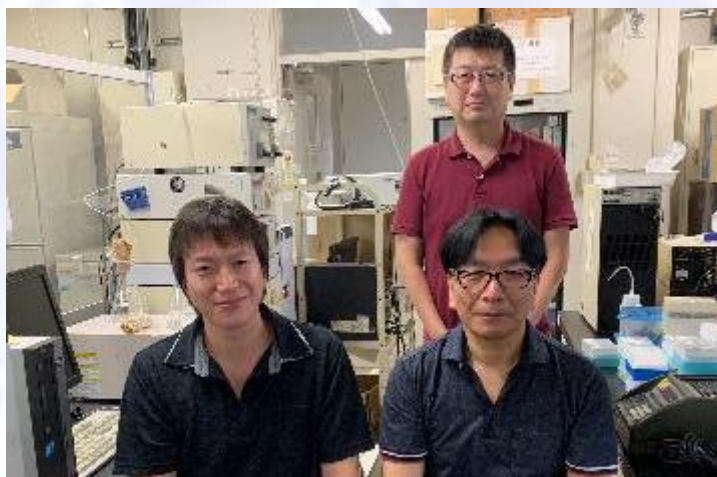


# 高齢者で急増するビタミンB<sub>12</sub>欠乏症の 発症機構の解明



## 『ビタミン×機能』 チーム

### ●プロジェクトメンバー (グループリーダー)

農学部 生命環境農学科  
助教 美藤 友博  
農学部 生命環境農学科  
教授 渡邊 文雄  
農学部 生命環境農学科  
准教授 藪田 行哲

## 研究概要

### 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いたビタミンB<sub>12</sub>欠乏症の発症機構の解析

ビタミンB<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) は13種のビタミンの内、植物 (野菜) に含まれていないビタミンです。B<sub>12</sub>欠乏症は、厳格な菜食主義者での罹患率が高いことは知られていますが、近年、胃の機能が低下した高齢者においてB<sub>12</sub>欠乏症の発症が急増しています。B<sub>12</sub>欠乏症は神経障害、運動機能障害や認知機能障害を発症させ、老後のQOLを著しく低下させることが知られています。しかし、B<sub>12</sub>欠乏症の発症機構には未解明な点が多く、B<sub>12</sub>欠乏症の予防法や新しい治療法の開発のためにも、研究の推進が急務であります。

我々は、モデル生物である線虫 (*C. elegans*) が哺乳動物同様に通常生育にB<sub>12</sub>を要求することを実証し、線虫をB<sub>12</sub>欠乏モデルとして利用できることを明らかにしました。特に哺乳動物では評価が困難であった認知機能や寿命に焦点を当て、B<sub>12</sub>欠乏が認知機能や寿命に及ぼす影響を中心に研究を推進させています。また、最近ではB<sub>12</sub>と筋肉や脂質代謝に関連性があるのかどうか検討しています。



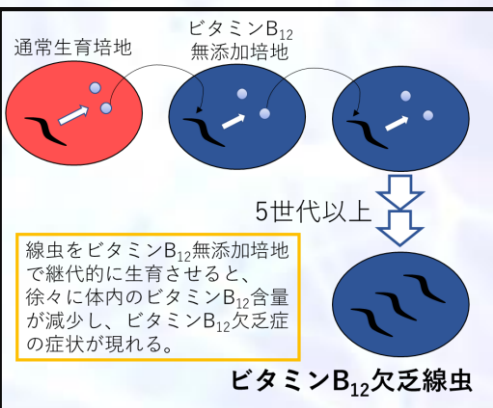
線虫 (*C. elegans*) の顕微鏡写真。  
体長は約1 mmととても小さい。

## アピールポイント

線虫といえば、すべての遺伝子が解析されているモデル生物で様々な遺伝子を破壊した線虫が比較的容易に入手できます。さらに、遺伝子破壊線虫を用いて研究を進めることで特定の遺伝子の機能やその遺伝子と各種栄養素の関連性も解ります。また、B<sub>12</sub>の吸収や代謝に関わる遺伝子を破壊した線虫をB<sub>12</sub>欠乏様モデルとして活用できるかもしれません。しかし、遺伝子破壊線虫を用いた研究では先天性のB<sub>12</sub>欠乏症の結果を示すこととなります。

我々の研究グループでは後天的なB<sub>12</sub>欠乏症を表現するために、線虫を生育させる培地や食餌からB<sub>12</sub>を極力取り除き、栄養学的手法でB<sub>12</sub>欠乏線虫を調製しています (文献 (1))。この手法で調製されたB<sub>12</sub>欠乏線虫は、我々の普段の生活で発症しうるB<sub>12</sub>欠乏症を未病の段階から重度の段階まで再現することができ、より詳細なデータが得られます。

