

【総説】

食餌要因によるショウジョウバエのプリン体・尿酸増加と寿命短縮機構

大井 綾乃¹、小幡 史明^{1,2,3}

¹ 東京大学薬学部

² 理化学研究所生命機能科学研究センター

³ 京都大学大学院生命科学研究科

要約

ヒトにおけるプリン代謝の最終産物である尿酸は、体内に蓄積すると痛風や結石の原因となる。また高尿酸血症は心血管疾患やがんの発症と相関があるため、血中尿酸値の増加を防ぐことは健康寿命の延長に大きく寄与する。尿酸の増加には食事内容や腸内細菌組成といった環境要因が寄与していると考えられているが、その詳細な機構は明らかになっていない。近年、遺伝学操作や栄養操作が容易なショウジョウバエをモデルとした研究が進み、栄養や腸内細菌がプリン体・尿酸の体内量を増加させ個体寿命に影響する分子機構が明らかになってきた。本稿では、ショウジョウバエ研究によって示された体内プリン体・尿酸増加機構とそれによる寿命短縮機構について、我々の研究を含めながら概説する。

キーワード : *Drosophila melanogaster*, purine metabolism, diet, gut microbiota, lifespan

1. プリン体の合成と代謝

プリン体とはプリン骨格を持つ化合物の総称であり、核酸を構成する塩基の一部やエネルギー源として利用される ATP などにも含まれる、細胞になくなくてはならない物質である。そのため食事によって外部から取り込む以外に、グルコースからの合成や使い終わったプリン体の再利用により体内量が維持されている^[1] (図1)。一方不要になったプリン体は代謝を受けて最終的に尿酸となり、腎臓から排出される^[2] (図1)。尿酸の溶解度は6.8mg/dlであり、通常血中存在量である1.5-7mg/dlに近い^[2]。このため血中尿酸値が増加すると結晶化し、痛風や尿路結石を引き起こしてしまう。さらに、高尿酸血症は心血管疾患やがんの発症とも高い相関があることが報告されており、プリン体及び尿酸量の適切な制御は健康を維持する上で必須命題であると考えられる^[3-5]。

2. ショウジョウバエのプリン代謝と尿酸

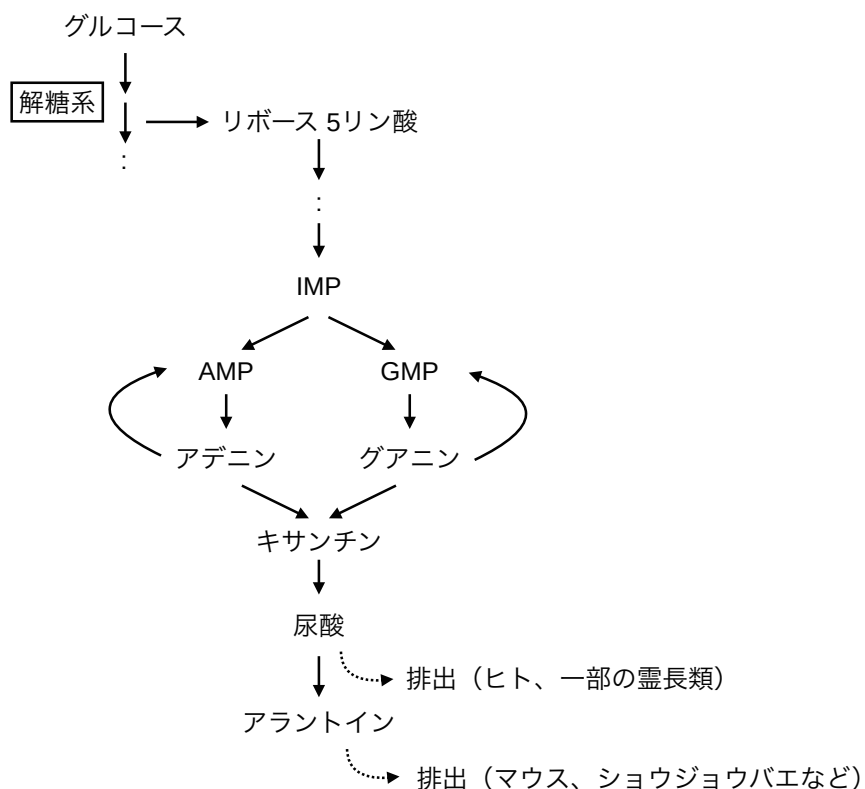
ショウジョウバエは遺伝学操作の容易さだけでなく、寿命の短さや栄養操作技術の発達により、生命現象の分子機構研究のためのモデル生物として広く用いられている。ヒトと見た目は全く異なるが、体を構成する臓器の働きは類似しており、腎尿細管に相当するマルピーギ管、腸内細菌が共生する腸、肝臓及び白色脂肪組織に相当する脂肪体などが存在する。またシグナル伝達や代謝経路を構成する遺伝子の保存性も高く、プリン代謝経路に関する多くの酵素はヒトと類似している。ただ、ショウジョウバエを含む多くの生物は尿酸をさらに酸化してより溶解度の高いアラントインにまで代謝する酵素を有しているため、プリン代謝の最終産物はアラントインであることが大きな相違点である^[6] (図1)。それにも関わらず、尿酸合成酵素の過剰発現やイオントランスポーターの発現減弱などの遺伝学操作によりショウジョウバエにも尿酸結石が形成されることがわかっており、マルピーギ管に生成する尿酸結晶は腎結石モデルとして利用されてきた^[7,8]。モデルとして有用であるという利点からか、なぜアラントインへの変換酵素を持つショウジョウバエに尿酸結晶が析出してしまうかについてはこれまで深く研究されてこなかった。筆者らは尿酸とアラント

