ISSN 0912-8921

Official Journal of
The Japan Society
for Biomedical Gerontology

48
No.1
2024

BIOMEDICAL GERONTOLOGY
基礎老化研究

特集企画　「代謝から紐解く老化・加齢性疾患」

特集企画　「代謝から紐解く老化・加齢性疾患」

総　説　分岐鎖アミノ酸代謝の変調と老化・加齢性疾患
大日方　英、小西　昭充

総　説　食事による栄養制御と代謝健康
近藤　嘉高

総　説　心不全におけるコリン由来代謝物質の意義
吉田　陽子

総　説　中枢と骨格筋のNAD$^+$代謝に着目したサルコペニアの分子機序
伊藤　尚基、今井　眞一郎

シンポジウム報告　第44回日本基礎老化学会シンポジウムを終えて
森　亮一

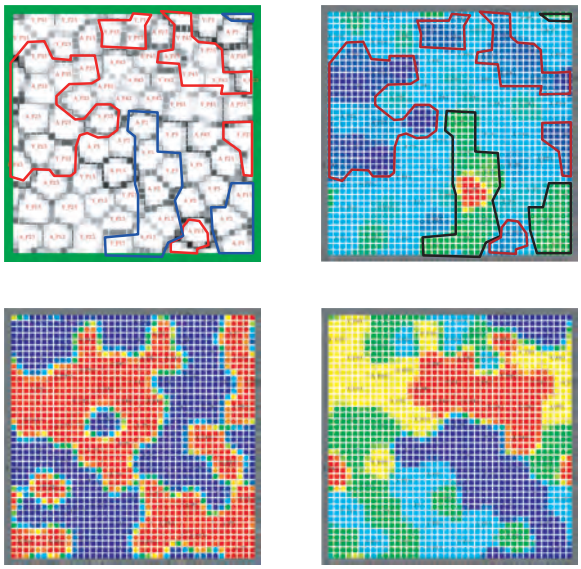
奨励賞受賞者研究トピックス　老化指標DNAメチル化に影響を及ぼす因子の評価
佐藤　綾美、石神　昭人

奨励賞受賞者研究トピックス　ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の生細胞イメージングと筋肉抗老化・筋疾患治療への応用
竹岩　俊彦、井上　聡

奨励賞受賞者研究トピックス　運動療法のメカニズム：細胞老化の視点から
津島　博道

名誉会員特別寄稿　老化の根本的なメカニズムとしての老化炎症とカロリー制限による老化の調節
盧　相均、權　力俊、李　在原、尹　靖賢、横澤　隆子、劉　秉八、鄭　海泳

著書紹介　『老いをみつめる脳科学』（2023）の紹介
森　望



日本基礎老化学会 ・ Japan Society for Biomedical Gerontology

基礎老化研究　48 巻　第1号 (2024 年)

日本基礎老化学会会誌

編集委員会委員長：　木村　展之　岡山理科大学　獣医学部　獣医保健看護学科
〒 794-8555　愛媛県今治市いこいの丘 1 － 3

編集委員会委員：　赤木　一考　富山大学　和漢医薬学総合研究所　未病分野
〒 930-0194　富山県富山市杉谷 2630

石井　恭正　東海大学　医学部　分子生命科学
〒 259-1193　神奈川県伊勢原市下糟屋 143

板倉　陽子　東京都健康長寿医療センター研究所　加齢変容研究チーム
〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35 － 2

伊藤　孝　理化学研究所　環境資源科学研究センター
〒 351-0198　埼玉県和光市広沢 2 番 1 号

澁谷　修一　国立長寿医療研究センター研究所　老化ストレス応答研究プロジェクトチーム
〒 474-8511　愛知県大府市森岡町 7 － 430

多田　敬典　至学館大学　健康科学部　栄養科学科
〒 474-8651　愛知県大府市横根町名高山 55

橋本　理尋　旭川医科大学　先端医科学講座
〒 078-8510　北海道旭川市緑が丘東2条1丁目 1 番 1 号

藤田　泰典　東京都健康長寿医療センター研究所　老化制御研究チーム
〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35 － 2

BIOMEDICAL GERONTOLOGY　vol. 48 No.1 2024

Official Journal of The Japan Society for Biomedical Gerontology

Editor-in Chief:　Nobuyuki Kimura　Department of Veterinary Associated Science, Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science 1-3 Ikoinooka, Imabari, Ehime 794-8555, JAPAN

Editors:　Kazutaka Akagi　Institute of Natural Medicine, University of Toyama 2630 Sugitani, Toyama-shi, Toyama 930-0194, Japan

Takamasa Ishii　Department of Molecular Life Science Tokai University School of Medicine
143 Shimokasuya, Isehara, Kanagawa 259-1193, JAPAN

Yoko Itakura　Research team for Aging Science, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology
35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Takashi Ito　RIKEN Center for Sustainable Resource Science
2-1 Hirosawa, Wako, Saitama, 351-0198, JAPAN

Shuichi Shibuya	Aging Stress Response Research Project Team, National Center for Geriatrics and Gerontology 7-43 Morioka-cho, Obu, Aichi 474-8511, JAPAN
Hirobumi Tada	Department of Nutrition, Faculty of Wellness, Shigakkan University 55 Nakoyama, Yokonemachi, Obu, Aichi 474-8651, JAPAN
Michihiro Hashimoto	Division of Advanced Medical Science, Asahikawa Medical University 1-1-1 Midorigaoka Higashi-2-jyo, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, JAPAN
Yasunori Fujita	Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo, 173-0015, JAPAN

【日本基礎老化学会賛助会員一覧】

下記の諸団体が賛助会員として本学会を支えています。

賛助会員は随時募集しております。事務局にお問い合わせください。

あなたの会社も老化研究を支えてみませんか？入会をお待ちしています。

賛助会員

ココロカ株式会社

小林製薬株式会社

大正製薬株式会社

東洋レヂン株式会社

日本水産株式会社

(株)ファンケル総合研究所

マルサンアイ株式会社

（50 音順）

広告掲載のご案内

平素より、賛助会員として本学会の活動を支えていただき、心から感謝申し上げます。

さて、当学会では、学会運営の活性化を図るべく、会誌「基礎老化研究」の充実を進めております。

つきましては、賛助会員の皆様の広告掲載を積極的に行っていきたいと考えております。ご協力を賜りますようお願い申し上げます。

広告掲載の要領は以下の通りとなります。

『基礎老化研究』（年３回）発行（全号掲載可）

広告原稿は doc. pdf. ppt. jpg. tif. 等のファイルで
下記の事務局までメールまたは CD-R 等の媒体でお送り下さいますようお願い申し上げます。

〒 100-0003
東京都千代田区一ツ橋　1-1-1　パレスサイドビル 9F
(株) 毎日学術フォーラム内（委託）
日本基礎老化学会事務局
TEL：03-6267-4550
FAX：03-6267-4555
E-mail：secretariat@jsbmg.jp

また、何かご質問等ございましたら、
メールにてご連絡いただけますよう重ねてお願い申し上げます。

今後ともどうぞよろしくお願い申し上げます。

日本基礎老化学会事務局

高電位の威力

電圧のみをかける「交流高圧電界」で、身体全体を包み込むようにして治療を。

1/fゆらぎの可能性

1/fゆらぎの原理を電位治療に応用（特許取得:特許番号4179625号）。

カラダだけでなく、ココロにもやすらぎと癒しを。

「レガシス プラス」は、厚生労働省により
登録された認証機関から管理医療機器
クラスⅡの医療機器として認証を得ています。
医療機器認証番号：218AGBZX00077000

LEGACIS 低周波・電位・温熱組合せ家庭用医療機器

ココロカ株式会社はアスリートの健康管理をサポートします。

COCOROCA

ココロカ株式会社 http://www.cocoroca.co.jp/

〒140-0001 東京都品川区北品川4-7-35 御殿山トラストタワー11F

お客様センター：03-6711-9305 FAX：03-6711-9325 受付時間：月～金 9:30～18:00（土・日・祝日・弊社特別休業日を除く）

SOMANIKS®
Catch The Voice Of SKIN

Microcone Care Service

マイクロコーンケア・サービス

マイクロコーンケアとは、微細突起状のマイクロコーンを皮膚に貼ることで刺激が発生し、筋肉や関節の痛みの緩和・改善を目的に作られた治療法です。

予後用
SOMACEPT® myo

1箱10個入り　ソマセプトミオ マイクロコーン拡大写真

医療機器製造販売届出番号　22B3X10002000001
特許　第4829166号　接触針／ドイツ特許 Patents
Nr.10 2008 014 503 Akupunkturnadel（接触針）
27.07.2017／アメリカ特許 Application No.12053151
ACUPUNCTURE NEEDLE（接触針）

予防用
SOMARESON® hem

1箱10個入り　ソマレゾンヘム マイクロコーン拡大写真

医療機器製造販売届出番号　22B3X10002000002
特許　第4829166号　接触針／ドイツ特許 Patents
Nr.10 2008 014 503 Akupunkturnadel（接触針）
27.07.2017／アメリカ特許 Application No.12053151
ACUPUNCTURE NEEDLE（接触針）

この雑誌について（投稿される方へ）

「基礎老化研究」（Biomedical Gerontology）は日本基礎老化学会の会誌で、基礎老化研究の振興、ならびに知識創造・統合を目的として、さらに社会一般へのアウトリーチ活動の一環として、年３回：１月（１号）、５月（２号・大会号）、９月（３号）に発行される。内容は、本学会員より投稿された、または、本学会員及び編集委員会より依頼を受けた者からの巻頭言、総説（老化理論を含む）、トピックス、原著論文、随筆、書評、その他で構成される。但し、３号には基礎老化学会シンポジウムの抄録も掲載される。会員は簡易冊子体の配布を受け、かつ無料でオンライン版が学会 HP で閲覧できる。

なお、「学会員に幅広く多くの投稿を促したい」との意向を踏まえ、「自由投稿（総説・トピックス・原著論文・学会報告・海外便り・書評・ニュースコメント等）」欄を設ける。

投　稿　規　定

１．全ての原稿の採用については、編集委員会で決定する。総説、トピックス、および原著論文については、編集委員または編集委員会で依頼した審査委員による査読を行う。
２．著者による校正は、初校時に１回行う。その際に投稿内容の大幅な追加や変更は認めないものとする。
３．本誌に掲載された記事の著作権は、日本基礎老化学会に帰属する。但し、自身の著作を使用する場合には、本学会に断り無く自由に使用できる。
４．目次、総説の要旨、およびトピックスの題目は日本基礎老化学会のホームページに掲載される。発行後２年経過した総説、トピックス等はインターネット上に無料で公開される。
５．総説、トピックス、および原著論文の著者には、該当 PDF ファイルを無料で進呈する。別刷り希望の場合は有料（実費）となるので、投稿・原稿提出時にその旨連絡すること。
６．原稿の執筆に際して、本誌の執筆要領に従うこと。

執　筆　要　領

原稿は全てワードプロセッサーを使用し、横書きで作成する（原稿はデジタルファイルで提出する）。１）第１頁には、原稿の表題、著者名、所属機関、所在地を和文と英文で、また、電話番号、FAX 番号、E-mail アドレスを記載する。著者が複数の場合は、連絡先の著者を明記する。２）第２頁にも初めに、表題、氏名を書き、その後に本文を書く。３）本文に節を設ける場合、１.、２.、３.、・・・を付けて節を示す。以下の項目は１）、２）、３）・・・、a）、b）、c）・・・とする。また、イタリック体、ギリシャ文字、記号が正しく出力されていることに注意する。原稿はテキストファイルまたは MS ワードファイル等で作成したデジタルファイルで提出する（欧語・数字は半角を用いる）。同時に提出する図・表および写真は、PDF、PPT、TIFF、JPEG 形式等のデジタルファイルで提出する。オンライン版はカラー図も受け付ける。冊子体への印刷は原則、白黒またはグレースケールで行うが、カラー希望の場合は著者の負担とする。図表の挿入部位は本文中に示す。尚、本誌１ページは約 1,600 字に相当する。図の大きさを考慮して、全体の長さを調節すること。原稿（デジタルファイル）は E-mail に添付して送付するか、USB 記憶媒体等で送ることができる。コンピュータファイルについては、印刷所あるいは編集委員会で対応できない場合は、著者に協力を求めることがある。

