

【総説】

基礎研究から臨床研究への橋渡しとしての mTOR 栄養応答と老化制御

伊藤 孝

理化学研究所 環境資源科学研究センター

要約

社会で老化を遅らせる確立された科学技術はいまだない。カロリー制限は実験室内で真核生物の寿命を延長できる再現性の高い方法であり、寿命制御に関与する栄養応答センサーも複数同定されている。研究結果がヒトに応用可能か検証する臨床試験が複数行われている。カロリー制限に関連した経路への介入では mTOR 阻害剤と、NAD⁺ の補充剤、AMPK 活性化剤メトホルミンにおいて健常者で抗老化指標・老化関連疾患改善をエンドポイントとした臨床試験が行われている。現状では mTOR 阻害剤により健常者の免疫老化が改善することが示されているが、他の介入と老化の関係は明確になっていない。mTOR 阻害はマウスをはじめとしたモデル生物で多岐に渡る老化の兆候を遅延する。mTOR が構成する 2 つの複合体のうち、mTORC1 下流因子の抑制が寿命延長の要因となることが多く報告される一方、mTORC2 下流因子の阻害も寿命延長に寄与することがマウスで報告されている。mTOR 阻害剤ラバマイシンは解糖系やミトコンドリア等のエネルギー代謝経路への強い作用があり、そのことにより細胞内、組織レベルでの代謝リプログラミングが実現される。そのような大規模な代謝シフトが長寿の分子機構の要因となっていると可能性がある。

キーワード : Clinical trials targeting aging, Calorie restriction, mTOR, AMPK, NAD⁺

1 基礎研究から社会実装へ ①カロリー制限

老化研究はカロリー制限による寿命延長の発見を土台として発展してきた。カロリー制限は酵母^[1]、線虫^[2]、ハエ^[3]、マウス^[4]、ラット^[5]、アカゲザル^[6]で寿命延長し、加齢に伴う疾患発症や機能低下も遅延する。1935 年のラットでの効果発見以来、カロリー制限は現状ではほぼ唯一の抗老化の理論と言える。他の多くの提唱されている説は、真核生物に共通した寿命制御の原理を普遍的に説明するに至っていない。一方でカロリー制限の中身は、必須栄養素欠乏症にならないようにする中で、自由摂取の時より総カロリー摂取を減らすと相対的に寿命が延びる、というものである。ヒトでも多くの場合は慢性的なカロリー過多を伴う 2 型糖尿病やその予備群で短寿

命となり、かつ食事介入が改善効果があることは世界中の医療で示されている点で、富栄養化で飼育されるモデル生物でのカロリー制限の効果と類似性が認められる。カロリー制限の中で、具体的なカロリー摂取量、摂取炭素源のバランスとその際に起こる生理的な機構等についてはモデル生物で多くの研究が続いている。本稿ではその詳細は割愛し、ヒトでの関連臨床試験を紹介する。

世界中での臨床試験のデータベース ClinicalTrials.gov への登録件数では、老化 (aging) を指標とした試験で介入方法にカロリー制限 (calorie restriction) を含むものが 21 件、断食 (fasting) を含むもので 155 件がそれぞれ登録されている (2021 年 7 月時点)。モデル生物で寿命制御できる介入法を用いた臨床試験としては、これらが最も数が多い。既報のカロリー制限のヒトへの効果に関するメタ解析では^[7,8]、体重、脂肪量、総コレステロールの減少では一致するが、その他の健康指標では一貫した結果は得られていない。多くの試験は肥満者が対象だが、比較的体重が軽い (BMI22-28) 被験者を対象とした第 II 相試験が進行中である^[9]。本試験では 25% カロリー制限を目指し、結果として 2 年間の試験期間で

連絡先 : 伊藤 孝
〒 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1
Tel : 048-467-9518
Fax : 048-462-4676
E-mail : takashi.ito.cj@riken.jp

12%のカロリー制限が達成された。自由摂取群に比べて体重減少、脂肪量の減少とともに、血圧降下や炎症マーカー（CRP）低下、インスリン感受性の向上がみられた^[9]。ただしBMI23以上のヒトで食事制限がインスリン感受性を維持・向上する点で同様の効果があることは既に糖尿病治療・予防の文脈で既知である。老化関連指標としては、酸素消費量と酸化ストレスマーカー値は2年後に開始前より低下した^[10]。作業記憶の軽微な改善が報告されているが^[11]、被験者は21-50歳であり老化との関連は不明である。2種類の既報の老化インデックスの改善が報告されているが^[12]、実際に老化関連の症状・疾患を遅延もしくは改善できるかは今後の長期の検証が必要となる。具体的な食事制限プロトコル確立や、体重が標準もしくはやせ型の人でもカロリー制限による抗老化効果があるかの検証も課題である。

