

## 第36回 日本基礎老化学会シンポジウム

### 日本基礎老化学会－日本ミトコンドリア学会 Joint Meeting －ミトコンドリアと老化の接点を考える－

【日時】平成26年10月25日(土) 13時～17時10分

【会場】東海大学 高輪キャンパス 2号館講堂

日本基礎老化学会初の試みとして、日本ミトコンドリア学会とのJoint Meetingとして開催することになりました。老化研究の全体像を把握していただくために、最初に基礎老化学会の重鎮である三井洋司先生にOverviewをお願いしています。基礎老化学会側から石井恭正先生、樋上賀一先生、ミトコンドリア学会側から柳茂先生、太田成男先生、松田憲之先生と、今活躍されている先生方に講演をお願いしています。ミトコンドリアの機能が老化に深く関係していることはすでに明白になってはいますが、詳細はまだ明らかになっていません。さらに研究を発展させるためには2つの学会の交流が必要と感じ、今回の企画を考えました。ミトコンドリアと老化の接点を知る絶好の機会だと思いますので、多くの方に参加していただきたいと思います。

参加費：無料

懇親会：シンポジウム終了後に高輪キャンパス内食堂にて懇親会を開催します。

会費 3,000円 必ず事前登録をお願いします。

参加登録：シンポジウム・懇親会にご参加いただくには事前登録をお願い致します。必要事項を明記の上、事務局の辛島由希子(yukikokarashima@tokai-u.jp)までご連絡ください。

必要事項 (件名に基礎老化学会シンポジウム、氏名、所属機関、電話番号、メールアドレス、日本基礎老化学会・日本ミトコンドリア学会会員の方は会員であることを明示してください)

#### 会場へのアクセス

品川駅の高輪口を出て第一京浜国道を横断し左手に進み、レストラン「つばめグリル」の前から、高輪ルートの「ちいばす」が約20分おきに出ています(料金100円)。

降車は「高輪小学校前」、乗車は高輪キャンパス前の「高輪2丁目」が便利です。「高輪小学校前」から進行方向に100mくらい進むと高輪キャンパスの門があります。「高輪2丁目」は付属高輪台高校の前で下車になるので、道を戻ります。詳しくは「ちいばす」の高輪ルートで検索してください。

<http://www.fujiky.co.jp/express/community/map/takanawa.html>

世話人：〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

石井直明

電話：0463-93-1121 内線2651 E-mail: nishii@is.icc.u-tokai.ac.jp



高輪  
キャンパス

アクセスマップ

Access Map



### 東海大学高輪キャンパスへの交通アクセス詳細

JR・京浜急行「品川駅」下車、高輪口より徒歩約18分（改札より右方向（田町方面）に進み、「高輪2丁目」交差点を左折）。

JR・京浜急行「品川駅」下車、高輪口より都バス「目黒駅行」に乗り「高輪警察署前」下車、徒歩約3分。

東京メトロ南北線・都営地下鉄三田線「白金高輪駅」下車、出口1から左に進み、徒歩約8分。

都営地下鉄浅草線「泉岳寺駅」下車、A2出口より徒歩約10分。



高輪  
キャンパス

校舎内マップ

Campus Map



13:00～13:10

「はじめに」

石井 直明（東海大学・医学部・基礎医学系・分子生命科学）

座長：石神 昭人（東京都健康長寿医療センター研究所・老化制御研究チーム）

13:10～13:45（発表25分、質疑10分）

「老化研究におけるMtの接点と離点：老学徒からの新視点」

三井 洋司、高橋 知子（国際科学振興財団・バイオ研究所、徳島文理大学・香川薬学部）

13:45～14:20（発表25分、質疑10分）

「ミトコンドリアユビキチンリガーゼ MITOL による老化制御機構」

柳 茂、徳山 剛志、武田 啓佑、稲留 涼子、長島 駿（東京薬科大学・生命科学部・分子生化学研究室）

14:20～14:55（発表25分、質疑10分）

「ミトコンドリア複合体II電子伝達異常に起因する酸化ストレスと生体の加齢変容」

石井 恭正<sup>1</sup>、宮沢 正樹<sup>1</sup>、安田 佳代<sup>1,2</sup>、石井 直明<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>東海大学・医学部・分子生命科学、<sup>2</sup>東海大学・生命科学統合支援センター）

