

科学研究費助成事業(基盤研究(S))公表用資料  
[研究進捗評価用]

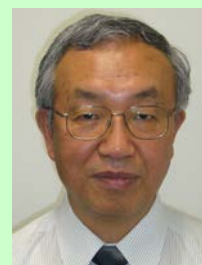
平成23年度採択分  
平成26年3月18日現在

ミトコンドリア機能による老化調節機構の解明と  
抗老化食物質の探索

Elucidation of Aging Regulatory Mechanisms Related to  
Mitochondrial Function and Identification of  
Anti-Aging Food Factors

田之倉 優 (TANOKURA MASARU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

本研究は、**Bak** 及び **Sirt3** が関わるミトコンドリア機能を介した老化調節に焦点を当て、その分子機構を解析するとともに、**Sirt3** や他の老化調節因子を標的とした機能性食物質の探索を行う。同定した機能性食物質については、実際にマウスに経口投与して老化遅延効果と作用点を評価し、構造学的な解析により標的分子に対する作用機序を明らかにする。これらの成果を活用し、抗老化機能をもつ新たな機能性食品開発への基盤の確立を目指す。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：老化調節機構、ミトコンドリア、食品機能、抗老化食物質

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の加齢と関係する典型的な症状に加齢性難聴がある。これは、老化という複雑な生命システムをより単純化して研究するための優れたモデルシステムの1つである。研究代表者は、1) ミトコンドリアのアポトーシス促進因子 **Bak** により聴覚細胞のアポトーシスが引き起こされ、加齢性難聴が発症すること、2) 加齢性難聴は、活性酸素(ROS)が引き起こす酸化ストレスにより促進され、抗酸化物質により抑制されること、3) 老化の遅延効果を示すカロリー制限が、ミトコンドリアで機能する脱アセチル化酵素 **Sirt3** の発現を誘導し、ROSの除去を促進して加齢性難聴の発症を遅延させることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、聴覚の老化過程において **Bak** 及び **Sirt3** が関わるアポトーシスの調節に焦点を当て、その分子機構の解明を目的とする。さらに、この分子機構で中心的にはたらく **Sirt3** や他の調節因子を標的とした機能性食物質の探索を行い、機能性食物質の老化遅延効果と作用点を評価するとともに、標的因子に対する作用機序を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1) ミトコンドリアを介した老化調節機構の解析

各種ノックアウトマウスの聴覚解析、組織学的解析、遺伝子発現解析、分子間相互作用解析を駆使し、**Sirt3** から **Bak** に至るまでの経路で働く因子及び **Bak** を中心としたミトコンドリア局在アポトーシス関連因子の分子ネットワークを解析する。これにより、ミトコンドリアを介した内耳組織やその他の組織の老化調節機構を明らかにする。また、同定した老化調節因子を構造生物学的・生化学的手法により解析し、その分子機能の詳細を明らかにする。

2) 抗老化食物質の探索と作用機序の解析

老化調節因子と食物質の *in silico* スクリーニング及び相互作用スクリーニングにより、抗老化食物質の候補となる機能性食物質を探索する。同定した機能性食物質について、標的因子ノックアウトマウス等の加齢性難聴やその他の組織の応答を指標に老化遅延効果と作用点を明らかにする。また、構造学的手法を駆使し、標的因子に対する機能性食物質の作用機序を解明する。

#### 4. これまでの成果

##### 1) ミトコンドリアを介した老化調節機構の解析

**老化調節因子ノックアウトマウスの解析:** Sirt3 ノックアウトマウスの解析により、カロリー制限時に Sirt3 を介して発現制御される因子を同定した。例として、Sirt3 はホスファチジルイノシトール代謝因子を転写レベルで調節し老化制御に関与する可能性が示唆された。また、LC-MS/MS の網羅的定量プロテオーム解析により、内耳において TCA サイクル関連酵素群と脂肪酸代謝関連酵素群の発現が増加し代謝サイクルが活性化していることが確認された。