１．巻頭言（展望）　刷り上がり１頁に収まるようにする。本文の長さは 1,500 字以内（タイトルと氏名を除く）。
２．総説　一つのテーマについて、専門的知識に基づき、関連する多くの研究論文を総括、解説、評価した、所謂ミニレヴュー。
　１）本文の長さ：図、表も含めて刷り上がりで６ページ（9,600 字）程度を基本とする。
　２）題名：40 字以内とし、内容を的確に表したもので、且つ、読者の興味を引くよう工夫する。
　３）要約およびキーワード：要約およびキーワード（５個以内の英語）を必ず付す。要約は日本語（400 字以内）、およびその英訳（200 words 以内）とする。
　４）用語：本文中の用語はなるべく日本語にする。但し、欧語の方が一般的なもの、解りやすい場合は欧語でよい。外国の人名は原語、地名はカタカナで表記する。
　　専門術語：それぞれの専門分野の用語集に従う。動植物の学名、遺伝子名などでイタリック体で印刷されるべきものについては、原稿に下線をつけるなどして区別する。
　　略語：初出箇所にフルタームの後に括弧で括った略語を記入する。可能なら日本語を入れる。 文体：「である」調とする。
　　数字・単位：数字はアラビア数字とし、単位は国際単位系を用いる。
　５）引用文献：原稿中で引用された文献は、引用文献 と見出しをつけて、論文中に引用した順に番号をつけて表示する。本文中では該当する位置に［　］で括って上付き表示する。１つの事柄に複数の論文を引用する場合

には[1,5,7] または[2-6] のように記述する。著者名を引用する場合で３名以上の連名の時は、それ以下を“ら”を用いて省略する。雑誌名は、略称(ISO 4)をもちいる。末尾文献リストは引用した順とし、記載は以下の通りとする。未発表論文、私信は末尾文献リストには加えず、本文中の該当する位置に[　] で括って表示する。

１．Shimokawa I, Komatsu T, Hayashi N, *et al*. The life-extending effect of dietary restriction requires Foxo3 in mice. Aging Cell 14: 707-709, 2015.

２．Roth GS, Ingram DK and Cutler RG. Primate models for dietary restriction research. In:Biological Effects of Dietary Restriction, edited by Fishbein L. Berlin: Wiley, 1991, p. 193-204.

３．仲村賢一 , 下村－泉山七生貴 , 田久保海誉 ヒト組織の加齢に伴うテロメア短縮 . 基礎老化研究 24:72-76, 2000.

６）図、表、写真：そのまま印刷できるものに限る(手書きのものは受け付けない)。文献から引用する場合は、引用を明記すると共に、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可を取っておくこと(許可証のコピーを原稿と共に提出すること)。白黒またはグレースケールが原則だが、オンライン版はカラー図も受け付ける。

７）図、写真にはタイトルと説明文を付ける。

３．トピックス　最近の話題性のある研究(または雑誌記事)の紹介。長さは刷り上がり 4 頁以内(1,600 - 6,400 字)。その他は総説に準じる。但し、要旨は不要である。

４．原著論文　基礎老化研究に関連するオリジナル性の高い研究論文。他誌で公表された内容は受け付けない。内容は、要約、目的、方法、結果、考察、引用文献、図表、およびその説明文からなる。その他は総説に準じる。

５．学会報告、海外便り　国内外の学術集会の紹介記事。長さは 1,600 字以内。留学などで滞在しているまたは過去に滞在していた研究室、訪問した研究施設の見聞の紹介記事。

６．書評　最近出版された書籍の紹介。1,600 字以内。

７．原稿の送付およびその他の問い合わせ、下記宛てに E-mail で。

編集委員会：editor@jsbmg.jp

目　　次

特集企画「代謝から紐解く老化・加齢性疾患」…… 1
総説
　分岐鎖アミノ酸代謝の変調と老化・加齢性疾患
　大日方　英、小西　昭充 …… 3-8
総説
　食事による栄養制御と代謝健康
　近藤　嘉高 …… 9-14
総説
　心不全におけるコリン由来代謝物質の意義
　吉田　陽子 …… 15-20
総説
　中枢と骨格筋の NAD^+ 代謝に着目したサルコペニアの分子機序
　伊藤　尚基、今井　眞一郎 …… 21-26
シンポジウム報告
　第 44 回日本基礎老化学会シンポジウムを終えて
　森　亮一 …… 27-28
トピックス
　老化指標 DNA メチル化に影響を及ぼす因子の評価
　佐藤　綾美、石神　昭人 …… 29-30
トピックス
　ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の生細胞イメージングと筋肉抗老化・筋疾患治療への応用
　竹岩　俊彦、井上　聡 …… 31-34
トピックス
　運動療法のメカニズム：細胞老化の視点から
　津島　博道 …… 35-38
名誉会員特別寄稿
　老化の根本的なメカニズムとしての老化炎症とカロリー制限による老化の調節
　盧　相均、權　力俊、李　在原、尹　靖賢、横澤　隆子、劉　秉八、鄭　海泳 …… 39-49
著書紹介
　『老いをみつめる脳科学』森望（著）
　（メディカル・サイエンス・インターナショナル , MEDSi）（2023）の紹介
　森　望 …… 51-52

表表紙：若齢および中齢マウスにおける血中アミノ酸濃度の自己組織化マップ（SOM）解析、肝臓中性脂肪量との相関（改変）

裏表紙：学会ロゴマーク

【訂正】

訂正：

ストレス応答転写因子 Nrf2 と ATF4 を中心とした未病期における動的な恒常性維持機構

伊東　健、長谷川　和輝、葛西　秋宅

弘前大学大学院医学研究科附属高度先進医学研究センター分子生体防御学講座

基礎老化研究 47(3)；15－20, 2023 に掲載いたしました当該総説におきまして、引用文献の情報に誤植がございましたので、以下のとおり、訂正させて頂きます。

参考文献

1. 吉裕　福. 現代における未病医学とは. 金芳堂：京都市, 2006.

↓

1. 福生　吉裕, 他. 次世代の医学・医療がわかる 未病医学 入門. 金芳堂. 2006 年 12 月刊行

【特集企画】

「代謝から紐解く老化・加齢性疾患」

老化は長きに渡る生命活動の末に引き起こされる高度に保存された現象であり、その根底にある本質は多くの生物種で共通するものと推察される。私たち生物は体内に摂取した食物からエネルギーを生み出し、体を構成する生体分子を産生し、不要な物質を排出することで生命活動を営んでいる。この生物の条件の１つとされる「代謝」は、生命現象の基盤であり多くの生物学的プロセスを支えている。ヒトでは約 3000 種類の代謝物質が存在すると考えられており、それらは臓器、細胞、オルガネラで区画化され、様々な酵素や輸送体により精密に制御されている。カロリー制限などの栄養制御は多くの生物種の寿命を延伸させることから、代謝は老化研究の焦点の１つとして注目されてきた。そして近年の解析技術の進歩は、代謝物質や代謝酵素の新たな役割・意義の解明を加速させ、代謝に着目した老化研究も新たな局面を迎えつつある。

そこで本特集企画では、「代謝から紐解く老化・加齢性疾患」と題し、代謝・栄養の観点から先駆的な研究を展開されている４名の先生方に総説をご寄稿頂いた。大日方英先生には分岐鎖アミノ酸代謝について、近藤嘉高先生には栄養制御について、吉田陽子先生にはコリン由来代謝物質について、伊藤尚基先生にはニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD^+）代謝について、最新の研究成果を交えながらご執筆頂いた。本企画を通して、老化や加齢性疾患における代謝・栄養の重要性が再認識され、基礎老化研究がより一層進展することを期待したい。

特集企画担当編集委員
藤田　泰典
板倉　陽子

基礎老化研究 48（1）; 3−8, 2024

【総説】

分岐鎖アミノ酸代謝の変調と老化・加齢性疾患

大日方　英[1]、小西　昭充[2]
[1]群馬大学大学院医学系研究科教育研究支援センター
[2]群馬大学大学院医学系研究科・生化学

要約

必須アミノ酸である分岐鎖アミノ酸（ロイシン、イソロイシン、バリン）はタンパク質合成の構成分子としてだけでなく様々な生理活性を持つ分子であり、老化研究分野でも注目が高まりつつある。近年の研究により、耐糖能異常、心血管疾患、がん、サルコペニアなどの高齢者によく見られる疾患との関連や、分岐鎖アミノ酸の補助・制限による糖・脂質代謝の改善と寿命延長への作用などが次々と明らかとなってきている。我々は分岐鎖アミノ酸代謝による細胞老化の新たな制御機構や、加齢によって分岐アミノ酸代謝の状態がダイナミックに変化することを見出しており、今後ますます老化研究における分岐鎖アミノ酸代謝の重要度が増すことが予想される。本稿では、分岐鎖アミノ酸代謝の基礎から老化研究における最新の研究成果までを我々の研究成果を含めて紹介する。

キーワード：Branched-chain amino acid，BCAT2，Cellular senescence，Metabolomics、Reactive oxygen species

1．はじめに

哺乳類動物の必須アミノ酸である分岐鎖アミノ酸（Branched-chain amino acid：BCAA）とは、アミノ酸の側鎖に分岐構造を持つロイシン、イソロイシン、バリンの総称である。体内にはBCAAの合成系は存在せず、基本的にタンパク質を摂取することで体内に取り込まれる。取り込まれたBCAAはタンパク質の構成分子としてだけではなく、遊離アミノ酸として体内に存在して様々な生理活性を有している。現在、骨格筋に対するBCAAの蛋白質合成促進作用に着目した栄養補助食品やサプリメントが多数販売されており、BCAA補充はアスリートを対象としたスポーツ栄養分野だけでなく、サルコペニア予防として加齢医学分野でも注目されつつある。さらに、疫学的研究からBCAA代謝の異常は肥満・耐糖能異常・癌などの高齢者によく見られる疾患との様々な関連が報告されるようになってきており、老化研究においてBCAA代謝の重要性が高まりつつある。そこで本稿では、BCAA代謝が老化や加齢性疾患に与える影響について、我々の研究成果を含めて近年の研究の動向について論じる。

連絡先：〒371-8511　群馬県前橋市昭和町3-39-22
TEL：027-220-7908（大日方　英）、
027-220-7941（小西　昭充）
FAX：027-220-7948（小西　昭充）
E-mail：obi@gunma-u.ac.jp（大日方　英）
akimitsukonishi@gunma-u.ac.jp（小西　昭充）

2．BCAA代謝経路

ヒトを含む哺乳類ではBCAAの代謝系のうち同化（合成）経路を持たないが、異化（分解）経路が存在しており、その主要な部分はミトコンドリアに局在している（図１）。分解経路のうち最初の二つのステップは３種全てのBCAAで共通している。分解反応の第一段階は、BCAAアミノ基転移酵素（Branched-chain aminotransferase：BCAT）によって触媒される可逆的なアミノ基転移反応で、分岐鎖α−ケト酸（Branched-chain α-keto acid：BCKA）が生成される。ロイシン、イソロイシン、バリンはそれぞれ脱アミノ化されて、4−メチル−2−オキソ吉草酸（α-Ketoisocaproic Acid：KIC）、3−メチル−2−オキソ吉草酸（α-Keto-β-methylvaleric acid：KMV）、ケトイソ吉草酸（α-Ketoisovaleric acid：KIV）となり、脱離したアミノ基はα−ケトグルタル酸に転移してグルタミン酸が生成される。

続く第二段階の反応でBCKAは、分岐鎖α−ケト酸脱水素酵素（Branched-chain α-keto acid dehydrogenase：BCKDH）複合体が触媒する不可逆的な酸化的脱炭酸反応とCoAチオエステル化反応を受けて分岐鎖アシルCoAとなる。これ以降、３種類の分岐鎖アシルCoAは

