

長寿の遺伝子

石井直明*

索引用語：インスリン様・シグナル伝達経路，ミトコンドリア，長寿遺伝子，エネルギー代謝，活性酸素

要旨：最長寿命が30日で、体長1 mmの小さな線虫から、長い間存在が否定されてきた長寿遺伝子が発見された。これがきっかけで、老化の分子メカニズムが急速に明らかにされつつある。特にインスリン・シグナル伝達系とミトコンドリアの電子伝達系が寿命決定に重要な役割を果たしていることが明らかになった。このことからエネルギー代謝が老化に深く関与し、さらにエネルギー代謝の過程の副産物として産生される活性酸素が、多くの生物種や臓器・器官の老化の主因であると考えられるようになった。

はじめに

これまで、老化や寿命が1つの遺伝子に支配されるようなことはない信じられてきた。もしヒトでそのような遺伝子が存在するならば、その遺伝子の変異が、ヒトの最長寿命と考えられている120歳代を越えた人を作りだしてきたはずである。しかし、そのような人が現れたという正式な記録がないことが、老化や寿命を制御する遺伝子の存在を否定する根拠になっている。これをくつがえしたのがコロラド大学のJohnson TEである。彼は線虫の一種、*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)から世界で初めて長寿を示す突然変異体を分離し、*age-1*と命名した¹⁾。これを

きっかけに長寿遺伝子への関心が高まり、さまざまな動物から長寿突然変異体が分離され、分子遺伝学的解析から、そのメカニズムが明らかにされつつある。その中でも、最も注目を集めているのが、エネルギー代謝と老化の関係である。線虫のみならず、酵母、ショウジョウバエ、マウス、そしてヒトに至るまで多くの生物が持つインスリン様・シグナル伝達経路とミトコンドリアに存在する電子伝達経路、さらにそこから派生する活性酸素が、老化の速度や寿命の決定の大きな役割を果たしていることが明らかになってきた。

長寿突然変異体の発見

老化の遺伝子を扱う実験動物としては当然

Naoaki ISHII: Gerontgenes

*東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 [〒259-1193 伊勢原市望星台]

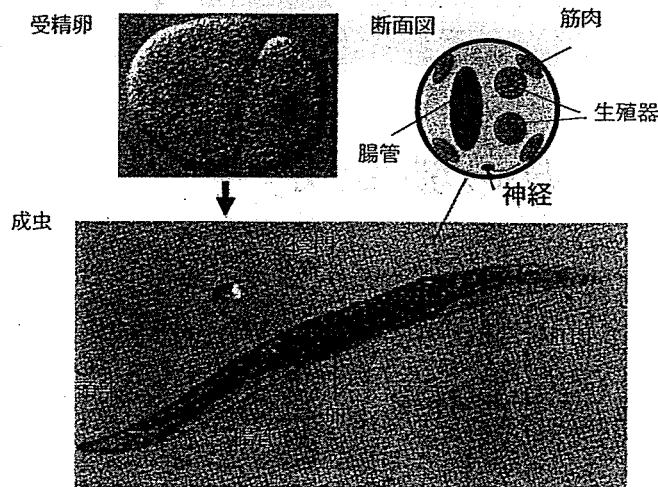


図1 線虫, *C. elegans*の形態
受精卵から成虫まで体が透明なので、生きたまま観察が可能

遺伝学的手法が確立していることと、寿命が適当な長さであることが必要になる。遺伝学が確立し、老化研究に適している動物は案外少なく、主にヒト、マウス、ショウジョウバエ、線虫が知られている。この中で、線虫の一種の *C. elegans* は最長寿命が約1カ月と短いことから、老化の研究に盛んに使われている。

C. elegans は世界中で存在が確認されているが、主にイギリスで発見された Bristol (別名 N2) が標準株として実験に使われている。体長1 mm あまりの虫であるが、表皮、神経、筋肉、消化器官、生殖器官という動物として必要最小限の体制をもつ(図1)。老化には環境と遺伝という2つの因子が関与しているが、ヒトはそれぞれ生活環境が違い、遺伝的な多様性もあるので解析が困難である。その点、*C. elegans* は、1匹の虫が卵巣と精巣をもつ雌雄同体が基本であり、自家受精により次世代が生まれるため、遺伝的な背景が均一であり、寿命や老化に影響を与える環境や遺伝因子の特定が容易になる。

孵化後の幼虫は3回の脱皮を経て、孵化か

ら3日半後に成虫になる。幼虫期に餌の不足や虫の密度が高くなると、耐性幼虫(dauer larvae)という特殊な形態に変化し、環境が改善されると正常な発生に戻る。正常状態での寿命が1カ月なのに対して、耐性幼虫は餌なしで3カ月以上もの生存能力をもつことが知られている。この3カ月の間に餌を与えると正常な成長過程に復帰するが、復帰後の成虫の寿命は耐性幼虫の状態が存在した期間に依存せず1カ月であった。このことから耐性幼虫の期間を「老化しないステージ(non-aging stage)」と呼んでいる²⁾。後述するように、この耐性幼虫の研究が老化研究の新たな扉を開くことになる。

長寿突然変異体の分離を最初に試みたのが、ヒューストン大学にいた Klass MR である。Klass は *C. elegans* を使い、8つの寿命の長い突然変異体を分離した。しかしこれらの突然変異体の長寿の形質は、耐性幼虫に変化するか、あるいは喉頭に異常を持つために餌を十分に摂取できないことが原因であったと報告している。後者は最近注目されているカロリー制限(腹八分目)による長寿命効果を示

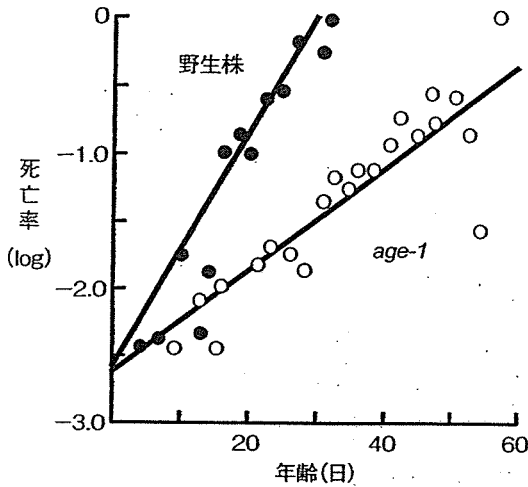


図2 *C. elegans*の野生株と*age-1*変異による年齢特異的死亡率の変化。グラフの傾きは老化の速度を示す

したものであるが、Klassはこの研究から長寿遺伝子は発見されなかったと結論づけている³⁾。しかし、Johnson TEは、この咽頭に異常をもつ突然変異体を譲り受け、咽頭の異常を正常に戻したときの長寿の形質を観察した。驚くことに長寿の形質は失われず、咽頭の異常が長寿を引き起こしたわけではないことを発見した。この突然変異体は成熟期までの期間に左右されることなく長寿の傾向を示した。また加齢による死亡率(Gompertz関数)が野生株よりも減少した。すなわち老化の速度が遅くなったことから、*age-1*と名づけられ、世界で初めての長寿遺伝子として認められた(図2)¹⁾。この遺伝子の発見がきっかけとなり、線虫で寿命に関わる突然変異体が、現在までに多数分離されるようになった。

その中に長寿を示す*daf-2*突然変異体がある。*daf-2*は耐性幼虫の形成に必要な遺伝子群(*daf*)の1つで、それらの遺伝子変異は耐性幼虫の形成に異常を示す。*daf-2*突然変異体は、どのような条件下でも耐性幼虫になら

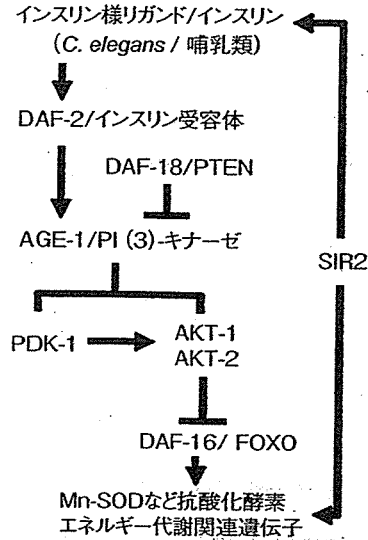


図3 線虫、*C. elegans*とヒトにおけるインスリン様シグナル伝達系

ず、寿命が野生株よりも若干短い突然変異体*daf-16*との二重突然変異体を作成すると、*daf-2*がもつ長寿の形質が失われた³⁾。また*daf-12*といわれる突然変異体と*daf-2*の二重突然変異体は野生株の4倍の長寿の形質を示した³⁾。