2 基礎研究から社会実装へ ② AMPK 活性化

カロリー制限による長寿を伝達するシグナル経路はいくつかに集約し、AMPK(AMP-activated protein kinase) 活性化、Sirtuin 活性化、mTOR (mechanistic target of rapamycin) 抑制が多くの場面で仲介することが報告されている。AMPKはATPが枯渇しAMPが増加する際に応答して種々の反応を引き起こすキナーゼであり、AMPK活性化は酵母^[13]、線虫^[14]、ハエ^[15]においてカロリー制限による寿命延長に寄与する。AMPK活性化作用のある糖尿病治療薬メトホルミンによりマウスでは寿命が伸びない^[16]もしくは伸びても軽微な効果で高濃度では寿命が短縮する^[17]。マウスでの抗老化効果が必ずしも明確になっていない段階ではあるが、メトホルミンのヒトでの抗老化効果を検証するTAME試験が進行中である^[18]。

3 基礎研究から社会実装へ ③ NAD⁺ 補充

脱アシル化酵素ファミリーのSirtuinの活性化で酵母、線虫、ハエ、マウスで寿命が伸び、Sirtuinはカロリー制限でも活性化する^[19]。生体の多くの酸化還元反応に利用される補酵素NAD⁺によりSirtuinファミリーは活性化される。加齢や肥満でNAD⁺量がマウス肝臓、脂肪、筋肉等で顕著に低下する^[20]。ヒトでも加齢でNAD⁺が血液^[21]、皮膚^[22]、脳^[23]で低下する。NAD⁺は安定性が低く、経口投与で生体に取り込まれない等、投与方法が難しい。代わりにNAD⁺前駆体を投与する臨床試験が多く行われている。筆者が主導した臨床試験で、ビタミンB3の1種ニコチンアミド200mg単回投与で血中NAD⁺量が被験者全員で増加した^[24]。引き続き行った試験でより高用量500mg単回投与でも血中NAD⁺量は増加したが、低用量100mgでは有意な増加は認められなかった（論文投稿中）。ニコチンアミドリボシド（NR）は100～1000mgの単回投与で血中NAD⁺量が有意ではないが増加傾向を示す^[25]。同等濃度のNR1-4週間の継続投与で血中NAD⁺が増加する^[26, 27]。ビタミンB3のもう1種であるニコチン酸を250mgから1000mgまで段階的に上げて4カ月間投与後、血中NAD⁺が増

加する^[28]。もしくはニコチンアミドモノヌクレオチド（NMN）250mgを10週継続投与で末梢単核球中NAD⁺量が増加する^[29]。55-79歳被験者でのNR1000mg継続投与試験で、NRは血圧を下げ、動脈壁硬化を緩和した一方、その他の動脈機能の改善は見られなかった^[26]。同等投与量で行われた70-80歳被験者の試験ではNR投与群で炎症マーカーは減少したが、筋力や血流の改善など生理的な効果は見られなかった^[27]。NMN250mg継続投与試験で、NMNは体重重め（BMI平均25）の閉経後の女性でインスリン感受性を改善した^[29]。一方で生理的な機能改善や老化との関連指標の変化は示されておらず、別の未発表臨床試験でNMNは脂質異常症の改善効果を示していない（私信）。すなわち上記NAD⁺前駆体全般において、ヒトでの老化改善効果は明らかになっていない。マウスでも長寿との関係は明確になっていない。NR投与でマウス寿命延長効果が報告されたが^[30]、その後否定的な結果が報告された^[31]。ニコチンアミド投与で寿命は伸びないが健康寿命は改善することが高脂肪食負荷マウスで報告されている^[32]。ニコチン酸、NMNによるマウス寿命延長効果は筆者が認識する範囲において論文報告されていない。