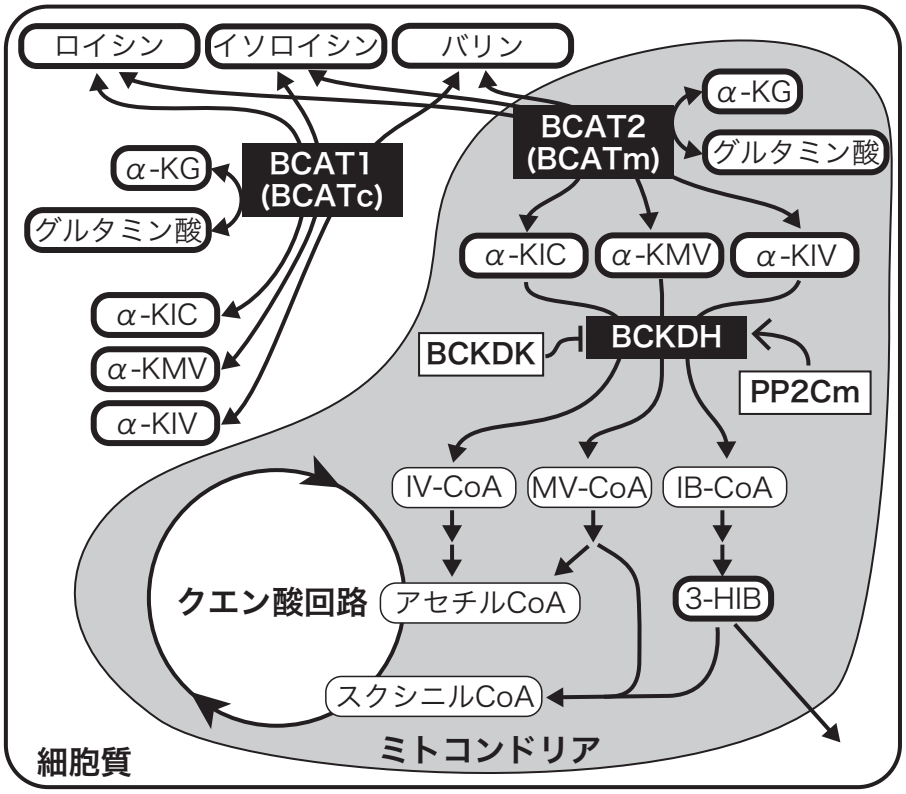


図１　分岐鎖アミノ酸の代謝反応経路

それぞれ異なった代謝経路を進み、最終的にロイシンはアセチル CoA、イソロイシンはアセチル CoA もしくはスクシニル CoA、バリンはスクシニル CoA となってクエン酸回路に供給され、ATP 産生や糖新生、脂肪酸合成の材料として利用される。BCKDH は抑制的リン酸化を受けて活性が調節されているが、この翻訳後修飾は分岐鎖 α-ケト酸脱水素酵素キナーゼ（BCKDK）と脱リン酸化酵素 PP2Cm によって制御されている（図１）[1]。

BCAT には細胞質型の BCAT1（BCATc）とミトコンドリア型の BCAT2（BCATm）の二つのアイソザイムが存在するが、BCAT1 は主に脳神経系に発現し細胞質で神経伝達物質であるグルタミン酸生成を担い、全身で発現している BCAT2 が BCAA の異化反応の主要な酵素となっていると考えられている。BCAT2 は肝臓での発現が非常に低いため、BCAA は他のアミノ酸と異なり代謝の最初のステップは肝臓では行われず、主に骨格筋で代謝されている。しかし、肝臓には BCKDH 以下の酵素が発現しているため、骨格筋等の肝臓以外の臓器において生成された BCKA は体循環に入って肝臓に運ばれ、それ以降の代謝が進むとされる[2]。

BCAA 代謝のほとんどはミトコンドリアマトリックスで進み、代謝中間体のほとんどは補酵素 A が結合した CoA 誘導体であるため、代謝中間体がミトコンドリア外に出ることは基本的にないが、バリンの代謝産物である3-ヒドロキシイソ酪酸（3-hydroxyisobutyric acid：3-HIB）は例外的にミトコンドリアを出て最終的に体循環系に回る。

３．BCAA 代謝と加齢性疾患

BCAA 代謝の先天性代謝異常としては、BCKDH の異常によって発症するメープルシロップ尿症が有名であるが、このような先天性代謝異常による疾患以外に、耐糖能異常、心血管疾患、がん、サルコペニアなどの疾患と BCAA 代謝が深く関連することが知られている。これらは、高齢者によく見られる疾患群と重なる。1960 年代にはすでに肥満患者で血中BCAA濃度が上昇することが報告されており[3]、その後の質量分析器を用いた正確な代謝物測定によって肥満患者の中でも特に耐糖能異常を有する症例で血中BCAAが上昇していることが再確認された。しかも、代謝物データの主成分分析の結果、BCAA 関連代謝物は脂質関連代謝物よりも強くインスリン抵抗性と相関していることが明らかとなった[4]。さらに、アメリカで行われた大規模前向きコホート調査から BCAA を含めた５種類のアミノ酸の血中濃度の上昇により２型糖尿病の発症リスクが５倍も上昇することが示された[5]。ゲノムワイド関連解析（Genome-Wide Association Study：GWAS）でもインスリン抵抗性から２型糖尿病を発症する際に BCAA 代謝が関連することが示されている[6]。

BCAA 代謝の異常は心血管疾患とも関連が深い。心不全、冠動脈疾患、高血圧患者ではインスリン抵抗性の有無とは独立して血中 BCAA 濃度の上昇が見られることが報告されている[7-9]。さらに、種々のがん患者においても血中 BCAA 濃度の変化が見られることが以前より知られている。特に膵癌では血中 BCAA 濃度の上昇により発癌リスクが２倍以上となるという報告

もある[10]。この報告では、診断確定の２～５年前には既に血中BCAA濃度が上昇していることから、全身でのBCAA代謝の異常が膵癌発症に関与することが示唆されている。そのほか、肝細胞癌、大腸癌でも血中BCAA濃度の変化が見られている[11, 12]。また、高齢者でのサルコペニアでは血中BCAA濃度が有意に低くなっているという報告もある[13, 14]。以上のように、高齢者に多く見られる耐糖能異常、脂質代謝異常、心血管疾患、がん、サルコペニアなどでBCAA代謝の異常が見られることから、加齢性疾患にBCAA代謝の変調が影響することが示唆される。

4. BCAA代謝と寿命

哺乳類を含めた多くの生物で、カロリー制限が寿命を延長することはよく知られている。しかし、カロリー制限において全ての栄養素が同じウエイトを占めているのではない。これまでにタンパク質などの特定の栄養素の摂取量が寿命や健康に大きく影響することが報告されている。マウスやラットなどの動物実験ではタンパク質の摂取制限は、高齢期における健康を向上させ、寿命を延長する。中でも必須アミノ酸であるメチオニン、トリプトファンに加えて、BCAAの摂取量が寿命に影響することが様々な研究により示されている。当初、BCAA3種を含む特定のアミノ酸をヒト高齢者に投与することでインスリン抵抗性、２型糖尿病、サルコペニアが改善したという報告[15, 16]を元に、マウスを用いてBCAA補助による寿命延長効果の有無が検討された。この研究では､最長寿命（maximum life span）には差がないものの、BCAA補助により50%生存期間（median life span）が約100日（12%）程度伸びることが示された[17]。しかし、動物実験において厳密な摂取カロリーのコントロールを行うことで、近年ではBCAA補助はインスリン抵抗性の上昇や食欲増進による肥満を誘導し、最終的に寿命を縮めるとう結果が多数報告されるようになっている[18-20]。逆に、マウスでBCAAを欠乏させると１週間ほどの短期間で血糖値、インスリン感受性が改善する[21, 22]ことから、BCAA制限による寿命延長効果についても多くの研究が進められている。BCAAは必須アミノ酸であるため長期の欠乏食は不可能である。そこで50～80%程度の生理的なBCAA制限食での長期間の観察が行われた結果、BCAAを制限されたマウスは食事量が増えるにもかかわらず低体重であり、エネルギー代謝の亢進と脂肪量の低下が見られ、オスでは寿命延長の効果が認められた[23, 24]。また、肥満モデルであるZuckerラットでもBCAA制限により脂質代謝や糖代謝が改善する[25]。さらに、早老症の一つであるハッチンソン・ギルフォード症候群のモデルマウス（LaminAの点変異導入マウス）では、BCAAを67%に制限すると雌雄ともに最長寿命が２倍以上に延長された[26]。

これらはマウスやラットなどでの結果であり、そのままヒトに当てはめることはできないが、ヒトでもイソロイシンの摂取量とボディマス指数（BMI）に正の相関が見られること[23]や、２型糖尿病患者では短期間のBCAA制限でインスリン感受性の改善が見られること[27]、大規模コホート調査において血中イソロイシン濃度と死亡リスクに相関があること[28]などを合わせると、ヒトにおいてもBCAAの過剰摂取は健康寿命には負の側面がやや多いように思われる。しかし、フレイルを持つ高齢者では血中BCAA濃度が低く、これらの群ではBCAA濃度が低いほど有意な死亡率の上昇が見られ[29]、高齢者に対してBCAAを含む必須アミノ酸を補助することでフレイルや耐糖能の改善が見られる[16, 30]。実際、高齢者のフレイル予防と健康増進のため、運動療法と併用したBCAA補助食品の使用は広く認知されている。しかし、BCAAが持つ寿命、健康への負の側面を考えると、高齢者へのBCAA補助は対象者の肥満度、耐糖能の程度、サルコペニアの進行度などを総合的に判断することが必要であると思われる。

5. BCAA代謝と老化のメカニズム

BCAAとその代謝物が持つ生理活性から老化について見てみる。mTORシグナル経路は老化と密接にリンクしている。mTORの阻害剤であるラパマイシンは哺乳類を含めて広い生物種で寿命の延長効果が認められている[31]。BCAAのうちロイシンはmTOR複合体mTORC1の抑制的制御因子であるSestrinに直接結合することでmTORC1活性を上昇させる[32]。活性化したmTORC1はタンパク質合成の亢進、オートファジーの抑制などを通して老化を促進させると考えられている。細胞内のBCAA量センサーのもう一つはGCN2（general control nonderepressible 2）である。GCN2は細胞内BCAAの低下を検知するとeIF2αをリン酸化してタンパク質合成を抑制する他、オートファジーを活性化する。同時に転写因子ATF4を介して幾つかのタンパク質の発現を上昇させるが、中でもエネルギーバランスホルモンであるFGF21はGCN2によって発現が強く発現が亢進する[33]。FGF21トランスジェニックマウスは耐糖能やインスリン感受性の上昇、食事性肥満に対する抵抗性などを示し、寿命が延長することから[34]、GCN2-FGF21経路はBCAAによるもう一つの老化・寿命制御メカニズムとなっているであろう。また、バリンの代謝産物で体循環に出る3-HIBは血管からの脂肪酸の取り込み能を亢進させてインスリン抵抗性の原因となる[35]。他にもBCAA自体が食欲増進効果を持っているため、BCAA過剰食は食事性肥満を誘発し寿命短縮の誘因となる。これはBCAA過剰により他の必須アミノ酸とのインバランスが起こる結果、セロトニン分泌が低下するためとされる[18]。

我々は最近、BCAA代謝による細胞老化の新規制御機構を見出した。テロメア短縮やDNA損傷などの細胞ストレスはBCAT2の発現を抑制してBCAAの異化反応を低下させ、この結果、細胞老化が誘導されていた。BCAT2は同時にグルタミン酸産生反応により細胞内グルタチオンのレベルを維持することで細胞内の活性酸素種（Reactive Oxygen Species：ROS）の蓄積を抑え、細胞老化を抑制していた。BCAT2ノックアウトマ

ウスを作成したところ、BCAT2ホモノックアウトマウスは短命であり、BCAA代謝が活発に行われている骨格筋とBCAT2発現が高い脂肪組織で老化細胞の蓄積が観察された。また、野生型マウスでは加齢とともに血中BCAA濃度が上昇し、脂肪組織を中心としてBCAT2発現とBCAA異化反応が低下することも見出した（論文投稿中）。これらの結果は、加齢によるBCAA代謝の変調とその結果起こる老化細胞の蓄積が個体老化の一因となっていることを示唆しており、現在、BCAA代謝への介入による抗老化技術の開発に取り組んでいる。