長寿を示す変異体の遺伝子が近年次々と同定されている。*age-1*の遺伝子がPI3キナーゼであること⁴⁾、*daf-2*の遺伝子がヒトのインスリンの受容体とよく似た配列をもっていたことから⁵⁾、この2つの蛋白質がエネルギー代謝に関するインスリン・シグナル伝達経路の重要な構成要素であることが明らかになった。その後、*daf-2*の寿命に影響を与える*daf-16*がこの経路の下流で遺伝子の発現調節に働く転写因子であることが判明した³⁾。このインスリン・シグナル伝達経路は線虫のみならず、酵母、ショウジョウバエ、マウスなどの他の生物でも老化に関与することが報告されている(図3)。

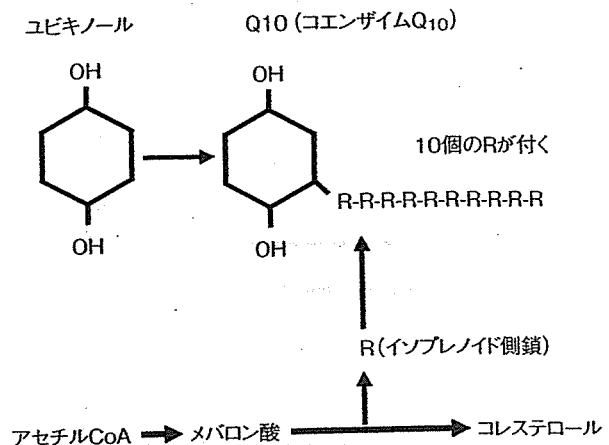


図4 コキュー・テン (CoQ10) の合成経路

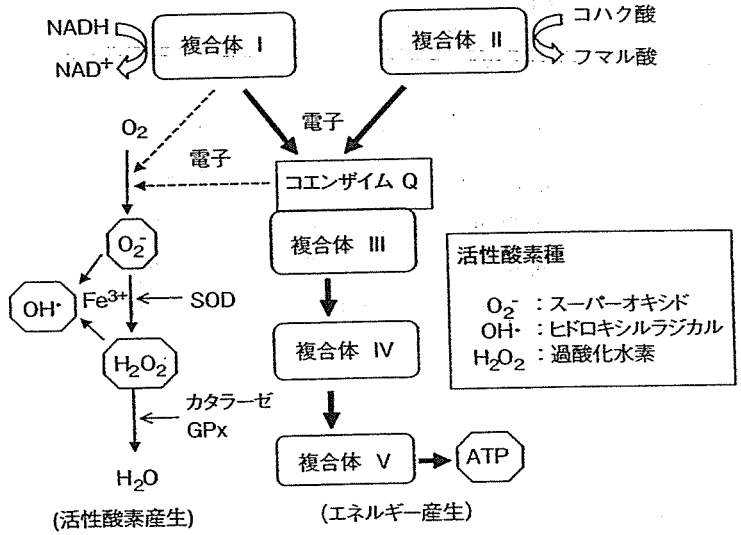


図5 ミトコンドリア電子伝達系におけるエネルギー産生と活性酸素発生経路

3 ミトコンドリア機能と老化

老化の定義は、「成熟後に見られる生体機能の不可逆的な後退現象」であり、成熟前の発生などが老化に影響しないことが前提にある。age-1は成熟後の死亡率が野生株に比べて低くなっているが、成熟前の形質は野生株と変わらないので、この定義に良く当てはまる。しかし、発生の段階から発育や行動などの速度が遅く、寿命も長いclk-1と名づけた

れた突然変異体が出現したことから、この定義も少しずつ見直されている⁶⁾。clk-1はミトコンドリア電子伝達系に存在するユビキノン(別名コエンザイムQ)の合成酵素の遺伝子であった⁷⁾。ユビキノンは長い疎水性の側鎖をもち、この側鎖はイソプレノイドという炭素5個からなる単位が6個から10個連なった構造をしている(図4)。今話題の栄養補助食品である「コキュー・テン(CoQ10)」はこの単位を10個持つユビキノンのことであり、エネ

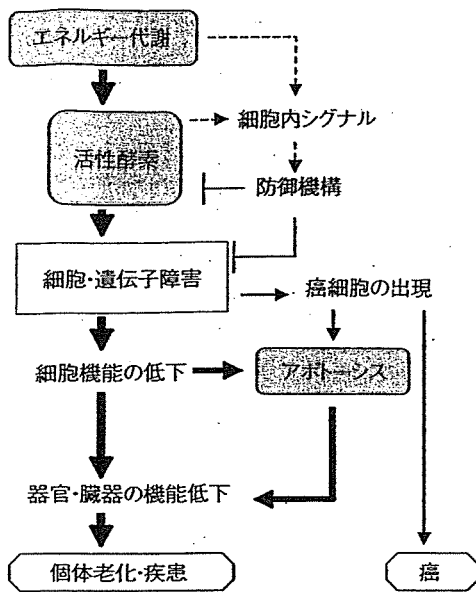


図6 ミトコンドリアの機能が関わる老化や疾患のメカニズム

ルギー産生に大きな役割を果たしている。CoQ₁₀はヒトの体内で合成可能であるが、加齢とともに合成量が減少していくことが知られている。ユビキノンは合成できない大腸菌を餌として飼育した野生株の線虫は長寿命を示し、長寿の突然変異体である *clk-1* は、ユビキノンを合成されずにその前駆体が蓄積していることから、CoQ₁₀の過剰摂取はヒトの寿命を短縮させるのではと世界中で騒然となったことがある。しかし、大腸菌が合成するユビキノンの側鎖の単位は8個であり、線虫は9個、ヒトは10個と異なり、側鎖の数と動物の寿命に相関関係があることから、線虫の結果がヒトに当てはまるかどうかは疑問である。現に、ユビキノンを合成しない大腸菌で飼育した線虫が短命を示した結果とは逆に、われわれはCoQ₁₀を餌に添加すると線虫の寿命が延長することを確認している。

Kenyon Cらは、*C. elegans*のミトコンドリアに存在する電子伝達系の複合体のサブユ

ニットをコードする遺伝子の発現を抑制すると、寿命が延長すると報告している⁸⁾。これらの遺伝子発現の抑制がエネルギー代謝の低下を招いたことから、寿命延長効果は産生される活性酸素の量が減少したためと結論している。Ruvkun Gらは網羅的な実験を行い、寿命延長を示す遺伝子を探索した⁹⁾。その結果、それらの遺伝子の多くがミトコンドリアに関連していたと報告している。

一方われわれは、これとは逆に、電子伝達系の複合体IIのサブユニットの1つであるシトクロームbの遺伝子に変異を持つ *mev-1* 突然変異体が短命であり、その原因がミトコンドリアから活性酸素が過剰に産生されたためであることを明らかにした¹⁰⁾ (図5)。

4 酸化ストレスと老化

インスリン・シグナル伝達経路やミトコンドリアの電子伝達系を含むエネルギー代謝は、その副産物として細胞毒性を示す活性酸素を産生する。この活性酸素が生体内の分子を攻撃し、細胞の機能低下やアポトーシスによる老化が、さらに遺伝子突然変異によるガンが生じる¹¹⁾ (図6)。そのために抗酸化がヒトの長寿実現の鍵になると考える。

実際、抗酸化酵素の一つであるカタラーゼ (Cat) をミトコンドリアで過剰発現させたマウスや¹²⁾、thioredoxine 1 (*Trx1*) 遺伝子の過剰発現させたマウスは酸化ストレス耐性になり、長寿命であった¹³⁾。もう一つの抗酸化酵素であるスーパーオキシドデスムターゼ (SOD) を過剰発現させたショウジョウバエも長寿を示した^{14,15)}。インスリン様のシグナル伝達経路も酸化ストレスが関与しており、この経路の下流に存在する転写因子のDAF-16はMn-SODの遺伝子発現を制御している¹⁶⁾ (図3)。また線虫の *daf-2* 突然変異体

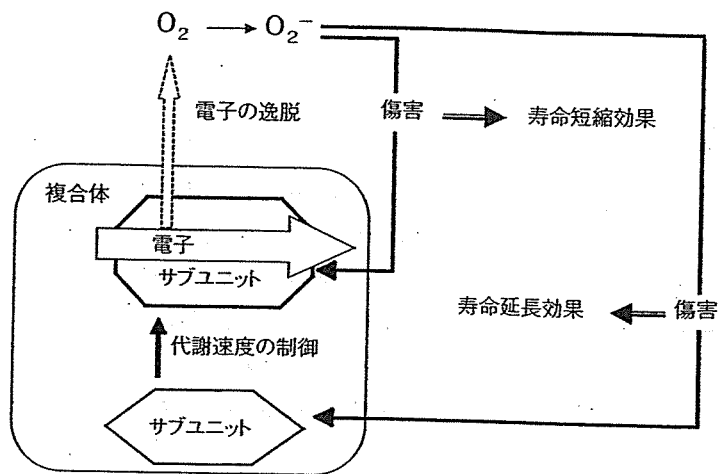


図7 ミトコンドリア障害と老化

ミトコンドリアから発生した活性酸素はミトコンドリア自身も攻撃する。傷害を受ける電子伝達系複合体のサブユニットにより、エネルギー代謝速度と活性酸素の発生量に違いがでる。