14:55～15:15 休憩

座長：清水 孝彦（千葉大学大学院医学研究院・先進加齢医学）

15:15～15:50（発表25分、質疑10分）

「ミトコンドリア活性酸素の実時間計測、酸化ストレス亢進マウスの作製、新概念の抗酸化物質としての水素」

太田 成男、上村 尚美、Alexander M. Wolf、井内 勝哉、西槇 貴代美、一宮 治美、横田 隆、  
中嶋 裕也

（日本医科大学大学院・加齢科学専攻・細胞生物学分野）

15:50～16:25（発表25分、質疑10分）

「カロリー制限におけるSrebp1cを介した*de novo*脂肪酸合成とミトコンドリアバイオジェネシス、酸化ストレスの関連」

沖田 直之、成田 匠、藤井 波木、須藤 結香、樋上 賀一

（東京理科大学・薬学部・生命創薬科学科・分子病理代謝学研究室）

16:25～17:00（発表25分、質疑10分）

「膜電位を指標に用いるミトコンドリアの品質管理とパーキンソン病」

松田 憲之（公益財団法人 東京都医学総合研究所・蛋白質リサイクルプロジェクト）

17:00～17:10

「終わりに」

遠藤 玉夫（東京都健康長寿医療センター研究所 副所長）

# 老化研究における Mt の接点と離点： 老学徒からの新視点

三井 洋司、高橋 知子

国際科学振興財団・バイオ研究所、徳島文理大学・香川薬学部

基礎老化研究では、多様な生物モデルを用いて、各々の老化・寿命のメカニズムを解明しつつ、進化上の起源や生物間に共通する概念や機構の仮説を検証し、介入方法を検討する。更にヒト特異な老化・寿命を把握し、その制御可能性を提示するものと、考える。

しかし現代の風潮は、病的老化を意識し、健康寿命の延長を目指す実利的な研究が推奨され、それに基礎研究者も靡く傾向だ。

老化とミトコンドリアとの接点は、1) 加齢と共に Mt の機能が衰退する 2) 電子伝達系の不備で生じる電子の過剰な遺漏が強い酸化ストレスを生めば、臓器障害と短寿命化を招く、3) Mt 遺伝子の変異が老化関連疾患に関わり、また長寿傾向の SNIP も知られる。

これらの知見が、Mt の機能を亢進させて、若返りの達成を謳い、生理的老化の Mt 原因説への根拠とするならば、大きな誤解であろう。

老化との離点は多数有る。Mt 遺伝子の変異し易い、しかしマイトファージと相補的機能補償の仕組みは、変異 Mt の増幅を防ぐ。特異な Mt 病は生じ得ても、普遍的な老化現象の原因にはなり得ない。

Mt の数・分裂や品質管理の精度は、体細胞の機能 Needs に沿って一様でなく、加齢に伴う減少も Needs に応じた Mt の反応であろう。

過剰な酸化ストレスは、臓器障害を来すが、消去システムの誘導や Redox 平衡による代謝制御の発達は、生物進化を踏まえた生理的な応答であり、活性酸素が生理的な老化の原因では無いであろう。

老化の Mt 説は、酸素利用によるエネルギー産生に伴う有害な活性酸素の必然的な発生が、生命維持に伴う老化の必然性と呼応した経緯が有る。Mt は6億年も前に細胞内に共生し、変異を繰り返し、過酷な環境変動に適応を積み重ね、進化して来た。生理的に体細胞との共存共栄が進化上の原理である。ストレスである食餌、酸素、温度、放射線、運動の老化原因説も、同様の進化圧と適応の視点から見ると同じ誤解を生んでいる。そこに共通する問題と Redox 平衡に依る幹細胞の制御について基礎研究者の新しい視点から詳述する。

**Keyword：** Mt 変異、老化機序、進化圧と適応、病的老化、生理的老化、ストレス、Redox 平衡、幹細胞

# ミトコンドリアユビキチンリガーゼ MITOL による 老化制御機構

柳 茂、徳山 剛志、武田 啓佑、稲留 涼子、長島 駿

東京薬科大学・生命科学部・分子生化学研究室

ミトコンドリアは融合と分裂を繰り返しながら微小管に沿って動的に移動している。このようなミトコンドリアダイナミクスの破綻は、ミトコンドリアの機能低下を誘発し、エネルギー産生の低下や活性酸素種（ROS）の産生を増加させて、老化の促進や神経変性疾患などさまざまな病態を引き起こす。