また、線虫は様々な研究分野でモデル生物として用いられますが、ヒトと全く同じ体制を持つわけではないので、研究に使える部分・使えない部分を整理して研究を進めていく必要があります (文献 (2))。



ビタミンB<sub>12</sub>欠乏線虫の調製について。

- (1) Tomohiro Bito, Yohei Matsunaga, Yukinori Yabuta, Tsuyoshi Kawano, Fumio Watanabe. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in *Caenorhabditis elegans* results in loss of fertility, extended life cycle, and reduced lifespan. FEBS Open Bio, 3, 1, 112-117, 2013. 10.1016/j.fob.2013.01.008
- (2) Tomohiro Bito, Fumio Watanabe. Biochemistry, function, and deficiency of vitamin B<sub>12</sub> in *Caenorhabditis elegans*. Experimental Biology and Medicine, 241, 15, 1663-1668, 2016. 10.1177/1535370216662713



## 具体的な取り組みの紹介

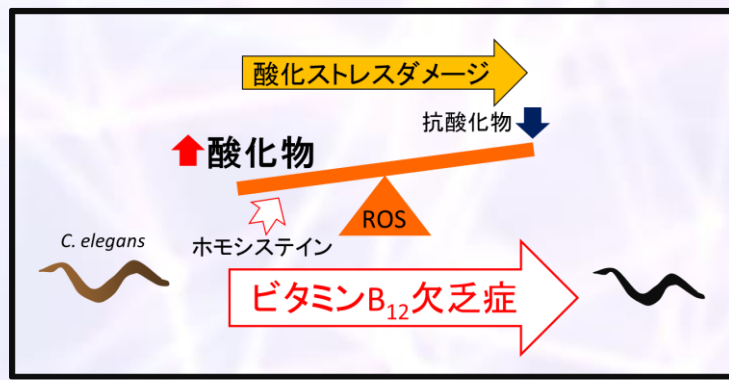
### B<sub>12</sub>欠乏症と酸化ストレス障害

酸化ストレスは、加齢や様々な疾病の引き金・原因となることが良く知られています。近年、B<sub>12</sub>欠乏症が著しい酸化ストレス障害を誘発すること、またその酸化ストレス障害の発症機構の一端を明らかにしました(文献(3))。

まずは、B<sub>12</sub>欠乏線虫ではB<sub>12</sub>供給線虫(コントロール)と比較し、過酸化水素をはじめとする活性酸素種(酸化ストレス)が著しく蓄積しているのを見出しました。なぜ、B<sub>12</sub>欠乏で異常なほど酸化ストレスが蓄積するのか検討したところ、2つの原因が存在することが分かりました。1つ目は、B<sub>12</sub>欠乏で蓄積するホモシステイン(異常な代謝物)が強力な酸化ストレスの原因となるスーパーオキシ

ドラジカルを発生させる原因になること、2つ目は異常なほど蓄積した酸化ストレスで抗酸化酵素活性の減少や抗酸化物質の減少による体内抗酸化システムの破綻が生じていることです。これらの原因は抗酸化物質を供給することで部分的に解消できることを実証しましたが、B<sub>12</sub>欠乏時の積極的な抗酸化物質の摂取は、B<sub>12</sub>欠乏症の症状の一部を覆い隠し、診断・治療を遅らせる懸念も同時に考えられます。

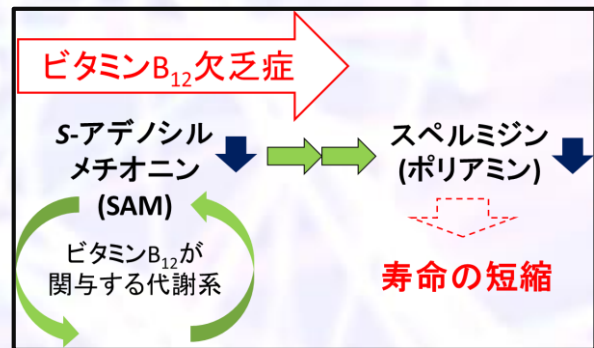
また、餌とNaClの関連付け(連合学習)実験を実施したところ、B<sub>12</sub>欠乏線虫では学習能力ではなく、記憶の保持能が著しく低下することが明らかになりました。この原因としてもB<sub>12</sub>欠乏症が誘発する著しい酸化ストレス障害が一端を担っていることを明らかにしました。