が酸化ストレスに耐性になると同様に、*daf2*の変異マウスでも酸化ストレスに耐性になり、酸化ストレス下での寿命短縮が抑制されることが知られている¹⁷⁾。

SIR2の過剰発現が*C. elegans*に長寿をもたらすと報告されている¹⁸⁾。SIR2は染色体を構成している蛋白質であるヒストンのアセチル基を取り除く脱アセチル化酵素である。この酵素は、ヒストンを脱アセチル化する際に、細胞のエネルギーを運ぶ役割をしているNAD⁺の補助が必要となる。NAD⁺は細胞が取り込んだ栄養分からエネルギーを作り出すことに関わっているが、SIR2はその調節に関与していると考えられている。

活性酸素はエネルギー代謝の副産物としてミトコンドリアから産生されるため、エネルギー代謝が活発になれば、当然、活性酸素の発生量も増えることになる。活性酸素がミトコンドリア自身に障害を与え、ミトコンドリアの機能が低下すると、エネルギー代謝の低下が起こる。エネルギー代謝が低下すれば活性酸素の産生量が減少し、ミトコンドリアへ

の傷害は低下するので老化の速度が抑制されるようになる可能性がある。上述したように、*C. elegans*の電子伝達系の複合体のサブユニットをコードする遺伝子の発現を抑制すると、寿命が延長する^{8,9)}。これらの遺伝子発現の抑制がエネルギー代謝の低下を招いたことから、寿命延長効果は産生される活性酸素の量が減少したためと結論している。

一方、電子伝達系の障害は活性酸素の過剰産生を引き起こし、*C. elegans*を短命にする場合もある¹⁰⁾。これは複合体の傷害が電子の正常な流れを妨げ、電子伝達経路を進めなくなった電子がその場から逸脱して近傍の酸素と反応し、活性酸素を生じるためと考えられる。

この相反する結果はミトコンドリアが複雑な機能をもっていることを示している。電子伝達経路には、電子伝達に直接関わるものと、直接には関与しないが、エネルギー代謝の効率に関与する蛋白質が混在しており、活性酸素の発生量は損傷を受ける蛋白質の種類に依存している可能性がある。電子伝達に直

接関わる蛋白質の傷害は活性酸素の発生を招き、そこには関与しない蛋白質の傷害はエネルギー代謝の低下を招き、その結果、活性酸素の発生は抑制されると推測できる(図7)。

5 カロリー制限と老化

カロリー制限は、酵母、線虫、ショウジョウバエ、マウスなど多くの生物に長寿効果を示す。コネチカット大学の Helfand SL がショウジョウバエでは SIR2 の減少がカロリー制限による長寿効果を阻害することを報告している¹⁹⁾。さらに、SIR2 がインスリン遺伝子やインスリン様シグナル伝達経路に関わる遺伝子の発現調節によりエネルギー代謝に関わっている可能性がある²⁰⁾(図3)。カロリー制限による長寿効果は、エネルギー代謝から発生する活性酸素やカロリー制限のような軽度のストレスによりストレス耐性遺伝子が発現し、その結果、生体に良好な結果をもたらす抗酸化に対するホルミシス効果によるものと考えられている。

6 おわりに

長い間否定されてきた長寿遺伝子が線虫によって発見されたことで、老化の分子遺伝学が急速に発展するようになった。その中でエネルギー代謝や活性酸素と老化の関係が明らかになりつつある。これは以前から、老化研究者や、一般にも以前から広く伝えられている、「カロリー制限が寿命延長効果をもたらす」という話が、科学的に証明されつつあることも示している。残念ながら、インスリン・シグナル伝達経路やミトコンドリアの電子伝達系を含むエネルギー代謝がヒトの寿命や老化に直接関係するよう報告はなく、これを実証することが今後の大きな課題となる。

文献

- 1) Johnson TE : Increased life-span of *age-1* mutants in *Caenorhabditis elegans* and lower Gompertz rate of aging. *Science* 249 : 908-912, 1990
- 2) Klass M, Hirsh D : Non-ageing developmental variant of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 260 : 523-525, 1976
- 3) Larsen PL, Albert PS, Riddle DL : Genes that regulate both development and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 139 : 1567-1583, 1995
- 4) Morris JZ, Tissenbaum HA, Ruvkun G : A phosphatidylinositol-3-OH kinase family member regulating longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 382 : 536-539, 1996
- 5) Kimura KD, Tissenbaum HA, Liu Y et al : *daf-2*, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277 : 942-946, 1997
- 6) Lakowski B, Hekimi S : Determination of life-span in *Caenorhabditis elegans* by four clock genes. *Science* 272 : 1010-1013, 1996
- 7) Stenmark P, Grunler J, Mattsson J et al : A new member of the family of di-iron carboxylate proteins. Coq7 (*clk-1*), a membrane-bound hydroxylase involved in ubiquinone biosynthesis. *J Biol Chem* 276 : 33297-33300, 2001
- 8) Dillin A, Hsu AL, Arantes-Oliveira N et al : Rates of behavior and aging specified by mitochondrial function during development. *Science* 298 : 2398-2401, 2002
- 9) Lee SS, Lee RY, Fraser AG et al : A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. *Nat Genet* 33 : 40-48, 2003
- 10) Ishii N, Fujii M, Hartman PS et al : A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome *b* causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 394 : 694-697, 1998
- 11) Ishii T, Yasuda K, Akatsuka A et al : A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res* 65 : 203-209, 2005
- 12) Schriener SE, Linford NJ, Martin GM et al : Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* 308 : 1909-1911, 2005

- 13) Mitsui A, Hamuro J, Nakamura H et al : Overexpression of human thioredoxin in transgenic mice controls oxidative stress and life span. *Antioxid Redox Signal* 4 : 693-696, 2002
- 14) Orr WC, Sohal RS : Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 263 : 1128-1130, 1994
- 15) Parkes TL, Elia AJ, Dickinson D et al : Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motorneurons. *Nat Genet* 19 : 171-174, 1998
- 16) Honda Y, Honda S : The *daf-2* gene network for longevity regulates oxidative stress resistance and Mn-superoxide dismutase gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J* : 1385-1393, 1999
- 17) Holzenberger M, Dupont J, Ducos B et al : IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 421 : 182-187, 2003
- 18) Tissenbaum HA, Guarente L : Increased dosage of a *sir-2* gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 227-230, 2001
- 19) Rogina B, Helfand SL : *Sir2* mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 15998-16003, 2004
- 20) Grimm A, Moynihan K : 今井眞一郎, 哺乳類におけるSir2の機能とカロリー制限のメカニズム. *実験医学* 22 : 831-836, 2004

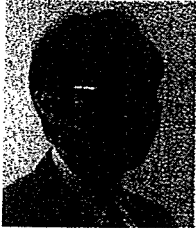
*

*

*

ミトコンドリアと寿命

Mitochondria and longevity



石井直明

Naoaki Ishii

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

◎ミトコンドリアはエネルギー産生に加えて細胞死という重要な役割を担っている。さらに、エネルギー代謝の副産物として発生する活性酸素が直接的あるいは間接的に細胞傷害や細胞死を引き起こす。これが、細胞や生物個体の老化や寿命に大きな影響を与えることから、ミトコンドリアが寿命決定に中心的な役割を果たしていると考えられるようになってきた。



Key word: ミトコンドリア, 寿命, 活性酸素, 細胞死, エネルギー代謝

真核生物の細胞内小器官のひとつであるミトコンドリアはそのなかに小さな環状のDNAをもち、細胞質のなかで独自に分裂することから、細胞に取り込まれた細菌に由来していると考えられている。ミトコンドリアのDNAはRNAや蛋白質をコードし、独自の転写・翻訳系をもつ。しかし、ミトコンドリアの構成と機能に必要な蛋白質をつくる遺伝子は自身のDNAには数少なく、大半は核のDNAにコードされている。おそらく、現在のミトコンドリアはそれ自身ももつDNAに加えて、多数の遺伝子をもつ核のDNAに依存することでミトコンドリア内に電子伝達系を高度に進化させ、単細胞から多細胞生物に進化していくために必要な多量のエネルギー(ATP)の供給を可能にしたと考えられる。

一方で、細胞がエネルギー産生のために酸素を利用したことから、エネルギー代謝の副産物としてミトコンドリアから活性酸素が発生し、それにより細胞自らが傷害を受ける運命を背負うことになった。活性酸素などによる傷害は細胞死(アポトーシス)を引き起こすが、その過程にもミトコンドリアが介在するようになった。活性酸素により

引き起こされる細胞傷害や細胞死が細胞あるいは生物個体の老化や寿命に大きな影響を与えることから、ミトコンドリアが寿命決定に中心的な役割を果たしていると考えられるようになってきた。