私たちはミトコンドリア外膜を4回貫通する新規膜型ユビキチンリガーゼ MITOL を発見し、MITOL がミトコンドリア分裂因子である Drp1 を制御することによりミトコンドリアダイナミクスを調節していること（EMBO J. 2006）、および MITOL がミトコンドリアに蓄積する変性タンパク質の分解を促進することより、ミトコンドリアの品質管理機構に関与していることを示した（Mol. Biol. Cell 2009, Mitochondrion 2011）。また、MITOL は一酸化窒素によって S-ニトロシル化された MAP1B-LC1 を特異的に認識し、ユビキチン・プロテアソーム経路を介して分解を促進することにより、MAP1B-LC1 の過剰蓄積によるミトコンドリア機能不全を防御していることを明らかにし、ミトコンドリアによる新しい酸化ストレス防御機構の存在を示唆した（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2012）。さらに最近、MITOL がミトコンドリア融合因子である Mitofusin2 を活性化することにより、ミトコンドリアと小胞体との接着構造とカルシウム動態を制御していることを見出した（Mol. Cell 2013）。

このように MITOL はミトコンドリアダイナミクスの制御に重要な役割をしていると考えられるが、MITOL の生体内における生理的重要性については未だ不明な点が多い。興味深いことに、MITOL は老化が進むにつれて発現量が低下することや MITOL 欠損によりミトコンドリアの活性酸素産生量が増大することが観察されており、MITOL と老化との関連性が示唆されていた。

本シンポジウムでは MITOL 欠損による活性酸素の産生増大機構と、MITOL 欠損マウスの表現系解析により明らかとなった MITOL と老化との密接な関連性について報告する。

**Keyword** : 活性酸素種、ミトコンドリア、皮膚老化、心不全、アルツハイマー病、神経変性疾患

# ミトコンドリア複合体 II 電子伝達異常に起因する 酸化ストレスと生体の加齢変容

石井 恭正<sup>1</sup>、宮沢 正樹<sup>1</sup>、安田 佳代<sup>1,2</sup>、石井 直明<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東海大学・医学部・分子生命科学、<sup>2</sup> 東海大学・生命科学統合支援センター

酸化ストレスと老化の研究は、1956年にDenham Harman博士がフリーラジカル説を提唱した頃、あるいは、その説がミトコンドリア説（ミトコンドリア酸化ストレス傷害を老化の原因とする説）へと展開された1972年頃に本格化した。

我々の研究グループは、1974年に線虫 *C. elegans* を用いた生体モデル研究をスタートし、1998年に老化の原因となる酸化ストレスの発生源がミトコンドリア電子伝達系異常にあることを世界に先駆けて報告した。詳しくは、酸化ストレス高感受性の短寿命変異体 (*mev-1*) が、ミトコンドリア電子伝達系複合体 II サブユニット SDHC のアミノ酸点変異異常（線虫 G71E、ハエ I71E、マウス V69E）を有し、部分的な電子伝達障害を生じることで過剰な活性酸素種を産生し、短寿命となっていることを報告した。その後、*mev-1* 変異体を模した高等動物モデル（ハエ・マウス）の作製に尽力し、細胞内酸化ストレス傷害に起因する生体機能変化を明らかにしてきた。培養細胞モデルにおいて、ミトコンドリア電子伝達系の異常は、生体組織の老化原因となる過剰なアポトーシスを誘導する一方で、高頻度に DNA 変異を生じ良性腫瘍の形質を保持した腫瘍細胞への形質転換を誘導することを報告した。また同様に、マウス個体において、ミトコンドリア電子伝達系の異常は細胞増殖が盛んな胎生期から成熟期にかけて過剰なアポトーシスを誘導することで発生個体の一部を胎性致死、その他の個体を低出生体重仔とし、性成熟に至るまで成長遅延を起こすことを報告した。

近年、生体成熟後の表現型解析に尽力し、ドライアイなどの加齢性角膜障害・習慣流産・加齢性記憶障害・炎症の慢性化などミトコンドリア酸化ストレスに起因する生体の加齢現象を明らかにしつつある。さらに、エネルギー代謝主要臓器でのメタボローム解析を実施し、若齢期で異化の代謝亢進や抑制性神経伝達物質アミノ酸代謝の抑制など、自律神経制御の変容を想起する結果を得た。

本講演では、これら未発表の解析結果が『ミトコンドリア酸化ストレスに起因する生体の加齢変容の根本には、若齢期からの自律神経制御の変容がある』ことを示唆している可能性を踏まえ、今後の当該モデル解析で期待される成果について考察したい。

