

# 金 湘殷 (Sang-Eun Kim) 論文内容の要旨

## 主 論 文

Upregulation of cytochrome c oxidase subunit 6b1 (Cox6b1) and formation of mitochondrial supercomplexes: Implication of Cox6b1 in the effect of calorie restriction

(シトクローム C オキシダーゼサブユニット 6b1 (Cox6b1) 及びミトコンドリア呼吸鎖スーパーコンプレックス形成の上昇について: カロリー制限における Cox6b1 の関与)

Sang-Eun Kim, 森 亮一, 小松 利光, 千葉 卓哉, 林 洋子, Seongjoon Park, Michiru D. Sugawa, Norbert A. Dencher, 下川 功)

(AGE・2015 印刷中)

[ページ数 26 (図を含まず)]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員: 下川 功 教授)

## 緒 言

適度な食餌制限 (カロリー制限、CR) は、生活習慣病罹患リスクの減少、老化の遅延等に効果的であることが知られている。近年の研究成果により、CR 効果は、酵母、線虫等の下等生物からマウス、サル、ヒトの高等生物にいたるまで、寿命延長・悪性腫瘍発生リスク減少等を導くことが明らかとなった。CR 効果に関与する分子として、インスリン様増殖因子等に関わる栄養代謝シグナル伝達系の転写因子、シグナル伝達分子、受容体群の研究が進んでいるが、不明な点も多い。

ミトコンドリアは、真核生物の細胞に含まれる細胞小器官で、エネルギー合成とともにアポトーシス、ストレス応答に関与している。従って、CR における抗老化作用にも関与していると考えられるが、その詳細は不明であった。我々は、CR ラット肝臓を用いたミトコンドリアプロテオーム解析によって、呼吸鎖複合体 IV のサブユニット 6b1 (Cox6b1) が、発現誘導されていることを明らかにした (Dani D et al, *Biogerontology*, 11, 321-334, 2010)。本研究では、CR における Cox6b1 の関与、特にミトコンドリア呼吸鎖スーパーコンプレックスの形成とその機能について検討した。

## 対象と方法

### 1. CR マウスを用いた解析

*In vivo* における解析を行うため、CR 群には、生後 12 週齢から自由摂食 (AL) マウス (C57BL/6J) の平均摂食量の 70% 食餌量を生後 12 ヶ月まで与えた。その後、肝臓を摘出し、CR 及びミトコンドリア機能関連分子の解析を行った。特に、スーパーコンプレックスの形成について、Blue-native polyacrylamide gel electrophoresis (BN-PAGE)/SDS-PAGE、免疫ブロット法を用いて解析した。

### 2. 培養細胞を用いた解析

*In vitro* における Cox6b1 の分子メカニズムを解明するため、マウス胎児皮膚由来 NIH3T3 細胞株を用いて機能解析を行った。Cox6b1 過剰発現細胞株の樹立及び siRNA による Cox6b1 発現抑制を行い、分子細胞生物学的手法、プロテオーム解析を用いて関連分子の発現動態、フラックスアナライザーによるミトコンドリア呼吸機能の解析を行った。

## 結 果

1. BN-PAGE/SDS-PAGE によって、CR マウス肝臓におけるスーパーコンプレックスの形成が、対照群の AL マウスと比較して増加していることを見出した。そして、スーパーコンプレックス中に Cox6b1 が存在することを確認した。

2. Cox6b1 過剰発現細胞では、酸素消費量、ATP、シトクローム C オキシダーゼ活性が増加していた。加えて、酸化ストレスへの耐性も増強していた。一方、これらは Cox6b1-siRNA によって低下することを確認した。Cox6b1 過剰発現細胞では、活性酸素も増加していたが、同時に活性酸素の防御機構に関与する分子である Nrf2 の発現誘導も増強していた。

3. BN-PAGE/SDS-PAGE 及び免疫ブロット方を用いて、Cox6b1 過剰発現細胞では、ミトコンドリアスーパーコンプレックスの形成が促進されていることを明らかにした。*In vivo* における CR の影響とは異なる部分があった。

## 考 察

本研究は、CR における抗老化機構に Cox6b1 によるスーパーコンプレックス形成が関与していることを示唆した。しかしながら、Cox6b1 の過剰発現だけでは、*in vivo* における CR の効果を完全には説明できなかった。今後は、Cox6b1 以外のサブユニットの関連性を検討する必要がある。さらに、本研究は、Cox6b1 および呼吸鎖スーパーコンプレックスの形成が老化関連疾患の発症メカニズムに関与している可能性を示唆しており、今後、新たな疾患研究の展開を期待できる。