サイド
メモ

電子伝達系

電子伝達系は80以上のサブユニットからなり、それを構築するための遺伝子が100以上も必要となる。複合体Iは40以上ものサブユニットからなり、唯一、立体構造が解明されていない大きな複合体である。複合体Iは少なくともひとつのFMN(flavin mono-nucleotide)と8つの硫酸鉄をもち、これらの個所から活性酸素が発生すると考えられている。複合体IあるいはIIから電子が複合体IIIに渡される。複合体IIIのなかではコヒセミキノンが自動酸化されるときに酸素に電子が渡されることで活性酸素が発生すると考えられている。電子が複合体IIIからIVと渡り、ATPは最終段階の複合体Vで合成される。酸素を一番消費するのは電子伝達系の終末酵素であるチトクロームcオキシダーゼであるので、ここから多量の活性酸素が発生しても不思議ではないが、その証拠は得られていない。

酸化ストレスが起因となる老化

活性酸素が老化の原因として注目されているが、細胞内で発生する活性酸素のおよそ90%がエネルギー代謝の過程で電子伝達系の複合体IとIIIから発生し、その量は総酸素消費量の約2%にもなると考えられている。

活性酸素は他の複合体から発生することがある。著者らは、複合体IIのサブユニットのひとつである、チトクロームb大サブユニット(CYT-1)に欠損が生じた線虫[*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)]の突然変異体(*mev-1*)を分離した。この変異は複合体IIから活性酸素の過剰産生を引き起こし、その結果、大気中でも野生株に比べて短命で、酸素濃度に依存して寿命の短縮がみられ、さらにミトコンドリアの形態異常、老化のマーカーとして知られるリポフスチン(老人斑)や酸化蛋白質の早期蓄積などの早老症の兆候を示すようになる¹⁾。さらに、*mev-1*の胚では正常な発生・分化とは無関係な、野生株にはみられない細胞死も多数生じる²⁾。*C. elegans*ではある細胞が胚発生期にアポトーシス(線虫では“プログラムされた細胞死”と定義)を起こし、それが個体の発生・分化に重要な役割を担っていることが知られている。アポトーシスには実行因子である*ced-3*(カスプー3)が必要となり、これが欠損するとアポトーシスは起こらなくなる。*mev-1ced-3*の二重突然変異体では細胞死がまったくみられなくなることから、*mev-1*に生じる過剰な細胞死も線虫がもつプログラムされた細胞死の経路が必要になる。*mev-1ced-3*の平均寿命は*mev-1*単独の寿命より長く、野生株よりも短い²⁾。これは細胞死が寿命短縮に少なからずとも寄与していることがわかる。これらの結果から加齢とともに電子伝達系に傷害が蓄積すれば活性酸素が複合体IやIII以外からも発生するようになり、老化が加速されることが示唆される。

線虫の*cyt-1*遺伝子に相当するSDHC遺伝子に同様の変異をもつマウスのNIH3T3培養細胞でも、ミトコンドリアから活性酸素が過剰に産生されるようになる³⁾。その結果、ミトコンドリアの形態変化や膜電位の低下、酸化蛋白質の蓄積、核のDNA中の oxo^8dG (8- oxo -2'-deoxyguanosine)蓄積量と突然変異頻度の増加が起こる³⁾。培養を続け

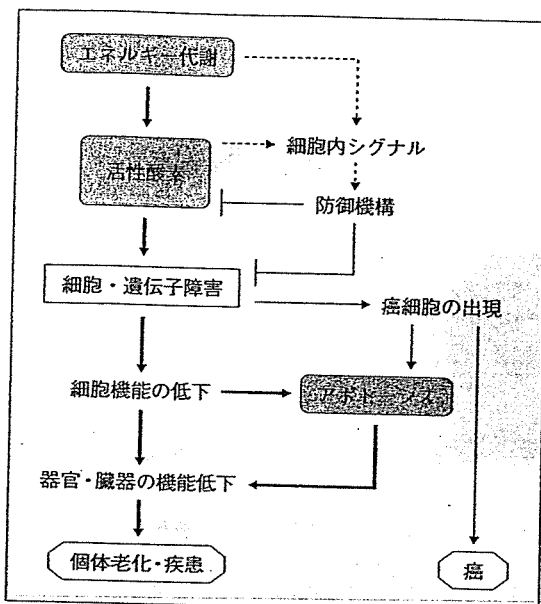


図1 ミトコンドリアの機能がかわる老化や疾患のメカニズム

るうちに細胞はアポトーシスを生じるようになり、増殖速度が低下する。しかし、培養をさらに続けるとアポトーシスを逃れた細胞が形質転換を生じ、増殖能力が復帰する³⁾。これらの細胞をヌードマウス皮下に移植すると、アポトーシスを盛んに起こしている時期の細胞は短時間で貪食されるが、形質転換を生じた細胞を移植すると腫瘍を形成するようになる³⁾。この現象は、個々の細胞の機能低下やアポトーシスにより生じる“老化”と、核DNAの遺伝子変異により生じる“癌化”が活性酸素の傷害を起因とした同じ過程のなかで生じることを示したはじめての例である(図1)。家族性傍神経節腫(パラガングリオーマ)の患者に複合体IIのSDHCやSDHDサブユニットの遺伝子変異が見出されたことから⁴⁾、最近ではこれらの遺伝子は腫瘍抑制遺伝子と定義されている⁵⁾。

ミトコンドリア障害のパラドックス

活性酸素はあらゆる細胞構成分子や細胞小器官を攻撃するが、一番傷害を受けやすい細胞小器官はそれを発生するミトコンドリア自身と考えられる。実際、脳細胞のような非分裂細胞のDNAに加齢とともに蓄積し、DNAの傷害のよいマーカーとなる oxo^8dG の蓄積量が核内のDNAと比較し

てミトコンドリア DNA 中のほうがはるかに多いという報告がある⁶⁾。しかし、1つの細胞にはミトコンドリアが多数含まれており、障害が生じたミトコンドリアは融合することでその障害を補償しあい、その結果、ミトコンドリアの障害はゲノムの障害ほど生物に影響を与えないという考えもあり¹²⁾、これまでミトコンドリア DNA の損傷と老化の関係を明確に示した報告はみられなかった。

しかし最近、ミトコンドリア DNA ポリメラーゼを欠損させたマウスではミトコンドリア DNA 中の突然変異率が3~5倍も上昇し、寿命短縮、体重減少、皮下脂肪の減少、脱毛、脊柱後彎、骨粗鬆症、心肥大などの老化現象が出現したという報告が出たことから、ようやくその関係が明らかにされてきた⁷⁾。その後、このマウスの寿命短縮は活性酸素によるものではなく、アポトーシスによるものと報告されている⁸⁾。しかし、それに対する反論もあるので、結論づけるのはまだ早いようであるが、ミトコンドリアが寿命決定に関与していることには間違いない。

活性酸素はエネルギー代謝の副産物としてミトコンドリアから産生されるため、エネルギー代謝が活発になれば、当然、活性酸素の発生量も増えることになる。前述したように、活性酸素がミトコンドリア自身に障害を与え、ミトコンドリアの機能が低下するとエネルギー代謝の低下が起こる。エネルギー代謝が低下すれば活性酸素の産生量が減少し、ミトコンドリアへの傷害は低下するので、老化の速度が抑制されるようになる可能性がある。現に Kenyon らは、*C. elegans* の電子伝達系の複合体のサブユニットをコードする遺伝子の発現を抑制すると寿命が延長すると報告している⁹⁾。これらの遺伝子発現の抑制がエネルギー代謝の低下を招いたことから、寿命延長効果は産生される活性酸素の量が減少したためと結論している。同様の方法で Ruvkun らは網羅的な実験を行い、寿命延長を示す遺伝子を探索した¹⁰⁾。その結果、それらの遺伝子の多くがミトコンドリアに関連していたと報告している。さらに、電子伝達系の働きを担っているユビキノン(別名コエンザイム Q)の合成酵素であるヒドロキシラーゼが欠損している突然変異体、*clk-1* は長寿の性質をもつこ

とが知られている¹¹⁾。

一方、前述したように、著者らの研究では電子伝達系の障害は活性酸素の過剰産生を引き起こし、*C. elegans* を短命にした。これは、複合体の傷害が電子の正常な流れを妨げ、電子伝達経路を進めなくなった電子がその場から逸脱して近傍の酸素と反応し、活性酸素を生じるためと考えられる。

この相反する結果はミトコンドリアが複雑な機能をもっていることを示している。電子伝達では電子伝達に直接かかわるものと、直接には関与しないがエネルギー代謝の効率に関与する蛋白質が混在しており、活性酸素の発生量は損傷を受ける蛋白質の種類に依存している可能性がある。電子伝達に直接かかわる蛋白質の傷害は、活性酸素の発生を招き、そこには関与しない蛋白質の傷害はエネルギー代謝の低下を招き、その結果、活性酸素の発生は抑制されると考えられる。著者らは最近、活性酸素の発生量は加齢で変化しないことをつきとめている。これは電子伝達系のなかで加齢に伴う傷害により活性酸素量を増やす蛋白質と減少させる蛋白質が混在するために、総発生量としては変化が現れなかった可能性がある。

