

平成22年6月8日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
研究期間：2008～2009
課題番号：20880045
研究課題名（和文）酸化ストレスによって誘導される老化現象におけるタンパク質分解経路の役割
研究課題名（英文）Role for autophagy in oxidative stress-induced premature senescence in zebrafish models
研究代表者
今村 伸太郎（IMAMURA SHINTARO）
独立行政法人水産総合研究センター・中央水産研究所・研究員
研究者番号：80510007

研究成果の概要（和文）：生体内では酸化ストレスによって生成された酸化物が細胞老化を引き起こしていると考えられます。本研究を通じて魚類モデルを用いた研究から、酸化ストレスによって生成される酸化タンパク質がオートファジーと呼ばれるタンパク質分解系において除去されることが分かりました。さらに、オートファジーを起こすことが出来ない魚類モデルでは、酸化ストレスによる細胞老化が促進されました。以上から、オートファジーは酸化ストレスから生体を防御し、老化を抑制する働きがあることが分かりました。

研究成果の概要（英文）：Oxidative stress is important for longevity regulation. Accumulation of oxidized proteins may induce cellular senescence during aging process. Autophagy, bulky protein degradation pathway promoted the degradation of oxidized proteins under oxidative stress condition in fish. Autophagy inhibition was induced premature senescence by oxidative stress. These findings indicate that autophagy is essential to prevent the oxidized proteins and exhibit anti-aging functions in fish models.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 810,000 | 243,000 | 1,053,000 |
| 2009年度 | 440,000 | 132,000 | 572,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 1,250,000 | 375,000 | 1,625,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産化学

キーワード：酸化ストレス，老化，タンパク質分解，オートファジー，ゼブラフィッシュ

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスは寿命を決定する要因の一つであります。酸化ストレスによって生成された酸化タンパク質が蓄積することによって細胞の老化を引き起こすと考えられます。この蓄積された異常なタンパク質を分解する機構の一つとしてオートファジーが注目されています。

オートファジーとは、細胞内の構成物をオートファゴソームと言われる膜で包み込み、リソソームに運んで、それに含まれるタンパク質分解酵素で分解する経路です。栄養飢餓時に自身を分解することによって栄養素を自給自足する役割を持つことが知られています。また、細胞内を浄化し、正常な状態に保つ作用があることが分かっています。しかし、このオートファジーが老化過程でどのような役割を果たしているのか明らかになっていませんでした。

本課題では、蓄積された酸化タンパク質の分解機構を調べるために、魚類胚及び成体を酸化ストレス条件下においてオートファジーが誘導されるのか調べ、また、オートファジーによる酸化タンパク質の分解による細胞老化の抑制効果を調べました。

2. 研究の目的

生物の寿命を規定する要因として酸化ストレスが上げられます。体内では酸化ストレスによって酸化タンパク質が蓄積し、細胞の老化が誘導されると考えられます。生体は、酸化されたタンパク質を分解することによって老化の進行を防いでいると推定されます。この酸化タンパク質の分解と老化細胞の除去機構に着目して、オートファジーと言われるタンパク質分解経路による抗老化作用

の解明を目指しました。

3. 研究の方法

実験動物には、小型魚類であるゼブラフィッシュを用いました。生きたままオートファジーの誘導を観察するためには、体が透明で、遺伝子改変が容易に行える実験動物が必要でした。胚発生期のゼブラフィッシュは透明で、オートファジーのマーカである微小管結合タンパク質に緑色蛍光タンパク質の目印を付けることにより、顕微鏡下でオートファジーを観察することが可能になりました。酸化ストレスをこのゼブラフィッシュ胚及び成体に処理し、オートファジーの誘導を観察しました。また、オートファジーが起きないモデル動物（オートファジー関連遺伝子 ATG5 及び ATG7 のタンパク質誘導を阻害）を作製しました。このモデル動物に対して、酸化ストレスによる細胞老化の誘導を細胞老化染色によって検出しました。