4 基礎研究から社会実装へ ④ mTOR 阻害

種々の栄養に応答した刺激で活性化するmTORはカロリー制限により活性が低下し、mTOR阻害剤ラパマイシンは酵母^[33]、線虫^[34]、ハエ^[35]、マウス^[36]、さらに一年草植物シロイヌナズナ^[37]と検証された全てのモデル生物で寿命を延ばす。ラパマイシンはマウスで高齢時（20-21カ月齢）から3カ月の期間限定投与で、史上最も高齢まで生きた野生型雄を含み、優れた長寿効果を持つことを筆者らは示した^[38]。高齢ペット犬でも同等プロトコルで加齢に伴う心機能低下を改善できる^[39]。すなわちmTOR阻害剤はヒトでも高齢期から開始し、生涯継続投与しなくても長寿効果が期待できる。ノバルティス社のmTOR阻害剤エベロリムス（作用機序はラパマイシンと同じ薬剤の1つで総称としてラパログと呼ばれる）を健常な高齢者に6週間投与した。結果として加齢で低下した免疫能が改善され、インフルエンザワクチン投与後の抗体産生がエベロリムスを前もって投与した群で上昇した^[40]。続きとなる第II相試験でも同等の効果を得て、かつ試験後一年間の呼吸器感染症が減少した^[41]。ラパマイシンと異なる作用機序のmTOR阻害剤RTB101が使用された65歳以上の健常者における第IIb相（探索的試験）、III相試験（検証的試験）において、いずれもインターフェロン誘導による抗ウイルス活性は増強したが、呼吸器感染症の予防はIIb相試験のみで見られた^[42]。すなわちmTOR阻害で高齢者の免疫老化を改善する可能性があるが、適切な薬剤、用法、適用される集団等の理解が進んでいない。COVID-19などの呼吸器感染症は高齢者において深刻な問題であり、予防的なmTOR阻害剤投与により高齢者で症状が重篤化する疾患が防げるのは老化の基礎研究の社会応用への大きな一歩となり得る。これらの試験のフォローアップ研究とし

て、被験者で COVID-19 罹患率、重症化率に変化があったか解析が進んでいる（私信）が、結果は 2021 年 7 月時点で未発表である。

mTOR 阻害剤による副作用は、イス、健常高齢者試験とともに、プラセボに対して増加しなかった^[39, 41, 42]。一方でラパログの免疫抑制剤・抗がん剤としての臨床使用において、口内炎、疲労感、細菌感染、血糖値上昇などの副作用が報告される。これらは薬の使用を中止すると消える^[43]。老化遅延を目的とした試験で副作用が出なかった要因として、病人ではなく健常者で行われたこと、臨床使用濃度より低濃度であることなどが考えられる。ラパログの副作用で死に至る重篤な項目はないが、血糖値上昇はインスリン抵抗性を反映し糖尿病の素地となる可能性が特に懸念されている^[44]。一方でカロリー制限も条件によってラパログに近いインスリン抵抗性を誘発する。寿命延長介入時のインスリン抵抗性が、糖尿病と一見同質に見えて異なる現象であるとする議論があるが、決着がついていない^[44]。

5 mTOR 阻害を介した老化の兆候の制御

栄養応答と長寿の関係で、mTOR 阻害剤はイス・ヒトと実社会環境で抗老化効果が報告される唯一の介入である（2021 年 7 月時点）。その詳細な分子機構は未知であるが、現時点での報告をマウスでの研究を中心に概説する。

mTOR は真核生物に保存され、mTOR を活性中心にもつキナーゼ複合体 mTORC1、mTORC2 を形成する。mTORC1 は栄養インプットに応じて細胞の成長の方向に多様な反応を制御する。具体的には mTORC1 は増殖因子、アミノ酸、糖、酸素等により活性化され、オートファジーによる異化反応を抑制するとともに、ATP 産生を促進し、細胞成分の元となる糖、タンパク、脂質、核酸と多様な同化反応を活性化させる^[45]。

mTOR 阻害剤ラパマイシンは影響力のある総説“Hallmarks of aging^[46]”で分類される 9 つの老化の兆候を全て改善することが報告されている。9 つのうち mTOR 阻害が直接関与するのは栄養センサーの異常“Deregulated nutrient signaling”であるが、他の 8 つ、ゲノム不安定化“Genome instability”、テロメア短縮“Telomere attrition”、エピジェネティック変化“Epigenetic alterations”、タンパク質恒常性の喪失“Loss of proteostasis”、ミトコンドリア機能異常“Mitochondrial dysfunction”、細胞老化“Cellular senescence”、幹細胞枯渇“Stem cell exhaustion”、細胞間コミュニケーション変化“Altered intercellular communication”の全てで加齢による変化を遅延もしくは若年方向に誘導する報告がある^[47]。

タンパク質恒常性の喪失の回復に関しては mTOR 阻害で直接オートファジーが活性化されることがメカニズムとしてある程度寄与すると想定される。マウスでもオートファジー活性化で寿命延長する^[48, 49]。ラパマイシンは細胞老化における炎症性サイトカイン分泌を抑制