連絡先 : 小幡 史明

〒 650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2-3

TEL : 078-306-3347

E-mail : fumiaki.obata@riken.jp



プリン合成

プリン代謝

図 1. プリン合成、代謝経路

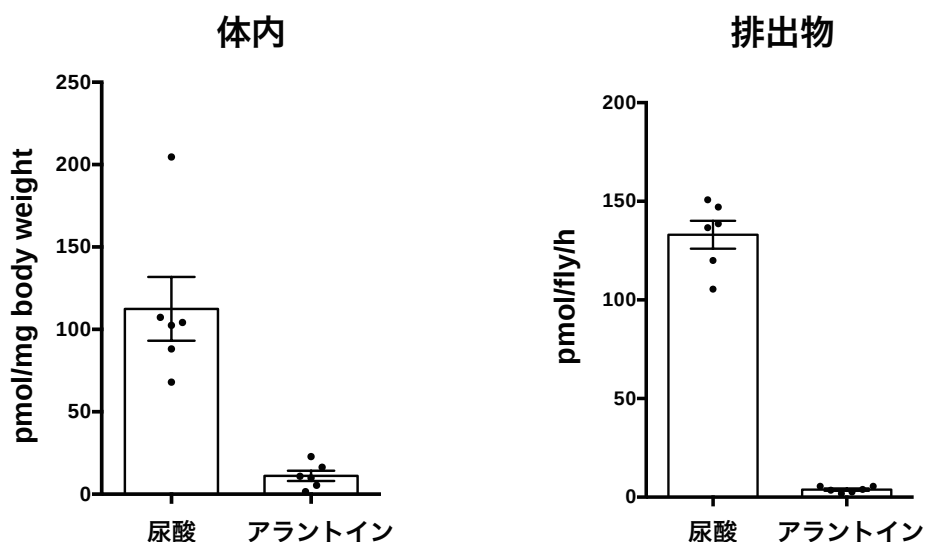


図 2. ショウジョウバエの体内、排出物中のプリン代謝物量

LC-MS/MS による代謝物測定結果。ショウジョウバエ 1 週齢のオスの体内と排出物中の尿酸、アラントイン量。n=6。
Yamauchi et al., iScience, 2020 より改変。

インの体内存在量を定量するため、独自に考案したショウジョウバエの排出物の回収手法を用い、排出物中と体内のメタボローム解析を行った^[9]。すると意外なことに、実際にはプリン代謝物のほとんどが尿酸の形で存在しており、アラントインに対する尿酸の存在量は体内では約 10 倍、排出物中では約 30 倍であることがわかった (図

2)。またプリン体を多く含むエサを摂取させると、短期的にはまずアラントインの増加が起き、その後に尿酸も増加し始めることを発見した。このことから体内プリン量の増加に応じてアラントインへの変換が起き、アラントインへの変換で対応できないほど体内プリン体が増加すると尿酸が増加して結石につながると考えられた。

従ってショウジョウバエは、過剰量のプリン体によって尿酸結石が生成するモデルとして有用であり、また体内プリン体量の指標としてアラントインが利用できることもわかった。