6. 質量分析器によるBCAA代謝の観察

本稿で述べてきたようにBCAA代謝は老化・加齢性疾患・健康寿命に密接にリンクすることから、BCAA代謝の状態を正確に把握することが重要であると考え、質量分析器を用いてBCAA代謝物群を正確に観察する測定系を構築してきた。特に、体循環に回るBCAA, BCKA, 3-HIBは全身のBCAA代謝活性の総体を把握するのに非常に重要であると考えている。

我々はBCAA代謝の観察のために、高速液体クロマトグラフィーに接続された三連四重極型の質量分析器（LCMS-8050システム、島津製作所）を用いたターゲット分析を行なっている。BCAAの測定には島津製作所が開発したLC/MS/MSメソッドパッケージ一次代謝物Ver.1を用いている。アミノ酸、有機酸、カテコールアミン、核酸関連代謝物など中心代謝経路の代謝産物を中心に99種の代謝物の同時測定が可能であり、BCAA代謝の変化を他の中心代謝経路の変化と相関させながら分析することができる。BCKAおよび3-HIBの測定には、同じく島津製作所のメソッドパッケージ短鎖脂肪酸をベースに、測定対象物を追加する形でメソッド開発を行なった。糖枯渇時に脂肪酸分解経路で産生される代表的なケトン体の一つである3-ヒドロキシ酪酸（3-hydroxybutyric acid）は、3-HIB（3-hydroxyisobutyric acid）と構造異性体の関係にあり、高速液体クロマトグラフィーでの挙動も似通っているため、分離には注意が必要である。

ある時点におけるBCAA代謝の静的なスナップショットではなく、代謝動態を分析したい場合には、安定同位体でラベルされたBCAAを細胞やマウスに添加し、経時的に、また各臓器でのBCKAや3-HIBへの代謝をトレースすることが可能である。特にバリンは3-HIBに代謝されて再び体循環に回るため、BCAA代謝の全体像をモニターするのに良い指標となると考えられる。

我々の分析系で測定が可能なBCAAの代謝産物は図１中に太枠で示した。

7. おわりに

本稿では、BCAA代謝について代謝反応経路から健康・老化・疾患との関連とそのメカニズムまでを概説した。BCAAはこれまで栄養学的な観点から主に研究が進められ、現在市場に数多く出回っているBCAAを含む栄養補助食品やサプリメントは人気も高いようである。しかし、本稿でも取り上げたように老化・健康の観点からはややデメリットが多い。加えて、加齢により生体内でのBCAA代謝の状態はダイナミックに変化することから、高齢者への使用には十分な配慮が必要だろう。BCAA代謝研究は現在も精力的に進められており、我々が見出したBCAA代謝による細胞老化制御機構などの新たな知見も加わって、BCAA代謝が老化に及ぼすメカニズムへの理解は今後もさらに深まることが予期される。また、BCAA代謝の変調は糖代謝や脂質代謝など幅広い代謝経路に影響を及ぼすため、多くの代謝物を網羅的に解析するメタボロミクス技術は今後重要なツールとなっていくだろう。BCAA代謝への介入により、老化が上手くコントロールされ健康寿命が延伸していくことを期待する。

引用文献

1. Neinast M, Murashige D, Arany Z. Branched Chain Amino Acids. Annu. Rev. Physiol. 81：139-164, 2019.
2. Neinast MD, Jang C, Hui S, *et al*. Quantitative Analysis of the Whole-Body Metabolic Fate of Branched-Chain Amino Acids. Cell Metab. 29：417-429.e4., 2019.
3. Felig P, Marliss E, Cahill Jr GF. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. N. Engl. J. Med. 281：811-816, 1969.
4. Newgard CB, An J, Bain JR, *et al*. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. Cell Metab. 9：311-326, 2009.
5. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, *et al*. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. Nat. Med. 17：448-453, 2011.
6. Wang Q, Holmes MV, Davey Smith G, *et al*. Genetic support for a causal role of insulin resistance on circulating branched-chain amino acids and inflammation. Diabetes Care. 40：1779-1786, 2017.
7. Flores-Guerrero JL, Groothof D, Connelly MA, *et al*. Dullaart, Concentration of branched-chain amino acids is a strong risk marker for incident hypertension. Hypertension. 74：1428-1435, 2019.
8. Hunter WG, Kelly JP, McGarrah 3rd RW, *et al*. Metabolomic profiling identifies novel circulating biomarkers of mitochondrial dysfunction differentially elevated in heart failure with preserved versus reduced ejection fraction：Evidence for shared metabolic impairments in clinical heart failure. J. Am. Heart Assoc. 5(8)：e003190, 2016.
9. Bhattacharya S, Granger CB, Craig D, *et al*. Validation of the association between a branched

chain amino acid metabolite profile and extremes of coronary artery disease in patients referred for cardiac catheterization. Atherosclerosis. 232 (1) : 191–196, 2014.
10. Mayers JR, Wu C, Clish CB, *et al*. Elevation of circulating branched-chain amino acids is an early event in human pancreatic adenocarcinoma development. Nat. Med. 20 (10) : 1193–1198, 2014.
11. Budhathoki S, Iwasaki M, Yamaji T, *et al*. Association of plasma concentrations of branched-chain amino acids with risk of colorectal adenoma in a large Japanese population. Ann. Oncol. 28 (4) : 818–823, 2017.
12. Nezami Ranjbar MR, Luo Y, Di Poto C, *et al*. GC-MS based plasma metabolomics for identification of candidate biomarkers for hepatocellular carcinoma in Egyptian cohort. PLoS One. 10 : e0127299, 2015.
13. Borg T, Luiking C, van Helvoort A, Low levels of branched chain amino acids, eicosapentaenoic acid and micronutrients are associated with low muscle mass, strength and function in community-dwelling older adults. J. Nutr. Health Aging. 23 (1) : 27–34, 2019.
14. Ottestad I, Ulven SM, Øyri LKL, et al. Reduced plasma concentration of branched-chain amino acids in sarcopenic older subjects : a cross-sectional study, Br. J. Nutr. 120 (4) : 445–453, 2018.
15. Solerte SB, Gazzaruso C, Bonacasa R, *et al*. Nutritional supplements with oral amino acid mixtures increases whole-body lean mass and insulin sensitivity in elderly subjects with sarcopenia. Am. J. Cardiol. 101 (11A) : 69E–77E, 2008.
16. Solerte SB, Fioravanti M, Locatelli E, *et al*. Improvement of blood glucose control and insulin sensitivity during a long-term (60weeks) randomized study with amino acid dietary supplements in elderly subjects with type 2 diabetes mellitus. Am. J. Cardiol. 101 (11A) : 82E–88E, 2008.
17. D'Antona G, Ragni M, Cardile A, *et al*. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. Cell Metab. 12 (4) : 362–372, 2010.
18. Solon-Biet SM, Cogger VC, Pulpitel T, *et al*. Branched chain amino acids impact health and lifespan indirectly via amino acid balance and appetite control. Nat Metab. 1 (15) : 532–545, 2019.
19. Mu WC, VanHoosier E, Elks CM, *et al*. Long-Term Effects of Dietary Protein and Branched-Chain Amino Acids on Metabolism and Inflammation in Mice. Nutrients. 10 (7) : 918, 2018.
20. Cummings NE, Williams EM, Kasza I, *et al*. Restoration of metabolic health by decreased consumption of branched-chain amino acids. J. Physiol. 596 (4) : 623–645, 2018.
21. Xiao F, Yu J, Guo Y, *et al*. Effects of individual branched-chain amino acids deprivation on insulin sensitivity and glucose metabolism in mice. Metabolism. 63 (6) : 841–850, 2014.
22. Xiao F, Huang Z, Li H, *et al*. Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK pathways. Diabetes. 60 (3) : 746–756, 2011.
23. Yu D, Richardson NE, Green CL, *et al*. The adverse metabolic effects of branched-chain amino acids are mediated by isoleucine and valine. Cell Metab. 33 (5) : 905-922.e6, 2021.
24. Fontana L, Cummings NE, Arriola Apelo SI, *et al*. Decreased Consumption of Branched-Chain Amino Acids Improves Metabolic Health. Cell Rep. 16 (2) : 520–530, 2016.
25. White PJ, Lapworth AL, An J, *et al*. Branched-chain amino acid restriction in Zucker-fatty rats improves muscle insulin sensitivity by enhancing efficiency of fatty acid oxidation and acyl-glycine export. Mol Metab. 5 (7) : 538–551, 2016.
26. Richardson NE, Konon EN, Schuster HS, *et al*. Lifelong restriction of dietary branched-chain amino acids has sex-specific benefits for frailty and life span in mice. Nat Aging. 1 (1) : 73–86, 2021.
27. Karusheva Y, Koessler T, Strassburger K, *et al*. Roden, Short-term dietary reduction of branched-chain amino acids reduces meal-induced insulin secretion and modifies microbiome composition in type 2 diabetes : a randomized controlled crossover trial. Am. J. Clin. Nutr. 110 (5) : 1098–1107, 2019.
28. Deelen J, Kettunen J, Fischer K, *et al*. A metabolic profile of all-cause mortality risk identified in an observational study of 44,168 individuals. Nat. Commun. 10 (1) : 3346, 2019.
29. Le Couteur DG, Ribeiro R, Senior A, *et al*. Branched chain amino acids, cardiometabolic risk factors and outcomes in older men : the Concord Health and Ageing in Men Project. J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 75 (10) : 1805–1810, 2019.
30. Dillon EL, Sheffield-Moore M, Paddon-Jones D, *et al*. Amino acid supplementation increases lean body mass, basal muscle protein synthesis, and insulin-like growth factor-I expression in older women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 94 (5) : 1630–1637, 2009.
31. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, *et al*. Rapamycin

fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. Nature. 460 (7253) : 392–395, 2009.
32. Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA, *et al*. Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. Science. 351 (6268) : 43–48, 2016.
33. Green CL, Lamming DW, Fontana L, Molecular mechanisms of dietary restriction promoting health and longevity. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 23 (1) : 56–73, 2022.
34. Zhang Y, Xie Y, Berglund ED, *et al*. The starvation hormone, fibroblast growth factor-21, extends lifespan in mice. Elife. 1 : e00065, 2012.
35. Jang C, Oh SF, Wada S, *et al*. A branched-chain amino acid metabolite drives vascular fatty acid transport and causes insulin resistance. Nat. Med. 22 (4) : 421–426, 2016.

Branched-chain Amino Acid Metabolism and Aging

Hideru Obinata [1]

[1] Graduate School of Medicine Education and Research Support Center, Gunma University

Akimitsu Konishi [2]

[2] Department of Biochemistry, Graduate School of Medicine, Gunma University

Abstract

The branched-chain amino acids (leucine, isoleucine, and valine) are not only the building blocks for protein synthesis but also molecules with various physiological activities and are gaining increasing attention in aging research. Recent studies have revealed their association with diseases commonly found in the elderly, such as glucose tolerance abnormalities, cardiovascular diseases, cancer, and sarcopenia, as well as their role in improving glucose and lipid metabolism and extending lifespan through supplementation or restriction of branched-chain amino acids. We have discovered new mechanisms for controlling cellular senescence through branched-chain amino acid metabolism and dynamic alterations in this metabolism due to aging. The significance of branched-chain amino acid metabolism in aging research is expected to rise. In this review, we will present the fundamentals of branched-chain amino acid metabolism to the latest research findings in aging studies, including our research results.