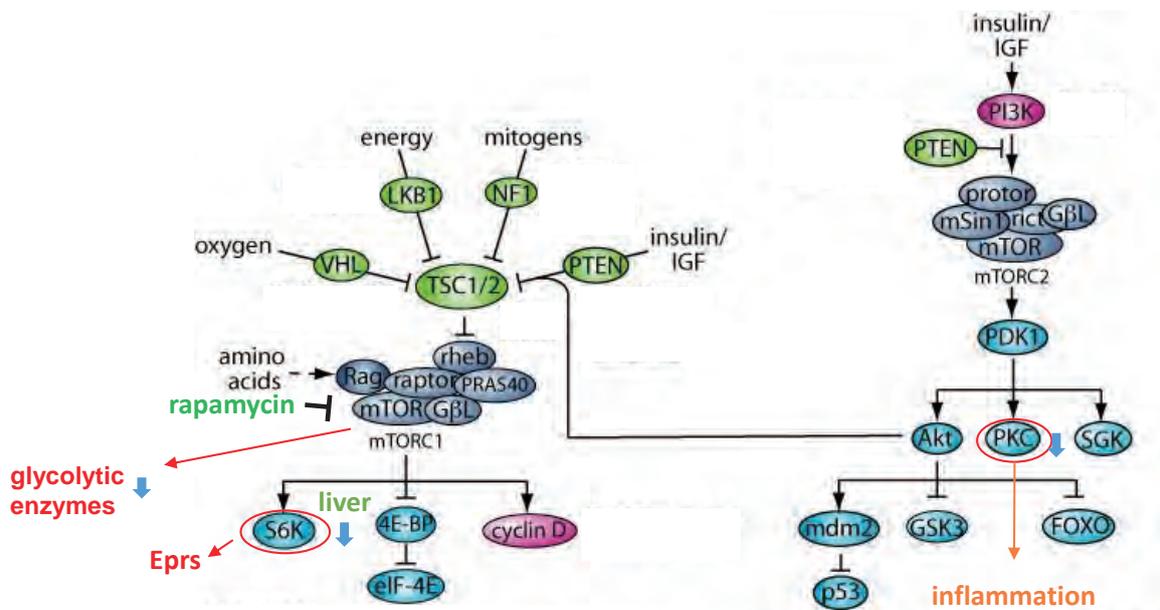
し^[50]、加齢に伴う細胞間コミュニケーション変化にも作用する。ラパマイシンは DNA 損傷を減少し、ゲノム不安定化を防ぐことが早老症を模倣した細胞で示されている^[51]。ハエでラパマイシンがヒストン翻訳を調節し、オートファジー活性化につながり寿命延長する^[52]。筆者らが行ったマウス脳でのプロテオーム解析でも、ラパマイシンにより最も顕著に変化した Gene Ontology がヌクレオソームだった^[53]。長期的な mTOR 阻害によるエピジェネティック変化も長寿に寄与する可能性がある。同一論文でラパマイシンはミトコンドリア機能異常を改善し寿命延長する^[53]。

6 mTOR 阻害を介した長寿分子シグナル

mTOR 阻害が複数の老化の兆候を抑制する分子機構の詳細は不明である。mTORC1 下流のキナーゼ S6K1^[54] とその下流の EPRS^[55] の抑制でマウス寿命が延びる。その効果はラパマイシンに比べると部分的となる。mTORC2 はインスリン感受性に必須であり抑えることで副作用が多く報告される^[56]。一方で、その下流シグナルの AKT1^[57] や PKC^[53] を部分的に抑制するとマウス寿命が延びることが筆者らを含めて報告がある。すなわち mTOR キナーゼの基質となる直接の下流と長寿の関係はいくつか報告があるが、その他広範な機構の解明は今後の課題となる。

ラパマイシンなど長寿効果は哺乳類では最低 6 週間の持続的介入により起こる。一方で既存の薬理的な分子シグナル解明のほとんどは細胞で数時間以内の短期的な現象に焦点を当てている。ラパマイシンの直接の阻害標的は mTORC1 であり、mTORC2 には結合しない。しかし 2 週間連続投与すると mTORC2 が抑制されるようになる^[56]。長寿の分子シグナル解明には長期介入で起こる事象の解析が重要な可能性がある。筆者らは、ラパマイシンを 3 週間毎日投与し、組織プロテオーム・リン酸化プロテオーム解析を野生型マウスと短寿命マウスで合わせて行った。上記のようにエピジェネティクスと PKC ファミリーが顕著に変化したことに加えて、エネルギー代謝に関連するシグナルが大きく変化していた^[53]。ラパマイシン長期投与より組織レベルで HK1、PFK1 などの一連の解糖系酵素のタンパク量が大きく減少した^[53]。短寿命モデル Ndufs4 KO マウスにおいて、HK1 阻害剤、PFK1 阻害剤ともに寿命を延ばした（未発表）。本項目で以上概説したマウスにおける mTOR 下流の寿命制御シグナルを図に概説する。