**Keyword：**ミトコンドリア、酸化ストレス、老化、エネルギー代謝、自律神経制御、神経伝達物質、アミノ酸代謝

# ミトコンドリア活性酸素の実時間計測、酸化ストレス亢進マウスの作製、 新概念の抗酸化物質としての水素

太田 成男、上村 尚美、Alexander M. Wolf、井内 勝哉、  
西槇 貴代美、一宮 治美、横田 隆、中嶋 裕也  
日本医科大学大学院・加齢科学専攻・細胞生物学分野

今回は、ミトコンドリアの活性酸素に関する3つのトピックスを紹介する。

- (1) 活性酸素の寿命は短く、直接観測することは困難である。 $H_2O_2$ が結合すると蛍光波長が変化するGFP(roGFP)遺伝子を組み込んだ遺伝子組み換えマウスを作製し、個体レベルで酸化ストレスを実時間で計測することを可能にした。さらに、roGFPにミトコンドリア移行シグナルを結合することにより、ミトコンドリアとサイトゾルの酸化ストレスを区別して計測することを可能にした。皮膚にUVAを照射するとミトコンドリアの酸化ストレスのみが亢進した。また、青色光によっても酸化ストレスの上昇が観察された。
- (2) ミトコンドリアに局在するALDH2（アルデヒド脱水素酵素2）は、過酸化脂質由来のアルデヒドを解毒することによって、酸化ストレスの防御システムとして機能することを明らかにした。ALDH2のドミナントネガティブ変異を導入し、酸化ストレス亢進マウス（DALマウス = Dominant negative ALdehyde dehydrogenase mutant mice）を作製した。脳でDALを発現させたマウスは、アルツハイマー病に類似の病態によって、加齢に伴い神経変性が進行し、記憶力が低下した。一方、心筋でDALを発現させたマウスは、心筋梗塞による虚血再灌流障害に対して酸化ストレス耐性となった。このメカニズムとして、アルデヒドが、eIF2 $\alpha$ のリン酸化を介して、Atf4を活性化し、セリン合成系を上昇させ、グルタチオンの上昇をもたらすことを明らかにした。
- (3) 分子状水素 ( $H_2$ ) は、細胞内で $\cdot OH$ ラジカルやONOO $^-$ と直接反応して消去した。とくに、低濃度では脂質のラジカル連鎖反応を抑制することによって細胞を酸化ストレスから保護した。しかし、細胞内シグナルとして機能する $\cdot O_2^-$ 、NO、 $H_2O_2$ とは反応しない。さらに、間接的にNrf2を活性化して酸化ストレスを軽減する。 $H_2$ は、水素ガスの吸引や $H_2$ を溶解した水（水素水）を飲むことによって、容易に摂取可能である。 $H_2$ の拡散速度が速いので、効果的な抗酸化作用を発揮し、副作用がない。ほとんどの酸化ストレス障害が関与するモデル動物を改善した。さらに、抗炎症作用やエネルギー代謝促進効果など多くの機能を発揮した。また、臨床試験では、パーキンソン病やリュウマチ患者を改善している。

**Keyword:** 活性酸素、ミトコンドリア、実時間計測、ALDH2、酸化ストレス耐性獲得、抗酸化作用、  
分子状水素

# カロリー制限における Srebp1c を介した *de novo* 脂肪酸合成と ミトコンドリアバイオジェネシス、酸化ストレスの関連

沖田 直之、成田 匠、藤井 波木、須藤 結香、樋上 賀一  
東京理科大学・薬学部・生命創薬科学科・分子病理代謝学研究室

長期の摂取カロリーの制限 (CR) は、様々な老化現象や加齢に伴って発症する疾患を抑制し、平均および最大寿命を延伸する。このような CR のメカニズムに関して、成長ホルモン (GH) / インシュリン様成長因子 1 (IGF-1) シグナルの抑制やサーチュインの活性化の関与などが示唆されているが、その詳細は未だ不明な点が多い。我々は CR 動物の精巣周囲白色脂肪組織 (WAT) において、摂食状態に関わらず、GH/IGF-1 シグナル非依存的に、脂肪酸合成系の主要な転写因子である sterol regulatory element binding protein 1c (Srebp1c) およびそれに制御される脂肪酸合成関連タンパク質発現が顕著に増加することを見出し、CR による WAT での代謝のリモデリングに Srebp1c が重要である可能性を報告した (Okita, et al., Mech Ageing Dev, 133:255-66, 2012; Chujo et al., Age, 35:1143-56, 2013)。