Keywords : Branched-chain amino acid, BCAT2, Cellular senescence, Metabolomics, Reactive oxygen species

基礎老化研究 48（1）; 9－14, 2024

【総説】

食事による栄養制御と代謝健康

近藤　嘉高
東京都健康長寿医療センター研究所　老化制御研究チーム　分子老化制御

要約

食事による栄養制御の方法論として、古くからカロリー制限の抗老化作用が研究されてきたが、近年、食事の質やタイミングに関する介入方法が注目を集めている。摂取カロリーは変えずに三大栄養素（タンパク質、脂質、炭水化物）の摂取カロリー比率、とりわけタンパク質の摂取比率を減らすタンパク質制限は、metabolic health（代謝健康）に対する良い効果および寿命延長作用が報告されている。一方で、タンパク質制限の悪影響もわかってきた。筆者らは、高齢期にむけて代謝健康の維持に適したタンパク質摂取比率を検討した結果、若齢および中齢マウスでは 5% と 45% は極端な結果であり 25～35% が健康的であることを報告した。

キーワード：アミノ酸、三大栄養素、寿命、代謝健康、タンパク質

1．はじめに

はるか昔から人類は、不老不死を夢見て、長寿の方法や秘薬を追い求めてきた。一方、超高齢化社会を迎えた現代日本では、平均寿命が延びているものの、健康寿命（日常生活に制限のない期間の平均）との差は依然として大きいことから、健康寿命の延伸に国をあげて取り組んでいる。その実現のためには、若い頃から健康を維持して、がんや認知症、サルコペニア・フレイル、糖尿病、非アルコール性脂肪肝炎、心血管疾患などの加齢関連疾患を予防、治療する新たな老化制御方法を開発する必要がある。私たちに身近な食事による介入方法として、カロリー制限の効果が良く知られているが、近年、食事の量（カロリー）だけではなく質やタイミングに関する介入方法が注目を集めている。本稿では、カロリー制限や三大栄養素（タンパク質、脂質、炭水化物）の摂取比率による栄養制御が metabolic health（代謝健康；血糖値や血中の中性脂肪、HDL コレステロール、血圧などの値が正常な状態）に及ぼす効果について概説した後、各ライフステージにおける代謝健康に適したタンパク質摂取比率について、筆者らの研究成果を中心に紹介したい。

連絡先：近藤　嘉高
〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35-2
TEL：03-3964-3241（内線 4304）
E-mail：kondo@tmig.or.jp

2．カロリー制限の健康増進効果

カロリー制限とは、栄養不足にならないように摂取カロリーを自由摂食時から 30-40% 減らす食事の介入方法である[1]。1935 年にカロリー制限の効果が報告されて以来、カロリー制限は、酵母から線虫、ショウジョウバエ、マウスなどのモデル生物において老化の進行を遅らせて、最大寿命や平均寿命を延長することが報告されてきた。ただし、生物種や飼育環境、カロリー制限の程度や期間、給餌方法、遺伝型、性別によって効果は異なることから、カロリー制限の効果には慎重な解釈が必要である[2, 3]。

例えば、1980年代の後半から米国国立老化研究所とウィスコンシン大学において、ヒトの３分の１程度の寿命をもつアカゲザルを用いたカロリー制限の研究が独立に行われたが、両グループで異なる実験結果となった[4, 5]。ウィスコンシン大学の研究ではカロリー制限による寿命延長効果が認められたが、米国国立研究所の研究では寿命延長効果は認められなかった。そこで、両方の実験結果を統合して再解析した結果、実験条件の違い（アカゲザルの由来や飼料組成の違い、カロリー制限の開始年齢、対照群の条件など）に起因することがわかった[6]。一方、両研究に共通した実験結果として、カロリーを制限したアカゲザルは、ガンや糖尿病、心血管疾患といった加齢関連疾患の発症が対照群に比べて遅延した。したがって、カロリー制限の健康増進効果は、アカゲザルにおいても保存されていることが明らかとなった。

ヒトを対象にして一生涯のカロリー制限を行うことは難しいが、米国ルイジアナ州の Pennington Biomedical

Research Center など３つの臨床施設において、２年間のカロリー制限試験（CALERIE；Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy）が実施された。本試験は、非肥満者（BMI 22.0-27.9kg/m^2）の健康な男女（21-50歳）を被験者とした、フェーズ２のランダム化比較試験（25%カロリー制限群143名、自由摂食群75名）である[7]。カロリー制限群の実際のカロリー摂取量は、開始時に比べて平均11.9%の減少であり目標には及ばなかったものの、体重は平均7.5kg（うち71%は脂肪）の減少が維持された。カロリー制限群は、開始時から２年間、心血管代謝の危険因子（LDLコレステロールの減少スコア、総コレステロールのHDLコレステロールに対する割合、収縮期血圧、拡張期血圧）が持続的に有意に減少した。また、カロリー制限群は、C反応性タンパク質やインスリン感受性インデックス、メタボリックシンドロームスコアが有意に改善した。以上の結果から、若中年者におけるカロリー制限は、心血管系の健康を増進することが明らかとなった。また、２年間にわたりカロリーを15%制限した同様の研究においても、体重が平均8.7kg減少した[8]。しかしながら、カロリー制限は長期間の空腹に耐えることが難しく、過度な制限は必要な栄養素の不足や骨や骨格筋に対する悪影響が懸念されるため、ヒトにおいてはその実行性に難点がある。

３．三大栄養素の摂取比率が代謝健康に及ぼす影響

近年、カロリー制限に代わり、食事の質［三大栄養素の摂取比率、タンパク質／アミノ酸制限、ケトジェニックダイエット］やタイミング［断食、時間制限食］に着目した介入方法が世界的な注目を集めている[9]。食物の三大栄養素あるいはエネルギー産生栄養素とは、タンパク質（4kcal/g）、脂質（9kcal/g）、炭水化物（4kcal/g）をさす。カロリー制限は三大栄養素の消費を大きく減らすことから、特定の三大栄養素の摂取量低下がカロリー制限の効果をもたらしているのではないかという仮説が古くから考えられてきた。シドニー大学のSimpsonらの研究グループは、セルロースで希釈して調整したカロリー量（低：8kJ/g，中：13kJ/g，高：17kJ/g）や三大栄養素のカロリー比率（タンパク質：5-60%，脂質：20-75%，炭水化物：20-75%の組み合わせ）が異なる25種類の飼料をC57BL/6Jマウスに４週齢から一生涯自由摂食させて、摂食量や代謝健康、生存曲線などを調べた[10]。タンパク質および炭水化物の摂取比率が低い群では代償的に摂食量が増加したが、脂質ではその作用が認められなかった。また、摂取カロリーにかかわらず、飼料のタンパク質／炭水化物の比が低い群は、最も寿命が長く、死亡リスクが低いことがわかった。その理由として彼らは、タンパク質摂取量が多いほど血中の分岐鎖アミノ酸（BCAA）濃度が高くグルコース濃度は低いことから、肝臓mTOR活性化の亢進が寿命を短縮したのでないかと述べている。また、15ヶ月齢において飼料のタンパク質／炭水化物の比が低い群は、他群に比べて血圧が低い、血中の中性脂肪が低い、HDLが高い、LDLが低い、耐糖能が亢進するなど、代謝健康に対する良い効果が認められた。さらに、セルロースによる希釈によりカロリー摂取量を低下させても寿命延長効果は認められなかったことから、カロリー制限による寿命延長効果は、タンパク質摂取量の抑制による効果が寄与している可能性が示唆された。しかし、Speakmanらは、カロリー制限はタンパク質制限の有無にかかわらず寿命延長効果を示すこと、タンパク質制限のタンパク質摂取量は典型的なカロリー制限研究とは範囲が異なり、寿命延長の程度も異なることから、タンパク質制限は別の現象であると述べている[11]。結論を出すためには、カロリー制限とタンパク質制限のメカニズムを解き明かして比較するなど、今後のさらなる研究が期待される。

このようにタンパク質制限は代謝健康に対する優れた食事介入として期待されているが、はたして万能なのだ

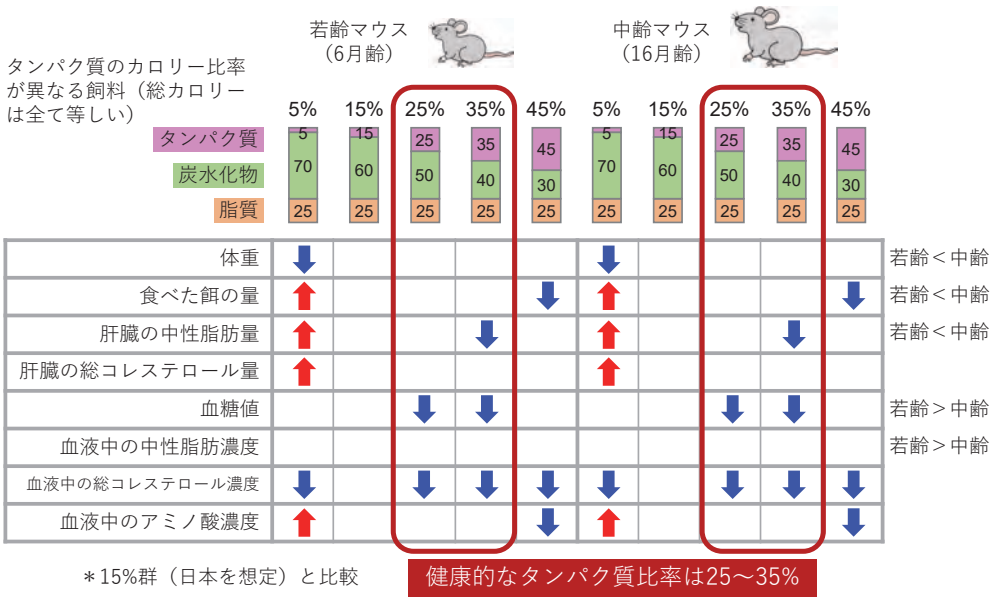


図１　若齢および中齢マウスにおける代謝健康に適したタンパク質摂取比率

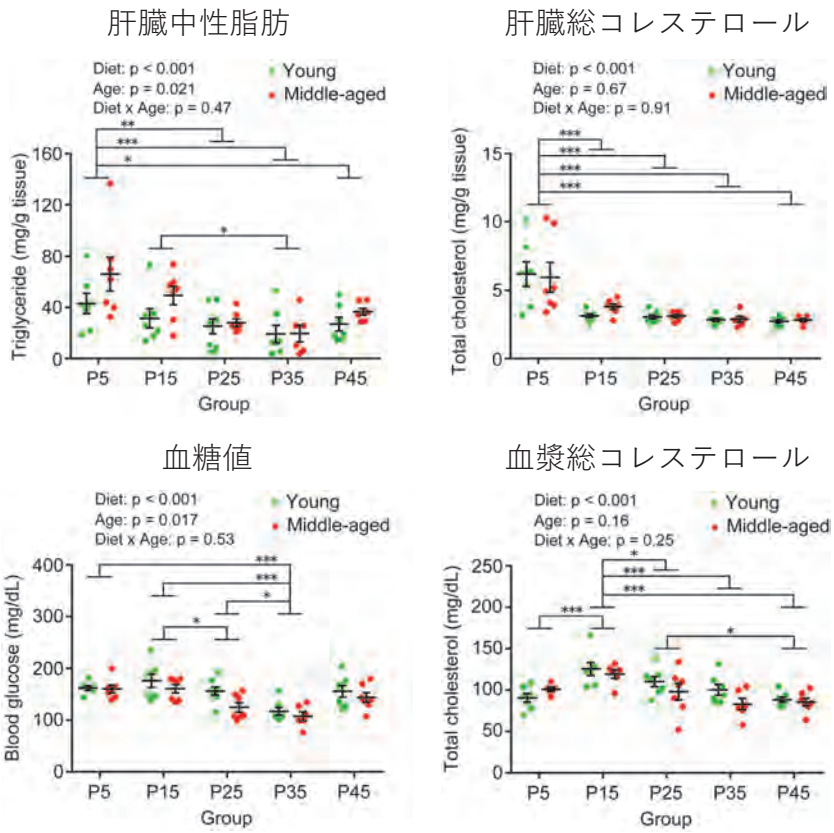


図２　若齢および中齢マウスにおける肝臓中性脂肪量および総コレステロール量、血糖値、血漿総コレステロール濃度（文献 18 より改変）

ろうか。Lamming らの研究グループは、10 週齢のマウス（C57BL/6J, DBA/2J, HET3）に異なるタンパク質比率の飼料（7%, 14%, 21%）を 13 週間投与して代謝健康の各指標について系統差および性差を検討した結果、タンパク質制限は総じて C57BL/6J およびオスで高い効果が認められたが、指標によって系統や性の影響が異なることを示した[12]。また、高齢期（21-23ヶ月齢）からのタンパク質制限は、代謝健康に対して一定の効果が認められたものの、除脂肪体重が若齢よりも効果が低いことから、サルコペニア・フレイルへとつながる可能性が懸念される[12]。さらに、Simpson らの研究グループは、前述の研究においてタンパク質 / 炭水化物の比が低い群は、体脂肪が多く脂肪肝であること[10, 13]、中齢以降は死亡リスクがかえって高いこと[14]、糸球体濾過率および腎臓重量の低下、免疫細胞の浸潤、構造傷害をきたすこと[15]、オスの生殖能力は低いこと[16] を報告している。これらの知見を考えあわせると、成長期から一生涯のタンパク質制限は、寿命を延ばすものの、健康寿命に対する効果は注意深く判断する必要がある。