興味深いことに、ミトコンドリアに局在する一連のタンパク群が、野生型ではラパマイシンによる顕著な変化が見られない一方で、ミトコンドリアに異常を持つ短寿命 Ndufs4 KO マウスの組織では大きく発現が正常レベルにシフトした。プロテオーム、リン酸化プロテオームともに野生型マウスと短寿命マウスでのラパマイシンによる変化はほぼ一致していたが、Gene Ontology で唯一変化に違いが出たのがミトコンドリア呼吸鎖関連タンパクだった^[53]。電子顕微鏡解析によりラパマイシンは短寿命マウス小脳におけるミトコンドリアの構造異



mTOR 阻害によるマウス寿命延長分子シグナル

常を劇的に改善した (未発表)。すなわち、ラパマイシンは異常ミトコンドリアを検知して改善する作用があることが強く示唆される。細胞質・リソソームに局在する mTOR がどうやってミトコンドリアにシグナルを伝達するか、さらにミトコンドリア自身に異常がある時にミトコンドリアが mTOR にどのようにシグナルを伝達するか、mTOR-ミトコンドリアネットワークの機構の今後の解明が必要となる。この解明が mTOR 栄養応答と老化制御の理解にも重要だと筆者は考える。ラパマイシンは解糖系も統合的に制御し、エネルギー代謝のリプログラミングを誘導する。ATP 産生に関わるエネルギー代謝経路調節は生命の根幹であり、長寿の分子機構にも大きく寄与している可能性がある。細胞レベルでも mTOR 阻害によりミトコンドリア膜の脂質組成が変化するとともに、ミトコンドリアタンパク分解酵素 YME1L が誘導される^[58]。ミトコンドリア組成を大きく変化させることで代謝リプログラミングが誘導されることが報告されている^[58]。他にも細胞レベルでは mTOR が MTFP1 を介してミトコンドリア融合を制御する報告等があるが^[59]、これらと長寿の関係は不明である。

7 おわりに

がんなど基礎研究から多くの制御法や診断法がすでに開発されている分野に比べて、寿命測定等で解析速度に障壁があり、かつ複数の要因が絡み合う老化研究分野の進展はまだ初期の段階にある。一方でカロリー制限に端を発し、真核生物に共通する寿命制御の分子経路が特定され、社会実装に向けた応用研究が近年活発になっている。多くの臨床試験が現在行われており、紹介した mTOR 阻害剤以外でも老化の兆候を制御する介入が近い将来報告される可能性がある。基礎研究としても寿命を決定する根本的な原理解明が未解明であり今後の主要

な課題となる。老化分野の基礎・臨床研究の双方において、本稿で概説した栄養応答を介した寿命延長分子シグナルが今後も発展のプラットフォームとなると筆者は予想する。

参考文献

1. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*. 2000;289(5487):2126-8. Epub 2000/09/23.
2. Kaeberlein TL, Smith ED, Tsuchiya M, Welton KL, Thomas JH, Fields S, et al. Lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* by complete removal of food. *Aging cell*. 2006;5(6):487-94. Epub 2006/11/04.
3. Pletcher SD, Macdonald SJ, Marguerie R, Certa U, Stearns SC, Goldstein DB, et al. Genome-wide transcript profiles in aging and calorically restricted *Drosophila melanogaster*. *Current biology : CB*. 2002;12(9):712-23. Epub 2002/05/15.
4. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *The Journal of nutrition*. 1986;116(4):641-54. Epub 1986/04/01.
5. McCay CM, Crowell MF, Maynard LA. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition*. 1989;5(3):155-71; discussion 72. Epub 1989/05/01.
6. Mattison JA, Colman RJ, Beasley TM, Allison DB, Kemnitz JW, Roth GS, et al. Caloric restriction improves health and survival of rhesus monkeys. *Nature communications*. 2017;8:14063. Epub