未来展望

ミトコンドリアはエネルギー産生の器官としての役割に加えて細胞死という細胞の生存に重要な役割を担っている。さらに、ミトコンドリアから発生する活性酸素は加齢とともに増加する白内障、Alzheimer 病などの老人性疾患や癌のみならず、多くの疾患、とくに生活習慣病とよばれている高血圧や肥満などから引き起こされる心臓や脳の血管の梗塞などにも関与していると考えられるようになっている。しかし、ミトコンドリアから発生する活性酸素の量を制御する手段が存在しなかったことから、活性酸素に対する防御機構にかかわる遺伝子の発現阻害、あるいは細胞毒性の強い酸化剤や電子伝達系阻害剤を外部から投与するなど、実際の生体内の反応とは異なる方法を使わざるをえなかった。このような方法ではミトコンドリアがかかわる傷害に対する真の細胞応答を知ることが不可能である。実際、このような外部から人為的に発生させた酸化ストレスと、ミトコン

ドリアから発生した活性酸素によるストレスでは細胞が異なる応答を示す結果を得ている。著者らは電子伝達系への分子遺伝学的な操作により、ミトコンドリアから発生する活性酸素の量を制御することを可能にした。これを使用することにより、より自然に近い状態でミトコンドリアから発生する活性酸素を起因とした老化や疾患のメカニズムを解明することが可能になる。

おわりに

最近、インスリンシグナル伝達系やカロリー制限など、エネルギー代謝が寿命決定に大きく関与していると考えられるようになった。これに、これまで述べてきた活性酸素やアポトーシスの老化への関与を加えて総括してみると、ミトコンドリアの機能がエネルギー産生に加えて細胞傷害や細胞死を通して細胞に大きな影響を与え、細胞さらには個体の寿命を決定している様子が浮かび上がってくる。

文献

- 1) Ishii, N.: Life-span and oxidative stress in nematode. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 34: 61-68, 2003. (review)
- 2) Senoo-Matsuda, N. et al.: A complex II defect

- affects mitochondrial structure, leading to ced-3- and ced-4-dependent apoptosis and aging. *J. Biol. Chem.*, 278: 22031-20036, 2003.
- 3) Ishii, T. et al.: A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res.*, 65: 203-209, 2005.
- 4) Niemann, S. and Muller, U.: Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. *Nat. Genet.*, 26: 268-270, 2000.
- 5) Gottlieb, E. and Tomlinson, P.M.: Mitochondrial tumor suppressors: A genetic and biochemical update. *Nat. Rev. Cancer*, 5: 857-866, 2005.
- 6) Richter, C. et al.: Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 6465-6467, 1988.
- 7) Trifunovic, A. et al.: Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429: 417-423, 2004.
- 8) Trifunovic, A. et al.: Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102: 17993-17998, 2005.
- 9) Dillin, A. et al.: Rates of behavior and aging specified by mitochondrial function during development. *Science*, 298: 2398-2401, 2002.
- 10) Lee, S. S. et al.: A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. *Nat. Genet.*, 33: 40-48, 2003.
- 11) Stenmark, P. et al.: A new member of the family of di-iron carboxylate proteins. Coq7 (*clk-1*), a membrane-bound hydroxylase involved in ubiquinone biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 276: 33297-3330, 2001.

●お知らせ●

■平成18年度公益信託臨床検査医学研究振興基金「藤田光一郎賞」顕彰候補者の応募要項

1. 目的: 臨床検査医学, とくに臨床検査室の管理運営 (laboratory management) 分野において, 顕著な功績があった臨床検査専門家を顕彰します。
2. 名称: 「藤田光一郎賞」
3. 顕彰金額: 毎年1名50万円
4. 対象者: 臨床検査医学を専攻し, 臨床検査室に永年にわたり専従し, とくに臨床検査室の管理運営の分野において研究, 創意, 工夫, 質改善等に関連して顕著な成果を挙げた者とする。原則として, 定年退職後, その業績が確立した時点で授与するものとする。

5. 推薦方法: 推薦者は, 別紙所定の用紙に顕彰候補者名, 生年月日, 略歴, 経歴, 受賞歴, 推薦理由ならびにキーワード, 顕彰候補者の主要文献, 推薦者の氏名, 所属機関, 職位, 連絡先等必要事項をご記入のうえ, 本基金事務局宛ご送付願います。
6. 締切日: 平成18年6月20日必着
7. 選考方法: 本基金の運営委員会または運営委員会が委嘱した選考委員会において選考のうえ, 運営委員会で決定します。

問い合わせ: 公益信託臨床検査医学研究振興基金事務局
〒103-8670 東京都中央区八重洲1-2-1
みずほ信託銀行株式会社 プライベートバイキング企画部福祉信託係
TEL 03-3274-9210, FAX 03-3274-9504

人はなぜ老いるのか —個体老化・寿命のメカニズム—

石井直明¹⁾

要旨：近年飛躍的に進んでいる老化研究の結果から、老化のメカニズムがインスリン・シグナル伝達経路やカロリー制限が関係する「エネルギー代謝」と、ヘリケースやテロメアが関係し、細胞老化やガン化につながる「細胞分裂」に集約されてきた。この両者は一見、つながりがないように思えるが、エネルギー代謝の副産物として産生される活性酸素による傷害が細胞分裂の停止や細胞死、ガン化に関与することや、インスリン・シグナル伝達経路が細胞分裂を制御しているという報告があることから、老化の基本的なメカニズムが1つのネットワークの中に描かれる日が近いことを感じさせる。

索引用語：老化、活性酸素、ミトコンドリア線虫、癌

ヒトの老化の過程

ヒトの老化の過程をみてみると、加齢にともない臓器や器官の機能が低下してくる。これは、これらを構成する個々の細胞の機能低下が反映されたものと考えられる。続いて、臓器や器官は加齢とともに萎縮もおこしてくる。この萎縮は2つのメカニズムが考えられる。1つはこれらを構成している個々の細胞のサイズの縮小であり、もう1つは細胞数の減少である。これまでの研究結果から、原因は細胞数の減少にあるらしい。つまり、加齢にともない臓器や器官を構成する個々の細胞の機能低下がおこり始めるとともに、さらに機能が大きく低下した細胞は細胞死(アポトーシス)を引きおこすことが細胞数の減少(臓器・器官の萎縮)を招いている。その両者の影響で多臓器・器官の機能が低下していく。細胞の機能が低下するからには、その細胞の構成成分に有害な変化がおこっているはずである。つまり、加齢にともない、細胞を構成する成分の有害な変化から始まり、細胞の機能低下、臓器や器官の機能低下、そして最

後に個体へと進む退行的変化、これが老化の基本的な過程と考えられている。

このように老化現象が目に見えたり、身体で感じたりするようになるまでには、長くて複雑な過程を経ることになる。そのため、これまでに分子レベルから個体レベルにいたる多くの老化の仮説が考えられてきた。これらの仮説を大別すると2つに分けることができる。「自然崩壊説(擦り切れ説)」と「遺伝子プログラム説」である。「自然崩壊説」は、すべての物質が物理的な自然崩壊の過程、すなわちエントロピーの増大に向かうと同じように生物も自然崩壊の法則に従っているというものである。これは研究者ばかりでなく一般の人たちにも、一番の有力な説として受け入れられてきた。もう一方の「遺伝子プログラム説」は、発生や分化が遺伝子により調節を受けているのと同じに、老化も遺伝子(寿命遺伝子)により制御されているという説である。両者は長い間、相反する説として議論がなされてきた。

1) 東海大学医学部

Why do peoples age? The mechanisms of organismal aging and longevity
Naoaki ISHII¹⁾

1) Tokai University School of Medicine

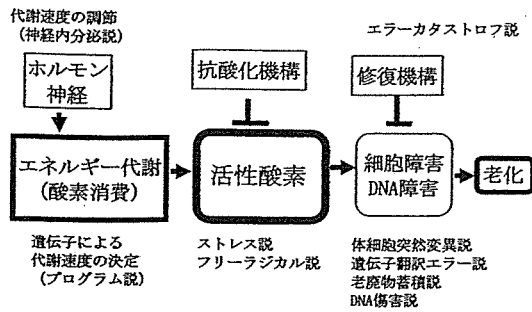


Figure 1. 酸素が関わる老化説
〔「分子レベルで見る老化」講談社ブルーバックスより転載〕

老化にかかわる環境要因

1960年代から70年代にかけて若い動物(細胞)と老いた動物(細胞)との比較研究が盛んにおこなわれたが、その中から生物学的な老化のメカニズムの解明に重要なヒントを与えてくれたものがある。それは、体重の大きい動物(体重の重い動物)ほど長生きする傾向があること、さらに、体重の大きい動物ほどエネルギー代謝が低い傾向があるという結果である。つまり、エネルギー代謝が低い動物ほど寿命が長いことになる¹⁾。