４．中齢期における代謝健康に適したタンパク質の摂取比率

高齢者では低栄養などによるサルコペニアやフレイルが問題となっており、その予防あるいは改善するためにも、充分な量のタンパク質を摂取することが推奨されている。したがって、健康長寿に最適な食事の三大栄養素の摂取比率は、成長期、若齢期、中齢期、高齢期といった各ライフステージで異なると考えられるが、具体的な数値はわかっていない。農林水産省の令和３年度食料需給表（概算）によると、日本における１人・１日あたり供給熱量は 2271kcal であり、カロリー比率の内訳はタンパク質 13.8%、脂質 32.5%、炭水化物 53.7% である[17]。そこで私たちは、高齢期にむけて健康維持に適したタンパク質の摂取比率を明らかにするため、若齢（６ヶ月齢）と中齢（16 ヶ月齢）のオス C57BL/6N マウスにタンパク質のカロリー比率が異なる５種類の飼料（5%, 15%, 25%, 35%, 45%）を与えて飼育し、タンパク質の摂取比率や月齢が代謝健康に及ぼす影響を詳しく検討した（図１）[18]。各飼料は、カロリーが 4.2kcal/g と等しく、脂質の比率は日本を想定した 25% に固定して、炭水化物の比率を変えた。すなわち、タンパク質 5% 炭水化物 70% 脂質 25%、タンパク質 15% 炭水化物 60% 脂質 25%、タンパク質 25% 炭水化物 50% 脂質 25%、タンパク質 35% 炭水化物 40% 脂質 25%、タンパク質 45% 炭水化物 30% 脂質 25% の５群を用意した。タンパク質 15% の飼料は、現在の日本における三大栄養素バランスに最も近い。飼育２ヶ月後、中齢マウスの体重は若齢よりも高値であり、タンパク質 5% 群は他群よりも低値であった[18]。また、中齢マウスが食べた食餌量は若齢よりも多く、5% 群の摂食量は他群よりも多かったものの、45% 群では少なかった。摂取タンパク質量が不足すると摂食量が増える、もしくは摂取タンパク質量が充分だと摂食量が減るという現象は、「protein leverage（タンパク質のてこ）」と呼ばれる体内のタンパク質量を制御

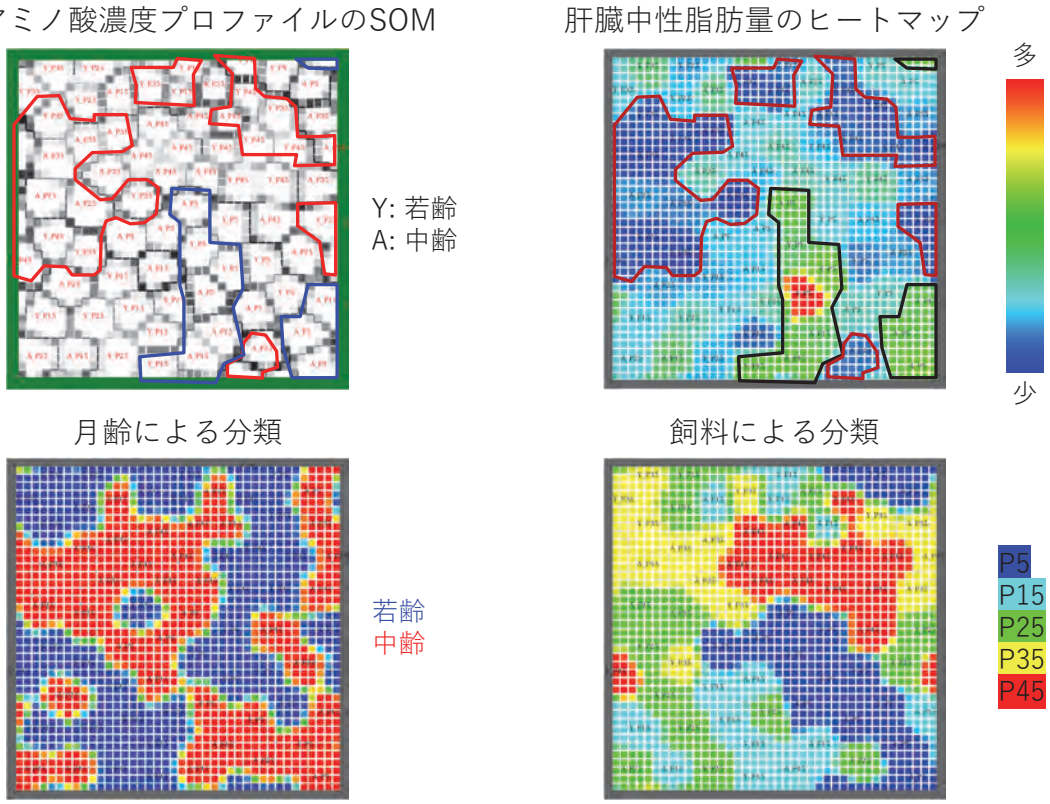


図３　若齢および中齢マウスにおける血中アミノ酸濃度の自己組織化マップ（SOM）解析、肝臓中性脂肪量との相関（文献 18 より改変）

するための食欲調節機構によるものである。

タンパク質5%群では、肝臓に多くの脂肪滴が認められ、中性脂肪量と総コレステロール量が多かった(図２)[18]。また、中齢の5%群および15%群の肝臓中性脂肪量は、若齢よりも高値であった。肝臓に脂肪が蓄積する現象は、タンパク質の摂取不足による栄養失調（クワシオルコル）に特徴的な症状である。低タンパク質摂取による脂肪肝は、脂質合成系の亢進によるものと考えられている[19]。一方、35%群は、若齢、中齢ともに肝臓の中性脂肪量が少ないことがわかった。血糖値は、若齢、中齢ともに25%群、35%群が低かったが、45%群は高値を示した（図２）。45% 群は、飼料の炭水化物比率が 30%と低いことから、体内でタンパク質のアミノ酸を分解して糖新生している可能性が考えられる。また、血中の中性脂肪濃度は飼料による違いが認められなかったが、総コレステロール値は15% 群が最も高く、5%, 35%, 45%群は低かった（図２）。

次に、タンパク質比率の異なる飼料や月齢の違いにより、体内のアミノ酸レベルは異なるのではないかと考え、血中のアミノ酸濃度（20 種類）を測定した。体内で生合成できない９種類の必須アミノ酸の血中濃度は、飼料や月齢による違いが認められなかった[18]。一方、体内で生合成できる 11 種類の非必須アミノ酸の血中濃度は、若齢、中齢ともに 5% 群が最も高値を示し、45% 群で最も低値を示した。5% 群では、タンパク質の摂取量が不足したため、体内で非必須アミノ酸が合成された可能性が考えられる。一方、45% 群は、炭水化物の摂取量が不足した結果、体内で非必須アミノ酸を分解することにより、エネルギー源として利用した可能性が考えられる。また、血中の分岐鎖アミノ酸濃度（BCAA）は、35% 群と 45% 群で最も高値を示した。分岐鎖アミノ酸は、筋肉においても重要なアミノ酸であることから、タンパク質摂取比率を高めることはサルコペニア・フレイル予防にとって有益であるといえよう。

機械学習である自己組織化マップ（SOM：self-organizing map）解析は、高次元のデータセットに対して、似ているデータを二次元マップ上で近くに配置することにより、塊（クラスター）として分類する手法である。共同研究者である東京大学の高橋らは、各アミノ酸の欠乏飼料を与えたラットの血中アミノ酸濃度（20 種類）のデータセットに対して SOM 解析を行なった結果、分類されたクラスターが肝臓中性脂肪量と良く相関すること、さらに多層パーセプトロン（MLP：multi-layer perceptron）解析により血中アミノ酸濃度から肝臓中性脂肪量を高い精度で予測できることを見出した[20]。そこで、本研究で得られた血中アミノ酸濃度（20 種類）のデータセットに対して SOM 解析を行なったところ、似たアミノ酸濃度プロファイルをもつマウスで構成される複数のクラスターが形成された（図３）[18]。また、血中アミノ酸濃度のプロファイルは、月齢やタンパク質比率が異なる飼料の条件だけで決定されることがわかった（図３）。さらに、得られた自己組織化マップに肝臓中性脂肪量のヒートマップを重ね合わせた結果、肝臓中性脂肪量が多いクラスターや少ないクラスターが認められた

ことから、血中アミノ酸濃度プロファイルと肝臓中性脂肪量は良く相関することが明らかになった（図３）。以上の結果を総合的に考えると、若齢、中齢ともにタンパク質比率 25～35% が最も健康的であるといえる（図１）。

５．おわりに

食事の三大栄養素とりわけタンパク質の摂取比率は、代謝健康に大きな影響を与えることがわかってきた。しかし、最適なタンパク質摂取比率は、どの評価項目を重視するかによっても異なること、また各ライフステージで異なりうることに留意する必要がある。食事の三大栄養素バランスを変えるという栄養制御方法はヒトで実践しやすいことから、健康長寿を実現する新しい老化制御方法論の確立にむけて今後のさらなる研究が期待される。

引用文献

1. Green CL, Lamming DW, Fontana L. Molecular mechanisms of dietary restriction promoting health and longevity. Nat Rev Mol Cell Biol 23(1)：56-73, 2022.
2. Swindle WR. Dietary restriction in rats and mice：a meta-analysis and review of the evidence for genotype-dependent effects on lifespan. Ageing Res Rev 11(2)：254-270, 2012.
3. Baloni P, Sangar V, Yurkovich JT, et al. Genome-scale metabolic model of the rat liver predicts effects of diet restriction. Sci Rep 9(1)：9807, 2019.
4. Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, et al. Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. Nature 489（7415)：318-321, 2012.
5. Colman RJ, Beasley TM, Kemnitz, JW, et al. Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys. Nat Commun 5：3557, 2014.
6. Mattison JA, Colman RJ, Beasley TM, et al. Caloric restriction improves health and survival of rhesus monkeys. Nat Commun 8：14063, 2017.
7. Kraus WE, Bhapkar M, Huffman KM, et al. 2 years of calorie restriction and cardiometabolic risk（CALERIE)：exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. Lancet Diabetes Endocrinol 7(9)：673-683, 2019.
8. Redman LM, Smith SR, Burton JH, et al. Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. Cell Metab 27：805-815, 2018.
9. Mihaylova M, Chaix A, Delibegovic M, et al. When a calorie is not just a calorie：Diet quality and timing as mediators of metabolism and healthy aging. Cell Metab 35(7)：1114-1131, 2023.
10. Solon-Biet S, McMahon AC, Ballard JWO, et al. The ratio of macronutrients, not caloric intake, dictates cardiometabolic health, aging, and longevity in ad libitum-fed mice. Cell Metab 19(3)：418-430, 2014.
11. Speakman JR, Mitchell SE, Mazidi M. Calories or protein? The effect of dietary restriction on lifespan in rodents is explained by calories alone. Exp Gerontol 86：28-38, 2016.
12. Green CL, Pak HH, Richardson NE, et al. Sex and genetic background define the metabolic, physiologic, and molecular response to protein restriction. Cell Metab 34(2)：209-226, 2022.
13. Simpson SJ, Raubenheimer D, Cogger VC, et al. The nutritional geometry of liver disease including non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol 68(2)：316-325, 2018.
14. Senior AM, Solon-Biet SM, Cogger VC, et al. Dietary macronutrient content, age-specific mortality and lifespan. Proc Biol Sci 286(1902)：20190393, 2019.
15. Fotheringham AK, Solon-Biet SM, Bielefeldt-Ohmann H, et al. Kidney disease risk factors do not explain impacts of low dietary protein on kidney function and structure. iScience 24(11)：103308, 2021.
16. Solon-Biet SM, Walters KA, Simanainen UK, et al. Macronutrient balance, reproductive function, and lifespan in aging mice. Proc Natl Acad Sci USA 112(11)：3481-3486, 2015.
17. 農林水産省．令和３年度食料需給表（概算）.
18. Kondo Y, Aoki H, Masuda M, et al. Moderate protein intake percentage in mice for maintaining metabolic health during approach to old age. GeroScience 45(4)：2707-2726, 2023.
19. Otani L, Nishi H, Koyama A, et al. Low-arginine and low-protein diets induce hepatic lipid accumulation through different mechanisms in growing rats. Nutr Metab 17：60, 2020.
20. Nishi H, Yamanaka D, Kamei H, et al. Importance of Serum Amino Acid Profile for Induction of Hepatic Steatosis under Protein Malnutrition. Sci Rep 8(1)：5461, 2018.