- 2017/01/18.
7. Schwingshackl L, Zahringer J, Nitschke K, Torbahn G, Lohner S, Kuhn T, et al. Impact of intermittent energy restriction on anthropometric outcomes and intermediate disease markers in patients with overweight and obesity: systematic review and meta-analyses. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2021;61(8):1293-304. Epub 2020/05/05.
 8. Caristia S, Vito M, Sarro A, Leone A, Pecere A, Zibetti A, et al. Is Caloric Restriction Associated with Better Healthy Aging Outcomes? A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*. 2020;12(8). Epub 2020/08/06.
 9. Kraus WE, Bhapkar M, Huffman KM, Pieper CF, Krupa Das S, Redman LM, et al. 2 years of calorie restriction and cardiometabolic risk (CALERIE): exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2019;7(9):673-83. Epub 2019/07/16.
 10. Redman LM, Smith SR, Burton JH, Martin CK, Il'yasova D, Ravussin E. Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. *Cell metabolism*. 2018;27(4):805-15 e4. Epub 2018/03/27.
 11. Leclerc E, Trevizol AP, Grigolon RB, Subramaniapillai M, McIntyre RS, Brietzke E, et al. The effect of caloric restriction on working memory in healthy non-obese adults. *CNS spectrums*. 2020;25(1):2-8. Epub 2019/04/11.
 12. Belsky DW, Huffman KM, Pieper CF, Shalev I, Kraus WE. Change in the Rate of Biological Aging in Response to Caloric Restriction: CALERIE Biobank Analysis. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2017;73(1):4-10. Epub 2017/05/23.
 13. Wierman MB, Maqani N, Strickler E, Li M, Smith JS. Caloric Restriction Extends Yeast Chronological Life Span by Optimizing the Snf1 (AMPK) Signaling Pathway. *Molecular and cellular biology*. 2017;37(13). Epub 2017/04/05.
 14. Greer EL, Dowlatshahi D, Banko MR, Villen J, Hoang K, Blanchard D, et al. An AMPK-FOXO pathway mediates longevity induced by a novel method of dietary restriction in *C. elegans*. *Current biology : CB*. 2007;17(19):1646-56. Epub 2007/09/29.
 15. Stenesen D, Suh JM, Seo J, Yu K, Lee KS, Kim JS, et al. Adenosine nucleotide biosynthesis and AMPK regulate adult life span and mediate the longevity benefit of caloric restriction in flies. *Cell metabolism*. 2013;17(1):101-12. Epub 2013/01/15.
 16. Strong R, Miller RA, Antebi A, Astle CM, Bogue M, Denzel MS, et al. Longer lifespan in male mice treated with a weakly estrogenic agonist, an antioxidant, an alpha-glucosidase inhibitor or a Nrf2-inducer. *Aging cell*. 2016;15(5):872-84. Epub 2016/06/18.
 17. Martin-Montalvo A, Mercken EM, Mitchell SJ, Palacios HH, Mote PL, Scheibye-Knudsen M, et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nature communications*. 2013;4:2192. Epub 2013/08/01.
 18. Kulkarni AS, Gubbi S, Barzilai N. Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell metabolism*. 2020;32(1):15-30. Epub 2020/04/26.
 19. Grabowska W, Sikora E, Bielak-Zmijewska A. Sirtuins, a promising target in slowing down the ageing process. *Biogerontology*. 2017;18(4):447-76. Epub 2017/03/05.
 20. Yoshino J, Baur JA, Imai SI. NAD(+) Intermediates: The Biology and Therapeutic Potential of NMN and NR. *Cell metabolism*. 2018;27(3):513-28. Epub 2017/12/19.
 21. Chaleckis R, Murakami I, Takada J, Kondoh H, Yanagida M. Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016;113(16):4252-9. Epub 2016/04/02.
 22. Massudi H, Grant R, Braidy N, Guest J, Farnsworth B, Guillemin GJ. Age-associated changes in oxidative stress and NAD⁺ metabolism in human tissue. *PloS one*. 2012;7(7):e42357. Epub 2012/08/01.
 23. Zhu XH, Lu M, Lee BY, Ugurbil K, Chen W. In vivo NAD assay reveals the intracellular NAD contents and redox state in healthy human brain and their age dependences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(9):2876-81. Epub 2015/03/03.
 24. Ito TK, Sato T, Hakamata A, Onoda Y, Sato S, Yamazaki F, et al. A nonrandomized study of single oral supplementation within the daily tolerable upper level of nicotinamide affects blood nicotinamide and NAD⁺ levels in healthy subjects. *Translational medicine of aging*. 2020.
 25. Trammell SA, Schmidt MS, Weidemann BJ, Redpath P, Jaksch F, Dellinger RW, et al. Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans. *Nat Commun*. 2016;7:12948. Epub 2016/10/11.