**POLGD257A/D257A マウスの解析:** POLGD257A/D257Aマウスを用いてmtDNAの変異蓄積が各組織に及ぼす影響を解析し、POLGD257A/D257Aマウスの脾臓細胞はIL-6 を高く発現することが明らかになり、加齢によるIL-6 産生亢進にmtDNAにおける変異蓄積が関与する可能性が示された。

**内耳細胞のアポトーシス誘導と食物質の保護機能の解析:** 種々の医薬品の副作用として難聴の発症が知られており、抗マラリア剤のメフロキンは酸化ストレス障害により内耳細胞のアポトーシスを誘導することが示された。一方、補酵素NAD<sup>+</sup>を同時に摂食させたマウスではメフロキンによる酸化ストレスが軽減され、難聴の発症も抑制されることが示された。これにより、NAD<sup>+</sup>やその前駆体のナイアシンが、薬剤副作用を含む、酸化ストレスを起因とした難聴の抑制に有効であることが示唆された。

**免疫老化の解析:** IL-6 等の炎症性サイトカインは加齢性の疾患や障害に関わっている。マウス脾臓の解析により、ストローマ細胞による炎症性サイトカイン産生が加齢による炎症亢進に関わる可能性が示された。また、加齢に伴いレチノイン酸 (RA) 産生や RA に対する反応性が低下し、ケモカインレセプターCCR9 の発現が低下することが、腸管免疫においてマイグレーション能が低下する一つの原因となることが示唆された。

##### 2) 抗老化食物質の探索と作用機序の解析

**食物質の探索と評価:** 老化関連疾患 (代謝疾患及び慢性炎症) の標的ヘパトカインに結合するペプチドをファージディスプレイと生体分子間相互作用システムを用いて同定した。また、加齢による免疫機能の障害を抑制する食物質を探索するために、食品抽出物が LPS 刺激下で高齢マウス脾臓における IL-6 産生に与える影響を検討し、2 種の食品抽出

物が加齢により促進された炎症の軽減に効果がある可能性が示唆された。さらに、プロバイオティクス効果の知られる乳酸菌株について高齢マウスにおける腸管免疫調節効果が示唆された。

**食品中の機能性成分の迅速同定法の確立:** 老化調節因子を直接標的とした探索手法に加えて、新規に食品に含まれる機能性成分を探索する手法を検討し、核磁気共鳴 (NMR) 法により得られる食品成分の網羅的パターンから食品の機能性に寄与する成分を同定するための手法を確立した。

**老化調節因子の構造解析と作用機序の理解:** 標的ヘパトカインの X 線結晶構造解析と NMR 解析を行い、その立体構造と結合性ペプチドとの相互作用部位を明らかにした。これは、インスリン感受性の亢進と慢性炎症の抑制に働くと期待される標的ヘパトカイン阻害剤の創出に寄与する。

#### 5. 今後の計画

これまでに同定した各因子の老化調節における役割と詳細な分子機構を解析し、新たな調節因子等の同定と相互作用ネットワークを解析する。また、免疫老化とミトコンドリア機能の関係を明らかにする。

老化調節機構に関わる因子を標的とした化合物スクリーニングと NMR プロファイルに基づいた食品中の機能性成分の解析についても実施し、機能性食物質による加齢性難聴・代謝疾患・免疫老化の抑制効果と作用機序を解明する。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Park, J., Miyakawa, T., Tanokura, M., Hachimura, S. et al. Splenic stromal cells from aged mice produce higher levels of IL-6 compared to young mice. **Mediator. Inflamm.** 2014, 826987, 2014.

2. Ding, D., Miyakawa, T., Tanokura, M., et al. Addition of exogenous NAD<sup>+</sup> prevents mefloquine-induced neuroaxonal and hair cell degeneration through reduction of caspase-3-mediated apoptosis in cochlear organotypic cultures. **PLoS ONE** 8, e79817, 2013.

ホームページ等

<http://fesb.ch.a.u-tokyo.ac.jp/>