3. タンパク質の過剰摂取による尿酸増加機構

タンパク質摂取に応じて、ショウジョウバエの体内ではインスリンシグナル経路が活性化する^[10]。ショウジョウバエのインスリン様ペプチドはヒトにおけるインスリン、IGF1の機能を合わせ持ち、シグナル経路の下流でAktのリン酸化や転写因子FoxOの不活性化を通じて、血糖調節や細胞増殖などを制御する^[10-12]。インスリンシグナル経路を担う遺伝子は幅広い生物種間で保存されており、タンパク質の摂取制限によりこの経路が抑制されることで寿命が延長することは古くから多くの生物で明らかになっていたが^[13]、過剰なタンパク質摂取下での寿命短縮機構については不明な点が多かった。Langらのグループは、タンパク質過剰摂取時の寿命短縮が、尿酸結石の増加によって起こる可能性を報告した^[14]。彼らは尿酸の蓄積を促進するため、尿酸からアラントインへの変換酵素を欠失させた「ヒト化」ショウジョウバエを用いて解析を行っている。この系統のハエに高タンパク質食を摂取させるとマルピーギ管に尿酸結晶が析出して寿命が短縮する。この機構に関して、インスリンシグナル経路の活性化によるFoxOの不活性化が尿酸の増加を引き起こし、マルピーギ管での尿酸結晶生成を促進して寿命を短縮させることを報告した。更なる解析の結果、FoxOの不活性化が引き起こすNADPH オキシダーゼ (NOX) の発現増加とそれによる活性酸素種 (ROS) の産生が尿酸増加の原因となることが示された。我々の研究から、野生型ハエにおいても、高タンパク質食摂取下で尿酸とその酸化物のアラントイン両方の増加が見られることを確認している^[9]。

Langらはヒトの場合でも、インスリンシグナル経路によって活性化するAkt2と不活性化されるFoxO3の

1塩基多型 (SNP) がそれぞれ痛風と血清尿酸値に相関があることを見出している^[14]。2012年にもインスリンシグナル経路の下流で誘導されるIGF1R遺伝子のSNPと高尿酸血症との相関関係が報告されており^[15]、インスリンシグナルの活性化が尿酸増加を引き起こすことは進化的に保存された現象であると考えられる。しかしROSが尿酸を増加させる機構の詳細は不明であり、その解明が今後の課題である。

4. 糖分の過剰摂取による尿酸増加機構

糖分、特に果糖の摂取と高尿酸血症には相関関係があることは古くから知られており、その原因にはプリン体の原料であるグルコースの増加、高血糖に伴う体内水分量の減少などが考えられている^[16-19]。また糖分の多い食事は糖尿病を引き起こし、個体老化を促進する原因となる。しかし過度な糖分摂取による尿酸値の上昇、糖尿病の諸症状、寿命短縮についての因果関係は示されていない。ショウジョウバエにおいても、高糖質食の摂取によって体重の増加や体液中糖濃度の増加、インスリン抵抗性といった糖尿病様症状を呈し、寿命が短縮する^[20-22]。van Damらはショウジョウバエの糖尿病モデルを用いて、寿命短縮の原因となる症状が、糖による間接的な水分量減少が引き起こすものであるか糖が直接引き起こすものであるかを特定しようとした。その方法として、ショウジョウバエに高糖質食と同時に水分を摂取させ、それにより回復する症状としない症状を詳細に解析した^[23]。その結果、水分摂取によって回復する表現型は寿命の短縮と尿酸結晶の増加のみであり、脂肪の増加や体液中糖濃度の増加は変化しなかった (図3)。驚くべきことに、糖尿病による寿命低下の原因は脂肪の増加やインスリン抵抗性とは無関係であり、腎組織での尿酸結石が多くを占めていることが示されたのである。この論文では尿酸の測定にとどまっておらずアラントインは測定されていないが、我々は高糖質食摂取個体の尿酸、アラントインがともに増加することを確認している^[9]。