本研究では、CR の有益な効果における Srebp1c の役割および重要性を明らかにするために、CR が 8 ~ 10 ヶ月齢 Srebp1c ノックアウト (KO) および野生型 (WL) マウスに及ぼす影響を、比較、検討した。WL の WAT では、CR により脂肪酸合成関連タンパク質発現のみならず、PPAR gamma coactivator 1  $\alpha$  (Pgc1  $\alpha$ ) や Sirt3 発現、ミトコンドリア DNA およびミトコンドリア関連タンパク質発現の増加、クエン酸合成酵素活性の増加などが観察され、ミトコンドリア合成は亢進した。また TBARS 量の減少、GSH 量および GSH/GSSG の増加、アコニターゼ活性の増加などが観察され、酸化ストレスは抑制された。このような CR に伴う変化の多くは、肝臓や腎臓、心筋、骨格筋など WAT 以外の組織では観察されなかった。一方、KO では WAT における CR に伴う変化は、減弱もしくは観察されなかった。さらに WL では CR により平均および最大寿命が延伸したが、KO では延伸しなかった。

以上より、CR 条件下の WAT 限定的に、Srebp1c が脂肪酸合成のみならず、Pgc1  $\alpha$  や Sirt3 発現増加を介してミトコンドリア生合成を活性化し、かつ酸化ストレスを抑制することが明らかになった。加えて、CR の抗老化・寿命延伸効果に Srebp1c が重要な役割を果たすことが示唆された。

**Keyword :** カロリー制限、脂肪組織、Srebp1c、ミトコンドリアバイオジェネシス、*de novo* 脂肪酸合成、酸化ストレス



# 膜電位を指標に用いるミトコンドリアの 品質管理とパーキンソン病

松田 憲之

公益財団法人 東京都医学総合研究所・蛋白質リサイクルプロジェクト

パーキンソン病の発症にはミトコンドリアの機能不全が関与することが古くから提唱されていたが、その分子レベルの理解は遅れていた。近年、遺伝性劣性パーキンソニズムの原因遺伝子である PINK1 や PARKIN (北田ら, Nature 1998) に関して精力的に研究が進められて、両者がミトコンドリア品質管理に関わることが明らかになりつつある。つまり、ミトコンドリアの膜電位が低下してその機能が異常になると、PINK1 と Parkin がそこに集積し、PINK1 依存的に Parkin が活性型ユビキチン連結酵素 (基質にユビキチンを付加する酵素: E3) に変換されて、ミトコンドリア外膜上の基質をユビキチン化して、異常ミトコンドリアを分解に導く (松田ら, JCB 2010)。両者はいわば“膜電位の低下に応答するミトコンドリア排除因子”であり、その機能が破綻するとミトコンドリア品質が低下して、遺伝性劣性パーキンソニズムを引き起こすと考えられる。しかしながら PINK1 が Parkin を活性化するメカニズムは不明であった。

2012-13 年に演者らや順天堂大学の服部博士らの研究グループは PINK1 が Parkin をリン酸化することを見出した (柴ら, Sci Rep. 2012; 井口ら, JBC 2013)。しかしながら Parkin のリン酸化模倣変異体が E3 酵素として機能するためには、依然として PINK1 が必要であり、Parkin 以外にも PINK1 の重要な基質が存在することが示唆された。そこで演者らは未知の PINK1 基質の同定に挑み、ユビキチンが PINK1 の基質であることを見出した。重要なことに、Parkin とユビキチンの両者にリン酸化を模倣するような変異を導入して細胞内に共発現すると、PINK1 を欠いた条件下でも Parkin の E3 機能が活性化された。この Parkin の活性化に際してリン酸化ユビキチンと Parkin の E3 酵素活性中心との結合は不要であり、アロステリックな活性化機構であることが示唆される。

一連の結果は、リン酸化ユビキチンが PINK1 の下流で働く Parkin 活性化因子であることや、患者由来の PINK1 変異体では Parkin とユビキチンのリン酸化が行われずに異常ミトコンドリアが排除されない為に、パーキンソニズムが発症することを示唆している (小谷野ら, Nature 510, pp162-6, 2014)。今後は、この Parkin 活性化機構の全貌を分子レベルで明らかにしたい。

**Keyword:** 膜電位、ミトコンドリア、PINK1、Parkin、酸化ストレス、神経変性疾患、パーキンソン病