ビタミンB<sub>12</sub>欠乏による酸化ストレス障害の発症機構。活性酸素種などの酸化ストレスが異常に蓄積し、生体内の抗酸化物質が消費されてしまうことで、体内レドックスバランスが崩壊すると考えられる。

### B<sub>12</sub>欠乏症と寿命

B<sub>12</sub>欠乏線虫では、コントロールとなるB<sub>12</sub>供給線虫よりも顕著に寿命が短いことが確認された。その要因を探るべく、B<sub>12</sub>が関与するアミノ酸代謝を含む様々な代謝異常症に焦点を当てました(文献(4))。B<sub>12</sub>欠乏線虫の体内アミノ酸を含めて種々の代謝物を分析したところ、オルニチンとスペルミジンの代謝異常が示されました。スペルミジンは細胞内で様々な機能を示すポリアミンの1つであります。さらにこのポリアミンはオルニチンから合成されるため、それらの関連性を解析しました。その結果、B<sub>12</sub>欠乏症ではポリアミンの生合成に必須な代謝物(S-アデノシルメチオニン)が著しく減少していることが、ポリアミン代謝異常の主要因であることが分かりました。また、B<sub>12</sub>欠乏線虫にスペルミジンを提供すると、寿命の部分的な回復を示したことから、B<sub>12</sub>欠乏線虫の寿命の短縮は、ポリアミン代謝異常を含め、酸化ストレス障害など様々な要因が複合的に絡んでいると考えています。



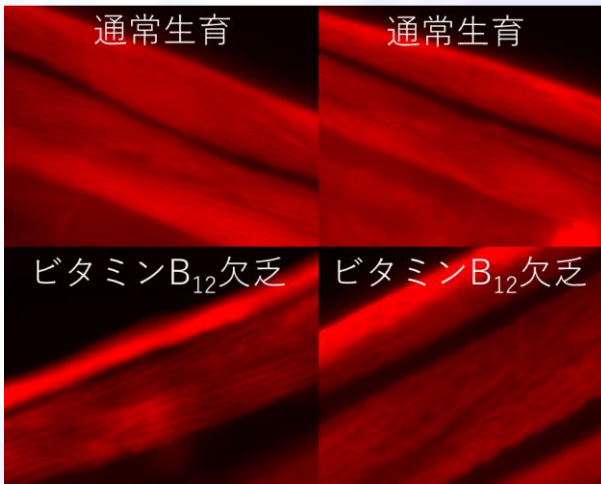
ビタミンB<sub>12</sub>欠乏による寿命短縮の機構。ビタミンB<sub>12</sub>欠乏症では、S-アデノシルメチオニンが減少することで、ポリアミンの合成が低下し、部分的に寿命が短縮していると考えられる。

### これからの課題

哺乳動物では検討・評価が困難な研究課題もあるが、線虫を用いることで研究を推進させることができる部分があることが、これまでの研究で分かってきました。現在は線虫を実験モデルとし、B<sub>12</sub>の新機能の探索を中心に研究を推進させています。例として、高齢者で多発する加齢性筋委縮症(サルコペニア)とB<sub>12</sub>欠乏症の関連性についてはこれまでに報告がありませんが、B<sub>12</sub>欠乏線虫では筋組織の破綻が見受けられます。今のところ、原因はB<sub>12</sub>欠乏で誘発される酸化ストレス障害なのかその他の代謝異常症なのか分かりませんが、健康寿命の延伸を目的に研究を進めていきたいと考えています。

線虫の筋組織の蛍光写真。

ビタミンB<sub>12</sub>欠乏線虫の筋組織は筋繊維が歪んでいたりと、筋繊維と筋繊維の隙間が広がっているように見える。



(3) [Tomohiro Bito](#), Taihei Misaki, Yukinori Yabuta, Takahiro Ishikawa, Tsuyoshi Kawano, Fumio Watanabe. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency results in severe oxidative stress, leading to memory retention impairment in *Caenorhabditis elegans*. *Redox Biology*, 11, 21-29, 2017. 10.1016/j.redox.2016.10.013

(4) [Tomohiro Bito](#), Naho Okamoto, Kenji Otsuka, Yukinori Yabuta, Jiro Arima, Tsuyoshi Kawano, Fumio Watanabe. Involvement of spermidine in the reduced lifespan of *Caenorhabditis elegans* during vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Metabolites*, 9, 9, 192, 2019. 10.3390/metabo9090192