26. Martens CR, Denman BA, Mazzo MR, Armstrong ML, Reisdorph N, McQueen MB, et al. Chronic nicotinamide riboside supplementation is well-tolerated and elevates NAD(+) in healthy middle-aged and older adults. *Nature communications*. 2018;9(1):1286. Epub 2018/03/31.
27. Elhassan YS, Kluckova K, Fletcher RS, Schmidt MS, Garten A, Doig CL, et al. Nicotinamide Riboside Augments the Aged Human Skeletal Muscle NAD(+) Metabolome and Induces Transcriptomic and Anti-inflammatory Signatures. *Cell reports*. 2019;28(7):1717-28 e6. Epub 2019/08/15.
28. Pirinen E, Auranen M, Khan NA, Brilhante V, Urho N, Pessia A, et al. Niacin Cures Systemic NAD(+) Deficiency and Improves Muscle Performance in Adult-Onset Mitochondrial Myopathy. *Cell metabolism*. 2020;31(6):1078-90 e5. Epub 2020/05/11.
29. Yoshino M, Yoshino J, Kayser BD, Patti G, Franczyk MP, Mills KF, et al. Nicotinamide mononucleotide increases muscle insulin sensitivity in prediabetic women. *Science*. 2021. Epub 2021/04/24.
30. Zhang H, Ryu D, Wu Y, Gariani K, Wang X, Luan P, et al. NAD(+) repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. *Science*. 2016;352(6292):1436-43. Epub 2016/04/30.
31. Harrison DE, Strong R, Reifsnnyder P, Kumar N, Fernandez E, Flurkey K, et al. 17- α -estradiol late in life extends lifespan in aging UM-HET3 male mice; nicotinamide riboside and three other drugs do not affect lifespan in either sex. *Aging cell*. 2021;20(5):e13328. Epub 2021/04/01.
32. Mitchell SJ, Bernier M, Aon MA, Cortassa S, Kim EY, Fang EF, et al. Nicotinamide Improves Aspects of Healthspan, but Not Lifespan, in Mice. *Cell metabolism*. 2018;27(3):667-76 e4. Epub 2018/03/08.
33. Powers RW, 3rd, Kaeberlein M, Caldwell SD, Kennedy BK, Fields S. Extension of chronological life span in yeast by decreased TOR pathway signaling. *Genes & development*. 2006;20(2):174-84. Epub 2006/01/19.
34. Robida-Stubbs S, Glover-Cutter K, Lamming DW, Mizunuma M, Narasimhan SD, Neumann-Haefelin E, et al. TOR signaling and rapamycin influence longevity by regulating SKN-1/Nrf and DAF-16/FoxO. *Cell metabolism*. 2012;15(5):713-24. Epub 2012/05/09.
35. Bjedov I, Toivonen JM, Kerr F, Slack C, Jacobson J, Foley A, et al. Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell metabolism*. 2010;11(1):35-46. Epub 2010/01/16.
36. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009;460(7253):392-5. Epub 2009/07/10.
37. Ren M, Venglat P, Qiu S, Feng L, Cao Y, Wang E, et al. Target of rapamycin signaling regulates metabolism, growth, and life span in *Arabidopsis*. *The Plant cell*. 2012;24(12):4850-74. Epub 2013/01/01.
38. Bitto A, Ito TK, Pineda VV, LeTexier NJ, Huang HZ, Sutlief E, et al. Transient rapamycin treatment can increase lifespan and healthspan in middle-aged mice. *eLife*. 2016;5. Epub 2016/08/24.
39. Urfer SR, Kaeberlein TL, Mailheau S, Bergman PJ, Creevy KE, Promislow DEL, et al. A randomized controlled trial to establish effects of short-term rapamycin treatment in 24 middle-aged companion dogs. *GeroScience*. 2017;39(2):117-27. Epub 2017/04/05.
40. Mannick JB, Del Giudice G, Lattanzi M, Valiante NM, Praestgaard J, Huang B, et al. mTOR inhibition improves immune function in the elderly. *Science translational medicine*. 2014;6(268):268ra179. Epub 2014/12/30.
41. Mannick JB, Morris M, Hockey HP, Roma G, Beibel M, Kulmatycki K, et al. TORC1 inhibition enhances immune function and reduces infections in the elderly. *Science translational medicine*. 2018;10(449). Epub 2018/07/13.
42. Mannick JB, Teo G, Bernardo P, Quinn D, Russell K, Klickstein L, et al. Targeting the biology of ageing with mTOR inhibitors to improve immune function in older adults: phase 2b and phase 3 randomised trials. *The Lancet Healthy longevity*. 2021;2(5):e250-e62. Epub 2021/05/13.
43. Blagosklonny MV. Rapamycin for longevity: opinion article. *Aging*. 2019;11(19):8048-67. Epub 2019/10/07.
44. Blagosklonny MV. Fasting and rapamycin: diabetes versus benevolent glucose intolerance. *Cell death & disease*. 2019;10(8):607. Epub 2019/08/14.
45. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2020;21(4):183-203. Epub 2020/01/16.
46. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217. Epub 2013/06/12.

