,000 分の 1）で微細加工して様々な流路や空間構造を作ったものの総称。近年、生命科学や化学の分野での応用例が増えてきている。

（注2）蛋白質凝集体：蛋白質が正しく機能するためには適切な立体構造をとることが必要であるが、これが異常になった場合に非特異的に他の蛋白質分子と相互作用し、それらが細胞質内部で凝集塊を形成することがある。特にヒトではアルツハイマー病等の神経変成疾患との相関が知られているが、蛋白質凝集体が疾患の原因であるかどうかについては議論が続いている。

8. 添付資料：

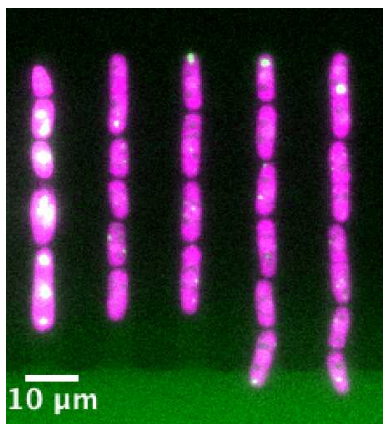


図1. マイクロ流体デバイスに導入された分裂酵母細胞および細胞質内部の蛋白質凝集体の様子

マイクロ流体デバイスにトラップした分裂酵母の蛍光顕微鏡画像。この例では5つの独立した細胞系列を示している。マゼンタは細胞質全体、緑は蛋白質凝集体由来のシグナルを表す。左端の細胞系列は細胞死直前であり、蛋白質凝集体量が増加していることが分かる。