エネルギー代謝は、解糖系から、TCA サイクル、電子伝達系を介して、体温維持のための熱や、生体内の化学エネルギーである ATP(アデノシン三リン酸)を作り出す生化学反応である。多くの生物はこの反応の中で酸素を必要とする。体内に取り込まれた酸素の多くはエネルギー代謝の最終反応で無害な水となるが、一部は無差別に細胞構成生物に傷害を与える活性酸素に変化する。生体内で生じる活性酸素の約90%は、ミトコンドリアに存在する電子伝達系からエネルギー代謝の副産物として発生する。エネルギー代謝が高くなれば、活性酸素の発生量が増加し、それだけ細胞中に生じる傷害が増えることになる。つまり活性酸素が老化の一因と考えられる。この活性酸素を老化仮説の中心に考えると、他の多くの仮説がそこに関連づけられてしまう(Figure 1)。これまで相反する仮説と考えられてきた「自然崩壊説(擦り切れ説)」と「遺伝子プログラム説」も、「環境因子=活性酸素」と「遺伝子=活性酸素を産生するエネルギー

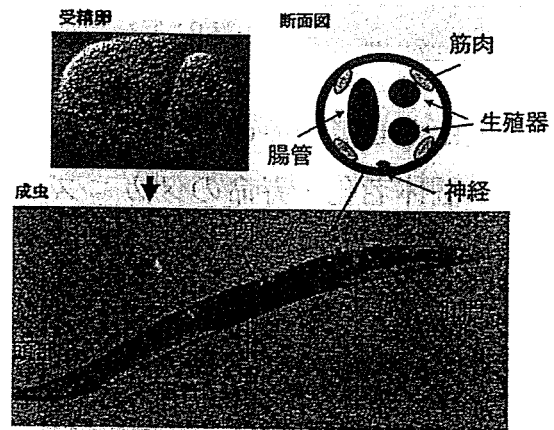


Figure 2. *Caenorhabditis elegans* (C. エレガンス)

代謝を制御する遺伝子」と考えれば、両者は密接な関係があることになる。しかし、活性酸素発生に関わるエネルギー代謝を制御する遺伝子と老化の関係を証明する遺伝学的な研究はなかなか進まなかった。

「酸素が老化の原因である」とする仮説の実証

老化が多くの生物に普遍的な現象と考えられていることから、ヒト以外の動物を利用して共通の法則が見出せるはずである。しかし、遺伝学的手法が確立され、実験に適している寿命をもつ実験動物は少なく、マウスやショウジョウバエなど数種に限られてくる。その中でも、体長1mmあまりの小さな虫で、動物に必要最小限な体制(表皮、神経、筋肉、消化器官、生殖器官)をもち、遺伝学的解析が進んでいることから発生や分化、行動などの研究で注目を集めていた線虫の一種、*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) が、最大寿命が約30日と短く、成虫になった時点で生殖細胞以外の体細胞分裂が終了しているために、非分裂系細胞に蓄積された障害の影響を調べることに最適なことから、老化研究にも使われるようになった(Figure 2)。

われわれは「酸素が老化の原因である」という仮説を遺伝学的に証明するために、*C. elegans* から酸素に高い感受性を示す突然変異体、*mev-1* を分離して、寿命との関係を調べた。*mev-1* では野生株

に比べて、さまざまな生物や臓器・器官で加齢とともに増加する老化の良い指標である酸化タンパク質やリポフスチン（老人斑）が早期に出現し、寿命が短縮した。mev-1の原因遺伝子はエネルギー代謝に関与する、ミトコンドリアの内膜に存在する電子伝達系IIのサブユニットの1つ、シトクロームb大サブユニットをコードしていた²⁾。このタンパク質の異常は、電子伝達系内で複合体IIからIIIへの電子の流れを妨げ、ここから逸脱した電子が近傍の酸素と出会うことにより活性酸素の一種であるスーパーオキシド (O_2^-) がミトコンドリアから過剰に産生されていることを確認している³⁾。この研究により活性酸素が老化を促進することを世界で初めて分子遺伝学的に証明した。

これと同じ変異をもつ mev-1 培養細胞 (NIH3T3 由来) も活性酸素を過剰に発生し、培養を継続するにしたがって細胞分裂が遅延してアポトーシスをおこすようになった。さらに培養を継続すると、アポトーシスから逃れた細胞の一部は増殖が活発になり、この細胞をヌードマウスの皮下に移植すると腫瘍を形成した。この結果は、活性酸素が細胞機能の低下やアポトーシスによる「老化」と「ガン化」に同じ経路で関与していることを示唆している⁴⁾。

エネルギー代謝と老化

寿命に関わる遺伝子として世界で初めて認められたのが、1990年に *C. elegans* から分離され age-1 と名づけられた突然変異体である。この遺伝子の変異は線虫の最長寿命を1.5倍以上延長させる。これがきっかけで、寿命が延長する多くの突然変異体が分離されてきた⁵⁾。もう1つの長寿突然変異体、daf-2 はインスリン様物質の受容体であり、age-1 はその下流で働く PI3 キナーゼという酵素を作る遺伝子であった。age-1 や daf-2 の遺伝子解析から明らかになったインスリン・シグナル伝達系がエネルギー代謝を制御していることはよく知られている (Figure 3)。現在では、インスリン・シグナル伝達系を介した寿命制御のメカニズムは *C. elegans* のみならず、ショウジョウバエ、マウス、ヒトと、多くの生物に共通であると考えられるようになってきた。これらの遺伝子の突然変異体は

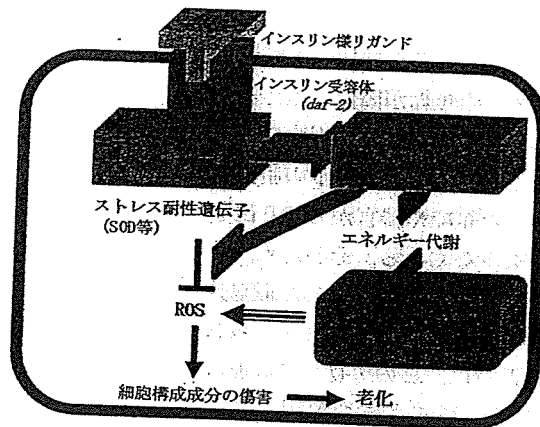


Figure 3. 線虫の老化モデル

エネルギー代謝に関係することに加えて、酸素に対して耐性を示すことから、前述したエネルギー代謝やその副産物である活性酸素と老化の関係が明らかになるものと考えられる。

抗酸化と老化

活性酸素は細胞毒性が強いため、生物はそれに対する防御機構を進化させてきた。これらの中には活性酸素を除去するスーパーオキシド・デスムターゼ (SOD)、カタラーゼ、グルタチオン・ペルオキシターゼ (GPx) などの酵素や、ビタミンCやEなどの低分子物質などが知られており、寿命が長い動物ほど、これらの酵素や低分子物質を多くもつことが知られている。*C. elegans* のインスリン・シグナル伝達系の下流に存在する daf-16 (ヒトでは HOXO) と呼ばれる転写因子は発生や老化のみならず、抗酸化に関わる遺伝子も制御していると考えられており (Figure 3)、現にマンガン-SOD の発現量が daf-2 突然変異体で上昇していることが知られている。個々の寿命は活性酸素の発生量とそれに対する防御機構の能力とのバランスにより決定されている可能性がある。

活性酸素以外の老化の原因

染色体の末端はテロメアと呼ばれる領域があり、DNA複製がおこなわれる度に少しずつ短くなる。これは酵母より高等な生物の細胞が線状のDNAをもつことからおこる現象であり、大腸菌のように環状のDNAをもつ生物ではおこらな

い。ただし、高等動物の細胞の中でも、生殖細胞とガン細胞にはテロメアの長さを維持する機構が備わっている。テロメアの短縮が閾値を超えると細胞分裂が停止するため、それぞれの細胞には分裂回数が決まっている。たとえば、ヒトの胎児では60回ほどで、加齢した組織や器官から取り出した細胞ではこれよりも少なくなる。そのため、体内時計のようにテロメアの長さに依存した細胞分裂の回数が個体の老化を調節していると考えられてきた。しかし、最近では、このテロメアは加齢ではそれほど短縮せず、さまざまな要因によるDNAの障害と関係するといわれている。マウスがヒトよりもはるかに最長寿命が短いにもかかわらず、テロメアはヒトよりも長いことも、テロメアが個体老化に反映しないとする1つの理由になっている。