Dietary intervention and metabolic health

Yoshitaka Kondo
Molecular Regulation of Aging
Tokyo Metropolitan Institute of Geriatrics and Gerontology

Abstract

Although the anti-aging effects of caloric restriction have long been studied as a method of nutritional control through diet, interventions related to diet quality and timing have recently received more attention. Protein restriction, which reduces the ratio of calories among macronutrients (protein, fat, and carbohydrate) , especially protein, without changing caloric intake, has been reported to have positive effects on metabolic health and extend life spans. However, the adverse effects of protein restriction have also been reported. The authors examined the optimal ratio of protein intake for maintaining metabolic health during the approach to old age and reported that 5% and 45% are extreme and 25-35% are healthy in young and middle-aged mice.

Keywords：Amino acids, Lifespan, Macronutrients, Metabolic health, Protein

基礎老化研究 48（1）; 15－20, 2024

【総説】

心不全におけるコリン由来代謝物質の意義

吉田　陽子[1, 2]
[1]順天堂大学大学院医学研究科　先進老化制御学講座
[2]順天堂大学大学院医学研究科　循環器内科学

要約

これまでの研究で、心不全患者における低体温がその予後と関連していることが報告されているが、その機序については明らかにされていない。今回我々は、心不全時の褐色脂肪機能不全に伴って増加した代謝物質が心臓の代謝リモデリングを惹起し、心不全をさらに増悪させることを見出だした。大動脈縮窄術による心不全モデルマウスでは、熱産生能などの褐色脂肪機能が低下した。心不全モデルにおいて褐色脂肪機能を増強すると心機能が改善し、反対に褐色脂肪機能不全モデルマウスでは圧負荷時の心機能低下や心臓の線維化が悪化した。メタボローム解析により、心不全時には Trimethylamine N-oxide（TMAO）が心臓や血液中で増加すること、TMAOの前駆代謝物質であるコリンが不全褐色脂肪において増加することがわかった。さらに詳細な検討により、TMAOが心筋細胞の代謝リモデリング、特にミトコンドリア障害を来たすことにより、心不全の病態の進行に寄与していることが示唆された。これらの結果より TMAO が心不全の新たな治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

キーワード：褐色脂肪、心不全、代謝産物

1．研究の背景

我が国では 65 歳以上の老年人口が 28% を超え、既に超高齢社会に突入している。よく知られているように糖尿病や心不全、慢性腎障害や癌などは加齢とともに増加する疾患であり、ますます高齢化が進行することが予想される我が国においてはこれらの加齢関連疾患の病態解明や新たな治療法の開発が重要となってくる。

循環器疾患、特に心不全の分野においては、従来高いエビデンスをもって治療に使われてきた薬剤に加えて、新規治療薬やデバイスも含めた治療が行われるようになり、心不全治療は近年、新たな局面を迎えつつある。しかしながら重症心不全の予後は未だに不良であり、心不全の発症・進展の機序の解明や新たな治療の開発は現在なお喫緊の課題である。

ヒトの体内には 6500 種以上もの代謝産物が存在し、その変化が心不全の病態と密接な関連があると言われている[1]。コリンやその代謝産物であるトリメチルアミン N- オキシド（Trimethylamine N-Oxide, TMAO）はヒトの心不全患者の血液中で増加し、心不全の重症度分類である NYHA（New York Heart Association）分類と正の相関をするということが報告されている[2]。コリンはメチル基を有する４級アンモニウムカチオンで、生体内においては細胞膜の構造の維持に重要な役割を果たしている他、アセチルコリンなどの神経伝達物質の前駆体としての役割やメチル基を供給する代謝サイクルにおいても重要な役割を果たしていることが知られている。これらの働きは、内因性代謝経路の中でコリンが様々な形のコリン代謝物に形を変えることでその作用を発揮するが、外因性の代謝経路としては、食餌由来のコリンは腸内細菌によって中間代謝物トリメチルアミン（Trimethylamine, TMA）へ代謝された後、肝臓で TMAO へ変換されると考えられている。TMAO は動脈硬化巣へのコレステロールの蓄積を促進することにより、TMAO は動脈硬化の病態を進行させると言われているが[3]、TMAO の心不全の病態における役割や意義は不明のままである。

脂肪組織は白色脂肪と褐色脂肪に大別される。褐色脂肪組織（Brown adipose tissue, BAT）はかつては乳幼児と齧歯類にのみ存在する熱産生組織であると考えられていたが、近年、ヒトの成人にも存在し、全身の代謝を制御する活発な代謝臓器であることがわかってきた[4-6]。食餌誘導性肥満モデルマウスでは褐色脂肪が機能不全に

連絡先：吉田　陽子
〒 113-8421　東京都文京区本郷 2-1-1
TEL：03-3813-3111　FAX：03-5689-0627
E-mail：yohkoyoshida@juntendo.ac.jp

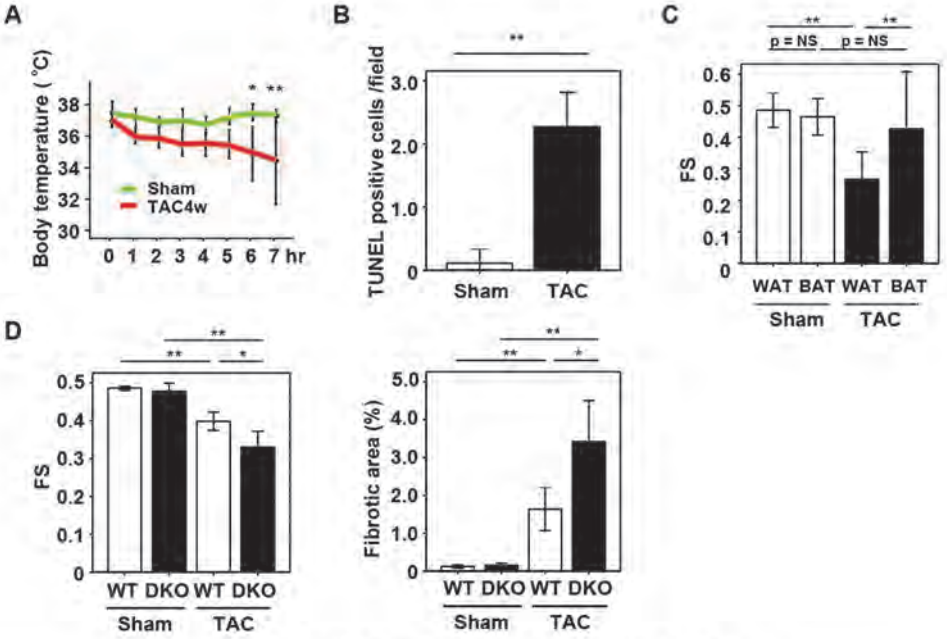


図１　圧負荷時に褐色脂肪の機能不全が生じる

A: TACモデルマウスにおける急性寒冷刺激試験 B: TACモデルマウスの褐色脂肪組織におけるアポトーシス
C: 褐色脂肪移植マウスにおける左室収縮能　D: 遺伝的褐色脂肪機能不全マウスにおける心機能(左)および心臓線維化(右)
TAC; 大動脈縮索術、Sham; 偽手術、WAT; 白色脂肪移植群、BAT; 褐色脂肪移植群、FS; Fractional Shortning(左室収縮能)
WT; 野生型、DKO; 褐色脂肪特異的Mfn1/Mfn2ダブルノックアウトマウス(遺伝的褐色脂肪機能不全マウス)
(Sci Rep 2022 (文献22)より引用改変)

陥り、全身のインスリン抵抗性を引き起こすこと[7]、心機能が保たれた心不全（Heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF）モデルマウスでは褐色脂肪の機能低下が報告されている[8]。また体温の低い心不全患者は予後不良であるという報告もあり[9]、褐色脂肪機能と心不全の病態には何らかの密接な関連性があることが示唆されるが、その詳細については未解明のままである。

今回我々は、心不全の病態において褐色脂肪が機能不全に陥ることでコリン代謝が変容し、その結果、体内で増加したTMAOが心筋ミトコンドリアの機能を低下させることで心機能を負に制御することを明らかにした。

２．左室圧負荷時の褐色脂肪機能不全が心機能を悪化させる

横行大動脈縮索（Transverse Aortic Constriction, TAC）による左室圧負荷モデルを作製すると、TAC4週後には心機能低下とともに、体表温度の低下や急性寒冷刺激試験時の熱産生能の低下が見られた（図１A）。その際の褐色脂肪組織はHypoxic probeを用いた免疫組織学的手法による解析により低酸素状態となっており（data not shown）、熱産生に重要な働きをするUncoupling protein-1（UCP-1）の発現の低下やアポトーシスの増加が見られたことから（図１B）、左室圧負荷時には心不全に起因する全身の循環不全（虚血）に伴う低酸素ストレスにより褐色脂肪細胞の細胞死（アポトーシス）が増加し、褐色脂肪の機能不全が生じていることが示唆された。

健康なマウスの褐色脂肪組織をレシピエントマウスの腹腔内に移植し、褐色脂肪機能を増強したマウスにTACを行うと、熱産生能の回復とともに圧負荷時の心機能低下が改善した（図１C）。反対に遺伝的褐色脂肪機能不全マウスである褐色脂肪特異的Mfn1/Mfn2ダブルノックアウトマウスでは、圧負荷時の心機能がさらに低下し心臓の線維化がさらに悪化すると共に、TAC後の死亡率も増加した（図１D）。同様に、褐色脂肪組織を外科的に切除（BATectomy）した褐色脂肪機能不全マウスモデルにおいても圧負荷時の心機能がさらに悪化した。

心不全時には種々の経路により慢性的な過剰な交感神経活性化が生じ、これが心機能を悪化させることが知られている[10, 11]。我々のTACモデルマウスにおいても検証したところ、TACモデルの褐色脂肪組織ではノルエピネフリンレベルが上昇していることがわかった。そこで、褐色脂肪組織に投射する交感神経を外科的に除神経したところ、圧負荷時の心機能低下が改善することがわかった。

これらの結果から、圧負荷時には低酸素ストレスや過剰な交感神経の活性化を介して褐色脂肪細胞のアポトーシスが生じ、褐色脂肪機能不全が引き起こされること、褐色脂肪機能不全が何らかの機序により圧負荷時の心機能低下を惹起することが示唆された。

３．圧負荷時に増加するTMAOが心機能低下を引き起こす

褐色脂肪機能不全が心不全を引き起こす分子メカニズムを明らかにするため、TACモデルマウスの様々な組織を用いて、網羅的なメタボロミクス解析を行った。その結果、TACマウスの褐色脂肪組織ではコリンが増