47. Kaeberlein M. Translational geroscience: A new paradigm for 21(st) century medicine. *Translational medicine of aging*. 2017;1:1-4. Epub 2017/10/01.
48. Fernandez AF, Sebti S, Wei Y, Zou Z, Shi M, McMillan KL, et al. Disruption of the beclin 1-BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice. *Nature*. 2018;558(7708):136-40. Epub 2018/06/01.
49. Yang B, Liu Y, Li Y, Zhu S, Yi J, Ouyang Z, et al. Exposure to the herbicide butachlor activates hepatic stress signals and disturbs lipid metabolism in mice. *Chemosphere*. 2021;283:131226. Epub 2021/06/20.
50. Laberge RM, Sun Y, Orjalo AV, Patil CK, Freund A, Zhou L, et al. MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation. *Nature cell biology*. 2015;17(8):1049-61. Epub 2015/07/07.
51. Saha B, Cypro A, Martin GM, Oshima J. Rapamycin decreases DNA damage accumulation and enhances cell growth of WRN-deficient human fibroblasts. *Aging cell*. 2014;13(3):573-5. Epub 2013/12/07.
52. Lu YX, Regan JC, Esser J, Drews LF, Weinseis T, Stinn J, et al. A TORC1-histone axis regulates chromatin organisation and non-canonical induction of autophagy to ameliorate ageing. *eLife*. 2021;10. Epub 2021/05/15.
53. Martin-Perez M, Grillo AS, Ito TK, Valente AS, Han J, Entwisle SW, et al. PKC downregulation upon rapamycin treatment attenuates mitochondrial disease. *Nature metabolism*. 2020;2(12):1472-81. Epub 2020/12/17.
54. Selman C, Tullet JM, Wieser D, Irvine E, Lingard SJ, Choudhury AI, et al. Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span. *Science*. 2009;326(5949):140-4. Epub 2009/10/03.
55. Arif A, Terenzi F, Potdar AA, Jia J, Sacks J, China A, et al. EPRS is a critical mTORC1-S6K1 effector that influences adiposity in mice. *Nature*. 2017;542(7641):357-61. Epub 2017/02/09.
56. Lamming DW, Ye L, Katajisto P, Goncalves MD, Saitoh M, Stevens DM, et al. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity. *Science*. 2012;335(6076):1638-43. Epub 2012/03/31.
57. Nojima A, Yamashita M, Yoshida Y, Shimizu I, Ichimiya H, Kamimura N, et al. Haploinsufficiency of akt1 prolongs the lifespan of mice. *PLoS one*. 2013;8(7):e69178. Epub 2013/08/13.
58. MacVicar T, Ohba Y, Nolte H, Mayer FC, Tatsuta T, Sprenger HG, et al. Lipid signalling drives proteolytic rewiring of mitochondria by YME1L. *Nature*. 2019;575(7782):361-5. Epub 2019/11/07.
59. Morita M, Prudent J, Basu K, Goyon V, Katsumura S, Hulea L, et al. mTOR Controls Mitochondrial Dynamics and Cell Survival via MTFP1. *Molecular cell*. 2017;67(6):922-35 e5. Epub 2017/09/19.

mTOR as a mediator between translational and basic aging research

Takashi Ito
RIKEN CSRS

Abstract

There is still no established science and technology that delays aging in society. Calorie restriction is a highly reproducible method of extending the lifespan of eukaryotes in the laboratory, and multiple nutritional sensors involved in lifespan control have been identified. Several clinical trials have been conducted to verify whether the research results are applicable to humans. For interventions in pathways related to calorie restriction, clinical trials that target aging are being conducted with mTOR inhibitors, NAD⁺ boosters, and AMPK activator metformin in healthy subjects. Currently, mTOR inhibitors have been shown to improve immunosenescence in healthy individuals, but the relationship between other interventions and aging has not been clarified. mTOR inhibition delays a wide range of signs of aging in model organisms, including mice. Of the two complexes composed of mTOR, inhibition of mTORC1 downstream factor is often reported to contribute to longevity extension, while inhibition of mTORC2 downstream factor is also reported to contribute to longevity extension in mice. The mTOR inhibitor rapamycin has a strong effect on energy metabolic pathways such as glycolysis and mitochondria, which enables metabolic reprogramming at the intracellular and tissue levels. It is possible that such a large metabolic shift is a factor that contributes to healthy longevity.

Keywords : Clinical trials targeting aging, Calorie restriction, mTOR, AMPK, NAD⁺