ヒトの遺伝性疾患の中には、老化現象が若い時期から現れる早期老化症候群（早老症）が存在する。その中でウエルナー症候群の研究が一番進んでいる。白内障、インスリン非依存的糖尿病、骨粗しょう症、動脈硬化や悪性腫瘍などの老化の兆候が20代から30代でみられるようになる疾患である。これまで約1000名の患者が世界中で見出されているが、そのうち800名以上が日本人である。この原因遺伝子がDNAの複製、転写、組み換えや修復時にDNAが絡まないように巻き戻す機能をもつヘリケースという酵素であった。DNA複製の阻害は細胞分裂に支障をきたし、転写や組み換え、修復の異常は細胞の維持、生存に支障をきたす。ヘリケース遺伝子を欠損させたウエルナー症候群のモデルマウスの作成は最近まで成功しなかったが、この遺伝子欠損マウスのテロメアを人為的に短縮させると、ヒトと同じ早老症の兆候が現れるので、テロメアは染色体機能の安定性にかかわっていることが考えられる。早老症の中で、10代で発症するハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群がある。この疾患の原因遺伝子が、染色体を包む核膜の構成成分のラミンであることが最近明らかになった。ヒトの早老症の研究から総合的に考えると、染色体の安定性は、細胞老化やガン化につながる「細胞分裂」の正常化

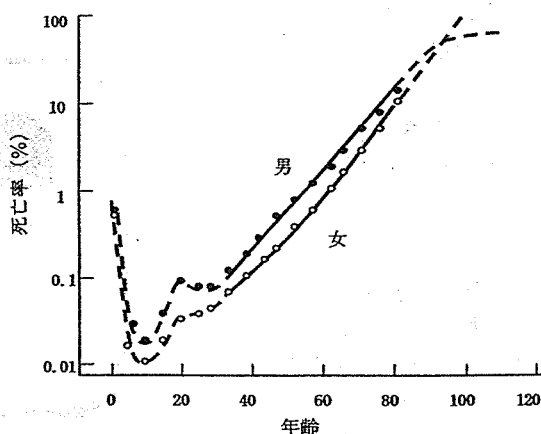


Figure 4. 日本人の年齢別死亡率曲線 (昭和60年) (「老人指標データブック」より (朝倉書店))

に重要な役割を果たしていることがわかる。

Sir2という遺伝子は染色体の結合タンパク質であるヒストンの脱アセチル化により染色体の活性を調節している。酵母では、Sir2の活性が高くなると、染色体の活性が抑制され染色体が安定化する。逆にSir2の活性が低いと不安定化が進み、DNAからrDNAが放出されて老化が亢進する。このSir2を過剰発現した*C. elegans*は長寿になる。このメカニズムは未解決だが、染色体の安定性に関与するとともに、このSir2がインスリン・シグナル伝達系やカロリー制限に関与しているという報告がある。

マウスの早老症のモデルには、老化促進マウス (Senescence Accelerated Mouse; SAM) とクロトーマウスが存在する。SAMは単一の遺伝子ではなく、複合的な遺伝子群の影響により症状が現れると考えられていて、それらの遺伝子はいまだに同定されていない。一方、クロトーは幼児期からすでに老化の兆候がみられるマウスで、成熟後に始まるヒトの老化とはその発現時期が異なっている。クロトーの原因遺伝子産物はビタミンDを介してカルシウムの恒常性 (ホメオスタシス) に関わっていると考えられていて、体全体の調節機構が老化に関与していることを示唆している。前述したように、これら早老症と正常な老化のメカニズムが同一であることを証明することは難し

い。これを証明するには、正常老化の過程でも、加齢とともにこれらの遺伝子産物の量が低下するかどうかを調べる必要がある。

アンチエイジング (抗老化) を考える

Figure 4 は死亡率曲線 (ゴンベルツ曲線) を示し、各年齢の集団が1年以内に死亡する頻度を表している。日本人の死亡率は16歳で最小になり、その後直線的に上昇していく。その直線の交点は100歳まで達している。これが日本人の「最長寿命」である。しかし、日本人の最長寿命は120歳代であることが知られており、そこには約20歳の隔りがある。この死亡率曲線をよくみると、曲線は80歳を超えると傾斜が緩やかになっていく。これは長寿を達成できる日本人は長寿遺伝子をもっていることを示唆している。この長寿遺伝子を突き止めれば健康的な長寿が実現する可能性がある。

この曲線は、すべての日本人が100歳以上の寿命をもつことが可能であることを示している。しかし現実には日本人の平均寿命は80歳代であり、多くの人たちは100歳まで到達しない。老化の研究者は、誰にでも生じる「生理的老化」以外に、誰にでも生じるわけではないが、加齢とともに増える疾患を「病的老化」として考えている。生理的老化による死亡は老衰であるが、これは総死亡数の3%に過ぎない。多くの人たちは老化でなく、病的老化で亡くなるために100歳まで行き着かない。日本人の総死亡数の60%が脳と心臓の血管障害とガンの疾患であり、これらの病的老化による疾患を克服すれば、「平均寿命」は今よりもさらに延びることになる。最近の研究から、活性酸素は生理的老化のみならず、病的老化にも密接に関与していることが明らかになってきた。生体内の活性酸素を制することは、寿命や老化を制することと言っても過言ではないかもしれない。

前述したように生体内では活性酸素の90%がミトコンドリアの電子伝達系から発生すると考えられており、これが活性酸素による老化や疾患の主因となるはずである。しかし、これまでミトコンドリアから活性酸素を過剰発生させる方法が見出せなかったことから、バラコートのような酸化

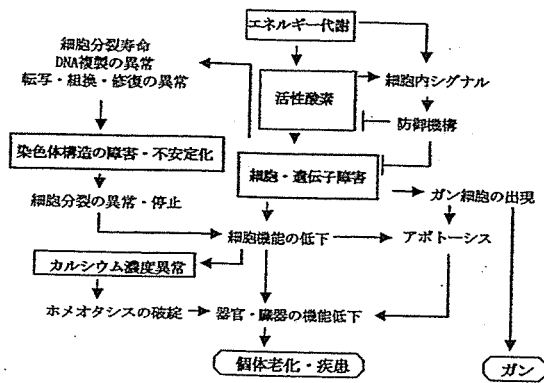


Figure 5. 老化とガン化のメカニズム

剤の外部からの投与、抗酸化酵素の抑制、細胞毒である電子伝達系阻害剤による強制的な活性酸素の過剰発生など、正常な細胞では生じることがない条件での実験がおこなわれてきた。ミトコンドリアから活性酸素が過剰に発生する *mev-1* 培養細胞と外部から酸化ストレスを与えた細胞では異なる生体内反応を示すことから、これまでの実験条件は生体反応として細胞内でおこる酸化ストレスを反映しないと考えられる。最近、われわれはミトコンドリアから活性酸素が過剰に発生する *mev-1* マウスの構築に成功した。このマウスが、正常な細胞で常時生じているミトコンドリアからの内因性酸化ストレスが原因の老化やさまざまな疾患のモデル動物になる可能性がある。

統一されてきた老化のメカニズム

老化のメカニズムがインスリン・シグナル伝達経路やカロリー制限が関係する「エネルギー代謝」と、ヘリケースやテロメアが関係し、細胞老化やガン化につながる「細胞分裂」に集約されてきた。この両者は一見、つながりがないように思えるが、エネルギー代謝の副産物として産生される活性酸素による傷害が細胞分裂の停止や細胞死、ガン化に関与することや、インスリン・シグナル伝達経路が細胞分裂を制御しているという報告があることを考えると、両者は密接に関係していることになる。これまでの研究成果をすべて結びつけると、老化の基本的なメカニズムを1枚の図として描くことが可能になる (Figure 5)。

健康的な長寿実現のための研究戦略

「病的老化」には生活習慣病が大きく関わっている。これを克服するには、生活習慣病に関わる環境因子や遺伝子を同定し、健康の維持や増進のために活用することが必要であろう。さらに100歳を超して長生きするためには「長寿遺伝子」の発見が必要になる。もし、高い遺伝子発現により長寿を実現できる遺伝子が存在するならば、その発現を誘導するような物質を探すことになるだろう。

「アンチ・エイジング(抗老化)」はヒトの心身ともに健康的な長寿の実現を目指すものであるが、老化を引き起こすメカニズムを明らかにしないかぎり、科学的根拠に乏しい勘や経験によって抗老化の方法を模索せざるをえない。分子遺伝学にもとづいた老化のメカニズムの研究は、確かなヒトの健康的な長寿実現の方法を見出してくれるに違いない。

文 献

- 1) 石井直明: 分子レベルで見る老化. ブルーバックス, 講談社, 東京, 109-112: 2001
- 2) Ishii N, Fujii M, Hartman PS: A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome *b* causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 394: 694-697: 1998
- 3) Senoo-Matsuda N, Yasuda K, Tsuda M, et al: A defect in the cytochrome *b* large subunit in complex II causes both superoxide anion overproduction and abnormal energy metabolism in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem* 276: 41553-41558: 2001
- 4) Ishii T, Yasuda K, Akatsuka A: A mutation in the *SDHC* gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Mutat Res* 65: 203-209: 2005
- 5) 石井直明: 線虫と長寿遺伝子. アンチ・エイジング医学 1: 160-163: 2005