図1 本研究で用いたゼブラフィッシュ成魚

4. 研究成果

私たちは魚類でオートファジーを簡便に観察できるゼブラフィッシュモデルを作出し、オートファジーが活性化される部位、活性化される発生段階を詳しく調べました。

酸化ストレスを引き起こす活性酸素種を

ゼブラフィッシュ胚及び成体に浸漬したところ、ゼブラフィッシュ胚でオートファジーが誘導され、後脳、目、体節で蛍光タンパク質が観察されました。成体では脳、目、腎臓、肝臓でオートファジーが誘導され、筋肉と皮膚では誘導されませんでした。

そこで、オートファジーが酸化ストレス条件下で重要な役割を果たしているのではないかと考え、オートファジーを起こすことが出来ないゼブラフィッシュ胚を作製しました。その結果、酸化ストレス条件下では胚の発生が遅延し、途中で発生の進行が停止し、死亡してしまいました。酸化ストレスによって誘導される細胞老化はオートファジーが起こらないと促進することが分かりました。

これらの結果から、ゼブラフィッシュモデルにおいて、オートファジーは酸化ストレスによって生成された酸化タンパク質を分解する働きがあり、抗老化作用に必要であることが分かりました。

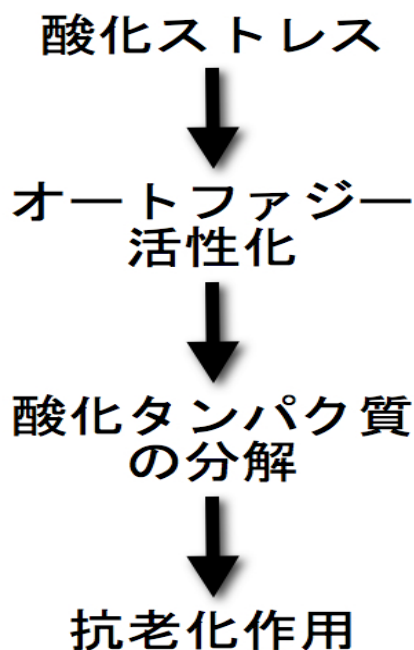


図2 ゼブラフィッシュモデルにおけるオートファジーの抗老化作用

オートファジーの多彩な生理機能が多くの研究から明らかにされつつあり、様々な疾病との関連が注目されています。本課題から作出されたゼブラフィッシュモデルは、プラスチック容器の小さなスペースで多数の個体を飼育することが可能であります。この利点を生かせば、水産物に含まれる老化を抑制するような成分や薬剤を多数の候補物質の中から探し出すことに利用できます。

魚類においては、受精卵は産卵によって母体から分離されることから、栄養吸収において哺乳類とは異なったオートファジーの制御機構があるものと推定されます。受精卵の卵黄タンパク質の吸収や摂餌までの飢餓適応に重要な役割を果たしていることが推定されます。これらの知見は水産業においても重要です。養殖魚の人工生産において仔稚魚の健康状態を把握することに利用できます。また、天然魚の栄養状態を把握することによって、資源変動を予測するための一つの指標となりうるのではないかと考えられます。一方、仔稚魚の水中での垂直運動の原動力となる浸透圧調節にタンパク質分解によるアミノ酸生成が関わっていることが推定されます。このような哺乳類では見られない魚類特有の生理機能の解析は、オートファジーの新たな機能性を見いだす良い材料になると考えられます。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計2件)

Shintaro Imamura, Role for autophagy in oxidative stress-induced premature senescence in zebrafish models, The 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine and The 4th Annual Meeting of the biomedical Society for Stress Response, Oral

presentation (2009)

今村伸太朗, 酸化ストレスによって誘導される細胞老化におけるオートファジーの役割,
平成22年度日本水産学会春季大会 (2010)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今村 伸太朗 (IMAMURA SHINTARO)
独立行政法人水産総合研究センター・
中央水産研究所 利用加工部・研究員
研究者番号：80510007

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：