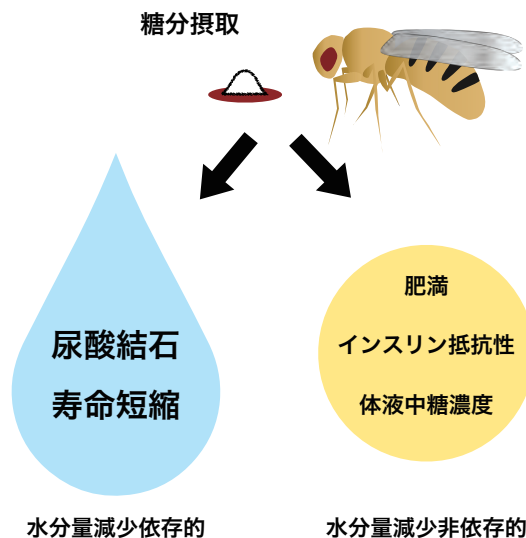


図3. 糖分の過剰摂取が引き起こす症状の体内水分量依存性

以上より、高糖質食による水分量低下がもたらすプリン代謝物増加が寿命短縮に大きく寄与していることが明らかになった。生物にとって水分量を一定に保つことは重要である。ショウジョウバエでは乾燥状態におくことでマルピーギ管において免疫が活性化しやすくなるといった変化が起きることがわかっている^[24]。高糖質食による水分不足が引き起こす尿酸の増加には単なる溶媒の不足だけではなく、免疫や代謝の変化が関与している可能性も考えられる。

5. 腸内細菌によるアラントイン増加機構

食事だけではなく、食事によって形成される腸内細菌もプリン代謝物に寄与していることが明らかになった。ショウジョウバエの腸内細菌は主要なものに絞ると数種類しかなく、数百種類もの腸内細菌を持つヒトに比べて単純であるため、解析が行いやすい^[25]。腸内細菌はその細胞壁成分によって宿主の免疫反応を誘導する。特に老化に伴って腸のバリア機能が低下するとその成分が血中に流入し、全身で慢性的な炎症を引き起こすことは哺乳類からショウジョウバエにまで共通する現象である^[26, 27]。ショウジョウバエでは腸内細菌に応答して活性化される自然免疫経路である哺乳類のTNF経路に相当するImd経路が知られる(図4)^[28]。Imd経路は、全身や各臓器で活性化し炎症状態を引き起こすことで寿命短縮に寄与することが多数報告されている^[29-31]。しかし、炎症がプリン体・尿酸に与える影響については今まで明らかになっていなかった。筆者らは、老化に伴って起きる慢性的な炎症がアラントインを増加させることを報告した^[9]。我々はまず老化に伴う代謝物量の変化に着目し、若齢個体と老化個体のメタボロームを比較したところ、老化に伴いアラントインが増加することを発見し

た。この現象は腸内細菌の非存在下では起こらず、腸内細菌に応答して宿主で起きるImd経路の活性化が原因であった。興味深いことに、臓器特異的な遺伝学操作から、マルピーギ管のみでのImd経路活性化でアラントインの増加と寿命の短縮が確認された(図4)。ショウジョウバエの老化や感染時に主に免疫が活性化する場合は脂肪体や腸であることが知られていたため、この発見によりマルピーギ管での免疫活性化が個体に与える影響の大きさが浮かび上がってきた。我々の研究では結晶化を定量していないが、Imd経路活性化により尿酸が増加するため、尿酸結晶の増加が寿命の短縮につながっている可能性が高いと考えられる。また、炎症がプリン体量を増加させる理由についてはさらなる解析が必要であるが、少なくとも尿酸合成経路の遺伝子発現やアラントインの排出量には変化がないことを確認している。de novo経路によるプリン合成の亢進や、炎症が引き起こす細胞死^[32]により放出される核酸が、プリン体量増加の原因として考えられる。実際にがん細胞を大量に死滅させる抗がん剤の副作用には、死んだ細胞由来の核酸によって尿酸値が増加する腫瘍崩壊症候群がある^[33]。また、炎症の際にROSが放出されることを考えると、タンパク質過剰摂取時と同様にROSによるプリン体増加が起きている可能性もある。

6. 終わりに

ショウジョウバエを用いた研究により、尿酸をはじめとしたプリン代謝物の増加要因とそのメカニズムが明らかになってきた。しかし、具体的に食事や炎症がプリン代謝や排出の経路にどのように関わるのかについてはまだ全て明らかになっていないため、更なる研究が必要である。また、プリン代謝物の増加が単なる結果なのか、