〔論文受領, 平成17年8月26日〕
〔受理, 平成17年9月15日〕

ミトコンドリアから生じる活性酸素が起因となる 老化と老年性疾患

石井 恭正, 石井 直明

正常細胞における細胞内酸化ストレスは、その大部分がミトコンドリアから発生する活性酸素に起因する。この活性酸素は、ミトコンドリア電子伝達系から漏出した電子が近傍の酸素と反応することで生じると報告されている。我々の研究室では、ミトコンドリア電子伝達系複合体IIのシトクロム**b**大サブユニット (CYT-1, SDHC) にアミノ酸点変異を有した線虫 *C. elegans* の *mev-1* 変異体 (CYT-1 G71E) およびマウス胎児細胞の SDHC E69 細胞株 (SDHC V69E) を単離・樹立した。これらの変異体ではミトコンドリアから過剰の活性酸素が生じていることを明らかにし、これに起因した表現型として多数の解析結果を報告してきた。本総説では、これら変異体の表現型を基に明らかにされてきた細胞内酸化ストレス障害により引き起こされる細胞老化および神経変性疾患、がんを中心に紹介する。

1. はじめに

活性酸素種 (ROS) による生体への酸化ストレス障害は、その発生源により生体外および生体内酸化ストレスに大別される。さらに、生体内酸化ストレスは細胞外および細胞内酸化ストレスに分類され、細胞内酸化ストレスの大部分は、ミトコンドリアから産生される活性酸素に起因すると考えられている。この活性酸素発生は、ミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系から漏出した電子が近傍の酸素と反応することによって生じると考えられている^{1,2)}。

細胞外酸化ストレスは免疫機能の恒常性維持機構などを担い、細胞内酸化ストレスは神経細胞などの細胞分化・増殖やアポトーシス誘導に関与し、さまざまな生体の恒常性維持機構を担っていることが報告されている³⁻⁵⁾。その一

方で、過度の酸化ストレスは細胞内構成成分に障害を生じ、神経変性疾患やがんなどのさまざまな疾患発症や老化の原因になると報告されてきた^{6,7)}。本稿では、これまで我々が解析してきた変異体の表現型解析の結果を中心に、ミトコンドリアから生じる活性酸素による細胞内酸化ストレス障害が起因となって生じる老化や老年性疾患について紹介したい。

2. ミトコンドリア電子伝達系と活性酸素

ミトコンドリア内膜には五つの複合体が存在し、複合体 I (NADH-ユビキノン酸化還元酵素)、II (コハク酸-ユビキノン酸化還元酵素)、III (ユビキノール-シトクロム**c**酸化還元酵素)、IV (シトクロム**c**酸化酵素) 間で、電子伝達反応を担っている。この反応は、TCA 回路で生じる NADH およびコハク酸を基質として生じる電子を基にミトコンドリア内膜にプロトン濃度勾配を生じさせ ATP 合成を担っている。NADH を基質として生じる電子は複合体 I から III へ、コハク酸を基質として生じる電子は複合体 II から III へとユビキノンを介し伝達され、複合体 IV で酸素を還元し水を生成している (図1)。従来、この電子伝達を担う複合体 I と III とから漏出した電子が近傍の酸素と反応することでミトコンドリアから活性酸素が発生

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 (〒259-1143 神奈川県伊勢原市下糟屋 143)

Aging and age-related diseases caused by superoxide anion production from mitochondria

Takamasa Ishii and Naoaki Ishii (Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, 143 Shimokasuya, Isehara, Kanagawa 259-1143, Japan)

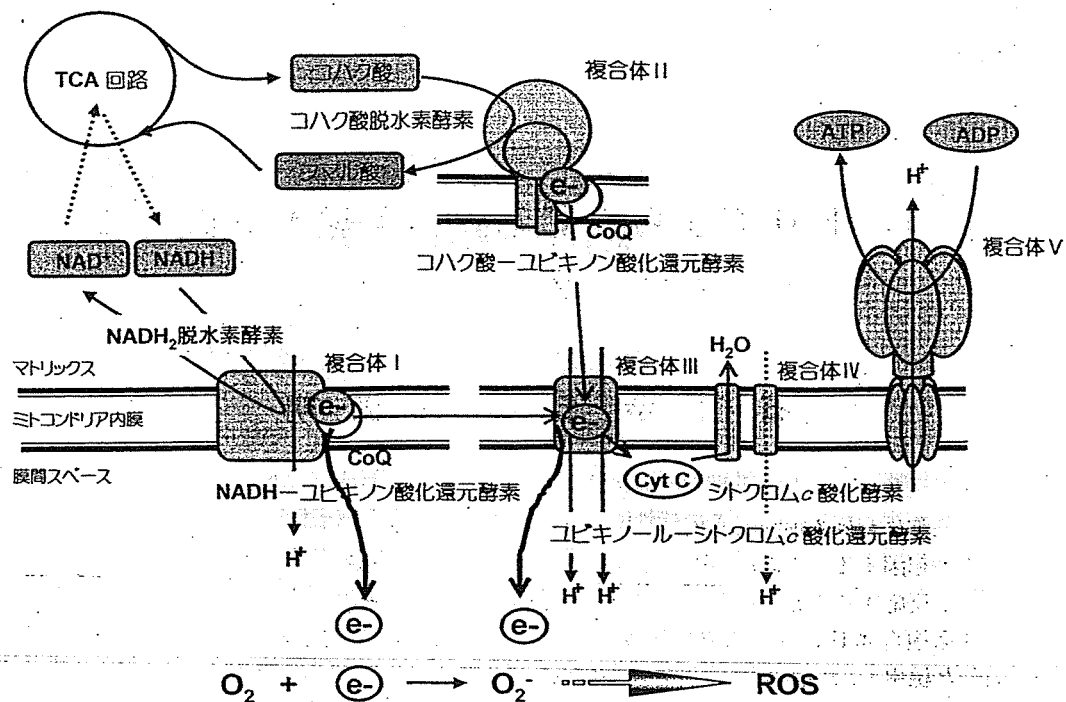


図1 ミトコンドリア電子伝達系と活性酸素発生

するとされてきた^{1,2)}。しかし、近年では複合体IIからも同様にして活性酸素が発生すると考えられてきた。

現在、このような活性酸素による生体への影響を解明しようとする研究は、電子伝達系阻害剤やROSを強制発生するための薬剤あるいはROSを直接暴露するなど間接的な手法によって行われてきた。しかし、これらの研究は、生体を致死とし、生細胞内や生体機能上での活性酸素の影響を明らかにすることは困難であり、そのほとんどの研究成果は生化学的な分野に限られてきた。また、これらの手法において作り出される酸化ストレスは、生体内での通常の酸化ストレスに比べ、はるかに過剰となり、ゆっくりとした生体の変化を詳細に捉えることは不可能であった。すなわち、より正常な生体環境に近い条件でミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生させる手段が存在しなかったことで、ミトコンドリアを標的にした酸化ストレス研究は困難を強いられてきた。

その中、我々は *C. elegans* を用いた研究から、遺伝学的にミトコンドリア電子伝達系に異常を生じたことで、ミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生する *mev-1* 変異体を取得し、より自然な生体環境に近い条件での細胞内酸化ストレスの生体への影響を解析することに成功した^{8,9)}。

3. *C. elegans*, *mev-1* 変異体

1) 酸素高感受性短寿命の *C. elegans*, *mev-1* 変異体

mev-1 変異体はメチルピオロゲン (パラコート) に高い感受性を示す短寿命突然変異体として単離され、酸素濃度

依存的に早期老化症状を呈することから、酸素高感受性短寿命の老化モデル動物として確立された¹⁰⁻¹²⁾。この変異体の原因遺伝子は電子伝達系複合体IIの *cyt-1* であり、その遺伝子産物 CYT-1 (DDBJ database accession numbers L26545-1 for *C. elegans*) にアミノ酸点変異 (G71E) を生じていた⁸⁾。電子伝達系複合体IIは染色体DNAにコードされた四つのサブユニットから構成され、コハク酸脱水素酵素 (succinate dehydrogenase (SDH)) 活性を有するフラビンタンパク質 (Fp)、鉄-硫黄タンパク質 (Ip)、ミトコンドリア内膜に局在するための3回膜貫通型タンパク質であり、コハク酸-ユビキノン酸化還元酵素 (succinate-CoQ oxidoreductase) 活性を担うシトクロム *b* 大サブユニット (CYT-1, SDHC) および小サブユニット (SDHD) をもつ (図2)。その結果、CYT-1 サブユニットに点変異を有する *mev-1* 変異体では、コハク酸-シトクロム *c* 酸化還元酵素活性 (複合体II-III酸化還元酵素活性) の低下が生じ、代謝性乳酸アシドーシスを伴うエネルギー代謝異常が確認された (図2)。また、酸素高感受性の原因が、大気から由来する酸素によるミトコンドリア活性酸素発生の上昇によるものであることが確認された。これらの異常から、この変異体ではミトコンドリア構造や機能異常を伴う過剰なアポトーシスを誘導することで短寿命となることが明らかにされた^{9,13)}。以上の結果から、*mev-1* 変異体はミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生する早老化モデル動物として、さらにはミトコンドリア病をはじめとしたミトコンドリア機能不全に起因する様々な疾患モデル動物と