

# Studies on the effect of marine carotenoid, astaxanthin, on age-related diseases which caused by mitochondrial dysfunction

ミトコンドリア機能不全による加齢性疾患に対する海洋性カロテノイド類アスタキサンチンの効果に関する研究

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科  
SUN LUCHUANYANG

第1章では、本研究の背景と目的を説明した。世界的に見て、総人口に占める65歳以上の者の割合（高齢化率）は増加しており、これまで高齢化が進行してきた先進地域だけでなく、開発途上地域においても、高齢化が急速に進展すると見込まれている。高齢（加齢）に伴い身体機能は低下することが知られている。加えて、老化が進行するにつれて、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、サルコペニア（老化による筋萎縮）、アルツハイマー病、黄斑変性症など加齢性疾患との関連性が高まっていく。過去数十年にわたるモデル生物やヒトにおける複数の研究より、ミトコンドリア機能が老化プロセスに重要な役割を担っていることが報告されている。ミトコンドリア機能不全となると慢性的な酸化ストレスが蓄積し、加齢性疾患に罹患する。従って、ミトコンドリア機能を維持することが加齢性疾患の予防の一助となりうる。アスタキサンチン（AX）は海洋性カロテノイドの一種であり、微細藻類、酵母、甲殻類、魚の表皮などに存在し、抗酸化作用、抗炎症作用、抗疲労作用など多くの機能を有することが明らかにされている。その中でも、活性酸素を消去する作用（抗酸化作用）が広く知られており、ビタミンEと比較すると1000倍もの強い抗酸化力を示すことが報告されている。これはAXがその構造内に疎水基と親水基を有することで、細胞膜に貫通するように存在し、効率的に抗酸化能を発揮するからであることが示されている。興味深いことに、AXは膜構造を有しているミトコンドリアに比較的集積しやすいということが報告された。本研究では、ミトコンドリア機能不全モデルを用いて、加齢性疾患に対する海洋性カロテノイド類アスタキサンチンの効果を明らかにすることを目的とした。

第2章では、骨格筋内ミトコンドリアにおけるAXの作用とミトコンドリア障害によって引き起こされる筋萎縮に対するAXの効果について調べた。C57BL/6Jマウスに普通食もしくは重量比0.2%（AX量0.02%）で配合したAX食を4週間与え、筋萎縮モデルとして尾部懸垂を2週間行いAXの効果の評価した。また、ヒラメ筋由来Sol8筋細胞を用いて、AXのミトコンドリアにおける作用機序を検討した。普通食群では、尾部懸垂により、筋重量の減少が認められた。これに対して、AX食群では、筋萎縮モデルを施しても遅筋線維タイプI、中間筋線維タイプIIa線維が大部分を占めるヒラメ筋では筋重量減少及び筋線維横断面の減少が認められなかった。さらに、AX食群では尾部懸垂によって誘導されたミトコンドリア由来活性酸素種ROSの産生やミトコンドリア呼吸鎖複合体タンパク質量の減少を有意に阻害することがわかった。加えて、筋萎縮によって障害されたミトコンドリア生合成遺伝子群の発現レベルはAX摂取により改善された。Sol8筋管

細胞を用いた解析において、AX は以前の報告同様ミトコンドリア画分においても検出することができた。さらに、AX はミトコンドリア呼吸鎖複合体 III 由来活性酸素の産生を抑制し、ミトコンドリア呼吸鎖複合体障害によっておこる膜電位の減少を改善することがわかった。以上の結果より、AX はミトコンドリア由来の酸化ストレスを軽減することにより、ミトコンドリア機能を保持することで筋萎縮予防に効果的であることが示唆された。

第 3 章では、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞を用いて、ミトコンドリア機能不全によって誘導された免疫障害に対する AX の効果について調べた。AX は様々な細胞で抗炎症効果を有することが報告されているが、そのメカニズムは多岐にわたる。一方、マクロファージのミトコンドリア代謝に対する AX の効果に関する報告はこれまでにない。まず初めに、RAW264.7 細胞をリポ多糖 (LPS) にて刺激し、ミトコンドリアを介した炎症性シグナルに対する AX の作用機序について解析した。その後、エネルギー代謝に対する AX の効果を測定した。LPS 刺激により炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の発現と分泌およびミトコンドリア由来 O<sub>2</sub> 産生が有意に上昇した。これに対して、AX を処理した細胞では LPS 刺激によって増加した IL-1 $\beta$  およびミトコンドリア由来 O<sub>2</sub> 産生が有意に抑制された。一方、ミトコンドリア膜電位は LPS 刺激により有意に低下したが、AX を処理した細胞では常に高い状態が保たれていた。これは、AX がミトコンドリアの恒常性を維持することで、ミトコンドリア機能障害を回避することが考えられた。さらに、AX は、LPS 刺激によって引き起こされるミトコンドリア呼吸鎖複合体 I、II、および III タンパク質量の減少を抑制した。特に、AX は LPS 刺激によるミトコンドリアのコハク酸デヒドロゲナーゼ (SDH: ミトコンドリア呼吸鎖複合体 II) 活性低下や SDH 複合体サブユニット B の発現量減少を有意に抑制した。さらに、SDH の阻害剤である Atpenin A5 を用いた解析により、AX は SDH-HIF-1 $\alpha$  シグナル伝達経路の上流にあるミトコンドリアに直接作用し、IL-1 $\beta$  発現を阻害することがわかった。次に、AX がミトコンドリア機能に関与することから細胞内エネルギー代謝を測定した。LPS 刺激により細胞は解糖系に依存したエネルギー代謝を示すが、AX を処理した細胞は、酸化的リン酸化に依存したエネルギー代謝を示すことがわかった。これらの結果は、AX が免疫細胞のミトコンドリアのエネルギー代謝に作用し、免疫応答を調節することが示唆された。従って、AX が加齢によりミトコンドリア機能が低下した疾患において重要な役割を果たしていることが考えられた。

第 4 章では、総合考察を行った。本研究結果において、AX はミトコンドリアに局在することがわかった。AX のミトコンドリア機能における作用機序として、ミトコンドリア呼吸鎖複合体タンパク質に作用し、それに続くシグナル伝達経路を介した遺伝子発現やエネルギー代謝を制御することを示した。従って、ミトコンドリア機能不全により発症する加齢性疾患において、AX は有益な効果を示すであろう。高齢化が急速に進む現在において、通常の食事に加えて食事性 AX のサプリメントは加齢によって問題となってきた疾患を予防するための一助になりうると思われる。