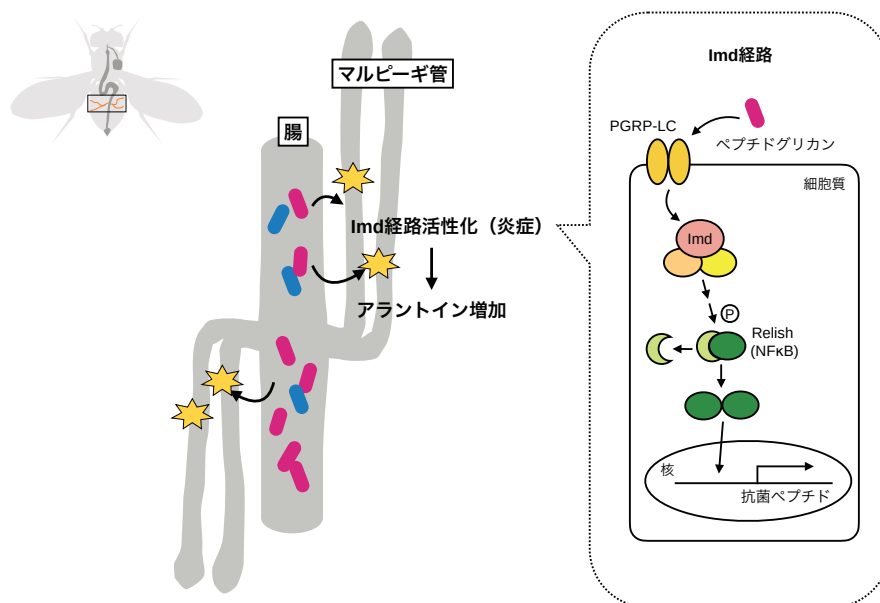


図4. 腸内細菌によるアラントイン増加機構

環境への適応反応なのかということも興味深い。尿酸は血中に蓄積すると有害だが、抗酸化作用を持つ生体に必要な物質であり、ヒトが進化の過程で尿酸酸化酵素（アラントイン合成酵素）の機能を失ったことのメリットだと言われている^[34, 35]。これを考えると、インスリンシグナルの活性化や炎症によるROSへの応答として尿酸の合成を促進している可能性もある。今後は食餌環境への個体応答機構や寿命制御機構の更なる解明のため、ショウジョウバエの遺伝学を生かした研究の進展が期待される。

参考文献

- Villa E, Ali ES, Sahu U, et al. Cancer Cells Tune the Signaling Pathways to Empower de Novo Synthesis of Nucleotides. *Cancers (Basel)* 11(5):688, 2019
- Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol* 213:8-14, 2016
- Wu J, Qiu L, Cheng XQ, et al. Hyperuricemia and clustering of cardiovascular risk factors in the Chinese adult population. *Sci Rep* 7(1):5456, 2017
- Xie Y, Xu P, Liu K, et al. Hyperuricemia and gout are associated with cancer incidence and mortality: A meta-analysis based on cohort studies. *J Cell Physiol* 234(8):14364-14376, 2019
- Otaki Y, Watanabe T, Konta T, et al. Impact of hyperuricemia on mortality related to aortic diseases: a 3.8-year nationwide community-based cohort study. *Sci Rep* 10(1):14281, 2020
- Watanabe S, Kang DH, Feng L, et al. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension* 40(3):355-360, 2002
- Chi T, Kim MS, Lang S, et al. A *Drosophila* model identifies a critical role for zinc in mineralization for kidney stone disease. *PLoS One* 10(5):e0124150, 2015
- Ghimire S, Terhzaz S, Cabrero P, et al. Targeted renal knockdown of Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor Sip1 produces uric acid nephrolithiasis in *Drosophila*. *Am J Physiol Renal Physiol* 317(4):F930-F940, 2019
- Yamauchi T, Oi A, Kosakamoto H, et al. Gut Bacterial Species Distinctively Impact Host Purine Metabolites during Aging in *Drosophila*. *iScience* 23(9):101477, 2020
- Britton JS, Lockwood WK, Li L, et al. *Drosophila*'s insulin/PI3-kinase pathway coordinates cellular metabolism with nutritional conditions. *Dev Cell* 2(2):239-249, 2002
- Brogiolo W, Stocker H, Ikeya T, et al. An evolutionarily conserved function of the *Drosophila* insulin receptor and insulin-like peptides in growth control. *Curr Biol* 11(4):213-221, 2001
- Martins R, Lithgow GJ, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity. *Aging Cell* 15(2):196-207, 2016
- Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Science* 328(5976):321-326, 2010
- Lang S, Hilsabeck TA, Wilson KA, et al. A conserved role of the insulin-like signaling pathway in diet-dependent uric acid pathologies in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet* 15(8):e1008318, 2019
- Köttgen A, Albrecht E, Teumer A, et al. Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations. *Nat Genet* 45(2):145-154, 2013
- Perheentupa J, Raivio K. Fructose-induced hyperuricaemia. *Lancet* ;2(7515):528-531, 1967
- Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Lillo JL, et al. Fructose increases risk for kidney stones: potential role in metabolic syndrome and heat stress. *BMC Nephrol* 19(1):315, 2018
- aylor EN, Curhan GC. Fructose consumption and the risk of kidney stones. *Kidney Int* 73(2):207-212, 2008
- Moe OW. Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* 367(9507):333-344, 2006
- Musselman LP, Fink JL, Narzinski K, et al. A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis Model Mech* 4(6):842-849, 2011
- Morris SN, Coogan C, Chamseddin K, et al. Development of diet-induced insulin resistance in adult *Drosophila melanogaster*. *Biochim Biophys Acta* 1822(8):1230-1237, 2012
- Na J, Musselman LP, Pendse J, et al. A *Drosophila* model of high sugar diet-induced cardiomyopathy. *PLoS Genet* 9(1): e1003175, 2013
- van Dam E, van Leeuwen LAG, Dos Santos E, et al. Sugar-Induced Obesity and Insulin Resistance Are Uncoupled from Shortened Survival in *Drosophila*. *Cell Metab* 31(4):710-725.e7, 2020
- Zheng W, Rus F, Hernandez A, et al. Dehydration triggers ecdysone-mediated recognition-protein priming and elevated anti-bacterial immune responses in *Drosophila* Malpighian tubule renal cells. *BMC Biol* 16(1):60, 2018
- Ludington WB, Ja WW. *Drosophila* as a model for the gut microbiome. *PLoS Pathog* 16(4):e1008398, 2020
- Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, et al. Age-Associated Microbial Dysbiosis Promotes

- Intestinal Permeability, Systemic Inflammation, and Macrophage Dysfunction. *Cell Host Microbe* 21(4):455-466.e4, 2017
27. Clark RI, Salazar A, Yamada R, et al. Distinct Shifts in Microbiota Composition during *Drosophila* Aging Impair Intestinal Function and Drive Mortality. *Cell Rep* 12(10):1656-1667, 2015
 28. Hoffmann JA. The immune response of *Drosophila*. *Nature* 426(6962):33-38, 2003
 29. Paredes JC, Welchman DP, Poidevin M, et al. Negative regulation by amidase PGRPs shapes the *Drosophila* antibacterial response and protects the fly from innocuous infection. *Immunity* 35(5):770-779, 2011
 30. Kounatidis I, Chtarbanova S, Cao Y, et al. NF- κ B Immunity in the Brain Determines Fly Lifespan in Healthy Aging and Age-Related Neurodegeneration. *Cell Rep* 19(4):836-848, 2017
 31. Kosakamoto H, Yamauchi T, Akuzawa-Tokita Y, et al. Local Necrotic Cells Trigger Systemic Immune Activation via Gut Microbiome Dysbiosis in *Drosophila*. *Cell Rep* 32(3):107938, 2020
 32. Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. *Immunity* 50(6):1352-1364, 2019
 33. Howard SC, Jones DP, Pui CH. The tumor lysis syndrome. *N Engl J Med* 364(19):1844-1854, 2011
 34. Liu D, Yun Y, Yang D, et al. What Is the Biological Function of Uric Acid? An Antioxidant for Neural Protection or a Biomarker for Cell Death. *Dis Markers* 2019:4081962, 2019
 35. Álvarez-Lario B, Macarrón-Vicente J. Uric acid and evolution. *Rheumatology (Oxford)* 49(11):2010-2015, 2010

Studying uric acid/purine metabolites and lifespan regulated by dietary factors in *Drosophila melanogaster*

Ayano Oi¹, Fumiaki Obata^{1,2,3}

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo

² RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research

³ Graduate School of Biostudies, Kyoto University

Abstract

Uric acid, an end product of purine metabolism, is a cause of gout and kidney stone. Hyperuricemia also induces cardiovascular disease and cancer, thus it is important to prevent it to extend healthspan. Although it is widely accepted that environmental factors including nutrition and gut microbiota are related to serum uric acid levels, the detailed mechanism is not clarified. *Drosophila melanogaster* is a good model organism because of its accessibility to genetic and nutritional tools. Using *Drosophila*, we and other researchers have found that nutrition and microbiota contribute to the increase of purine metabolites and shorten organismal lifespan. Here, we describe the recent knowledges about its mechanism.

Keywords : *Drosophila melanogaster*, purine metabolism, diet, gut microbiota, lifespan