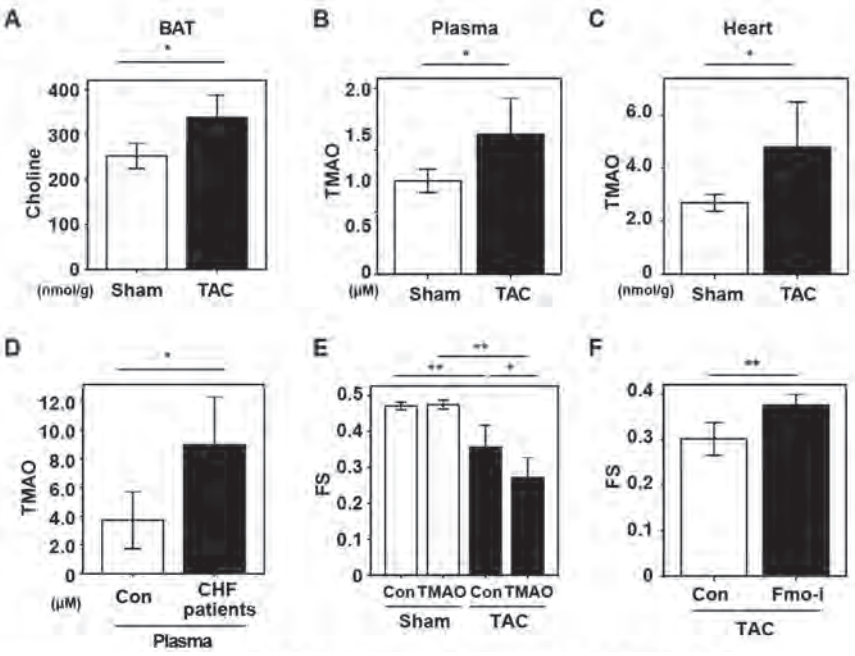


図２　圧負荷時に増加する TMAO が心機能を低下させる

A: TACモデルマウスの褐色脂肪におけるコリンレベル B, C: TACモデルマウスの血漿(B)および心臓組織(C)におけるTMAOレベル
D: 心不全患者の血中TMAOレベル　E: TMAO投与下のTACモデルマウスにおける心機能
F: FMO阻害薬投与下のTACモデルマウスにおける心機能
TAC; 大動脈縮窄術、Sham; 偽手術、CHF; うっ血性心不全、FS; Fractional Shortning(左室収縮能)、Fmo-i; FMO阻害薬
(Sci Rep 2022 (文献22)より引用改変)

加すること（図２A)、また血漿と心臓においてコリンの代謝産物である TMAO が増加することが明らかになった（図２B, C)。さらに BAT を腹腔内に移植したモデルにおいては、血中コリンレベルが低下することがわかった。以前に心不全患者の血液中ではコリンや TMAO レベルが上昇し、これは心不全の重症度とも相関することが報告されている[2]。また我々が行った心不全患者における調査においても、健康な成人と比較して心不全患者では血液中のコリンや TMAO レベルが上昇しており（図２D)、我々の心不全モデルマウスでのメタボロミクス解析の結果はヒト心不全患者のデータとも一致するものであると考えられた。さらに上述の外科的に BAT を切除した BATectomy モデルマウスでは圧負荷時に血液中や心臓においてさらに TMAO レベルが上昇することがわかった。これらの結果から、圧負荷時に生じる褐色脂肪機能不全により正常に代謝されなくなったコリンが、TMAO へと変換され、血液中や心臓において増加していることが示唆された。

そこで、圧負荷時に増加するTMAOの病的意義を検証するために、TACによる心不全モデルマウスにTMAOの持続投与を行った。TACを行った２週後から２週間、浸透圧ポンプを用いて TMAOを持続投与したところ、圧負荷時の心機能低下や心臓組織の線維化が TMAO 投与群でさらに悪化することがわかった（図２E)。同様に、食餌によるコリン負荷（高コリン食）を TAC モデルに行った際にも、血中や心臓での TMAO レベルが上昇すると共に、圧負荷時の心機能低下や心臓線維化が悪化することがわかった。

次に、中間代謝産物 TMA から TMAO への変換を触媒する酵素である Flavin-containing monooxygenase（FMO）の阻害により TMAO の産生を抑制し、心不全モデルにおける TMAO の病的意義の検証を行った。哺乳類では FMO1～5 の５つのアイソザイムが存在することが知られている。メチマゾールは一般的には抗甲状腺薬として使用されるが、低用量で FMO1～FMO5 全ての酵素活性を抑制する FMO 阻害剤として作用することが知られている[12-14]。そこで心不全モデルマウスに低用量のメチマゾールを投与したところ、圧負荷時の血中 TMAO レベルの上昇が抑制されるとともに、心機能低下や心臓の線維化が改善した（図２F)。さらに我々はバイオインフォマティクスの手法で FMO2 が雄マウスの TMAO 産生に重要であることを同定し、FMO2 ノックアウトマウスにおいても同様に検証を行った。CRISPR-Cas9 システムにより作出した全身 FMO2 ノックアウトマウスにおいて TAC を行うと、圧負荷時の心臓での TMAO レベルが低下するとともに、心機能の低下や心臓線維化が改善することがわかった。以上の結果から、FMO、特に FMO2 が圧負荷時の TMAO 増加に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

４．TMAO はミトコンドリア障害を介して心筋代謝リモデリングを引き起こす

次に我々は詳細な機序を検証するため、TMAO を持続投与したマウスを用いて解析を行った。浸透圧ポンプを用いて TMAO を２週間持続投与したマウスの心臓を用いてメタボロミクス解析を行ったところ、TMAO 投

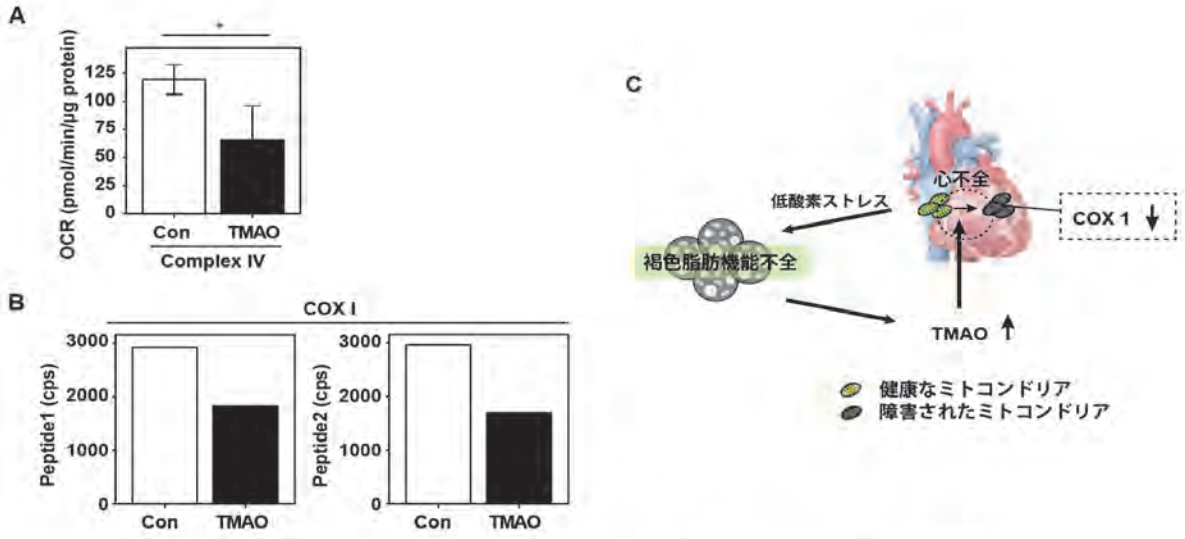


図３　TMAO はミトコンドリア障害を介して心筋代謝リモデリングを引き起こす

A: TMAO投与マウスの単離心臓ミトコンドリアにおけるComplex Ⅳ機能(細胞外フラックスアナライザー)
B: TMAO投与マウスの単離心臓ミトコンドリアにおけるCOX Ⅰレベル(プロテオミクス解析)　C: 本研究のサマリー
OCR; Oxygen comsumption rate　(Sci Rep 2022 (文献22)より引用改変)

与により心臓での ATP 産生やリン酸化クレアチンレベルが低下していることがわかった。さらに電子顕微鏡にて詳細な観察を行うと、TMAO を投与したマウスの心臓ではミトコンドリアの膨化・腫大やクリステ構造の破壊が見られ、細胞外フラックスアナライザーにより解析するとミトコンドリア酸化的リン酸化経路のうちの Complex Ⅳの機能が低下していることが示唆された（図３A)。以上の結果より TMAO の投与により心筋においてミトコンドリア、特に Complex Ⅳの機能が傷害を受けていると考えられた。

さらに詳細に解析するため、TMAO 投与マウスの心臓を用いて RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析および単離ミトコンドリアの網羅的プロテオミクス解析を行った。その結果、RNA-seq 解析では心臓において TMAO 投与により代謝リモデリングが生じていることが示唆され、またプロテオミクス解析ではミトコンドリア Complex IV のコンポーネントである COX Ⅰ（Cytochrome C oxidase Ⅰ）のレベルが低下していることがわかった（図３B)。COX Ⅰをコードする MT-CO1 の発現レベルには変化がなかったことから、TMAO は翻訳後修飾によりタンパクレベルで COX Ⅰの発現を制御しているものと考えられた。

以上の結果から、TMAO が COX Ⅰの発現抑制を介して心筋のミトコンドリア機能を抑制し、本来、脂肪酸を主な基質としたミトコンドリア呼吸によって心筋収縮に必要な ATP を大量に産生している心筋細胞において、その代謝経路を障害していること、すなわち心筋の代謝リモデリングを生じさせていること、このことにより、圧負荷時の心機能をさらに低下させていることが示唆された。

５．考察

本研究において我々は、心不全モデルマウスにおいて褐色脂肪が機能不全に至り、コリン代謝に異常を生じること、その結果、TMAO 産生が増加し褐色脂肪機能不全が心不全をさらに悪化させることを明らかにした。TMAO 産生酵素である FMO は従来、そのアイソザイムの一つである FMO3 がよく研究されてきた。FMO3 はメスでは肝臓において多く発現し、TMAO 産生に重要であることが知られているが、オスではその発現は低いことが知られている[15]。我々の検討においてもオスの肝臓では FMO3 の発現は低く、一方でバイオインフォマティクスの手法により FMO2 がオスの TMAO 産生に重要であることが示唆された。実際に、FMO2 のノックアウトマウスを用いた検討により、FMO2 が圧負荷時の TMAO 産生に重要な役割を果たすこと、TMAO はミトコンドリアの Complex IV の機能抑制を介して心筋代謝を負に制御することが明らかとなった。コリンは腸内細菌の働きにより中間代謝産物 TMA へ代謝され、肝臓の FMO により TMAO へと変換されると広く受け入れられている[16]。しかしながら、我々の検討において、褐色脂肪機能不全がどのように TMAO の増加を制御しているか、あるいは心不全がどのように FMO の酵素活性に影響を与えているかについては、未だ明らかではなく、今後の検討が必要である。

これまでの報告により心不全患者では腸内細菌のバランスの変化（dysbiosis）が生じていることが知られている[17]。Pasini らは心不全時には Candida や Campylobacter、Shigella、Salmonella、Yersinia enterocolitica といった病原性を有する種属の腸内細菌が増加することを報告している[18]。また心不全患者では Faecalibacterium prausnitzii が減少し Ruminococcus gnavus が増加する

こと、これらの変化はTMA産生酵素であるTMA-lyaseの増加と相関していることが報告されている[19]。HayashiらはEscherichia/Shigella属とTMAOレベルが正の相関を示すことを報告している[20]。これらの知見は心不全時の腸内細菌の変化（dysbiosis）がTMA-lyaseの活性レベルの変化を介してTMAOレベルを制御している可能性を示しており、今後の詳細な検討が期待される。

TaharaらはFDG-PETを用いた検討により心不全患者で体温の低下とともにBATの検出率が低下し、心不全においてBATによる熱産生が低下していることを示唆する報告をしている[21]。我々の検討においては、心不全マウスの体温の低下や熱産生能の低下が見られたが、その際のBATは低酸素状態であるとともにアポトーシスが増加し、さらにBAT組織中のノルエピネフリンレベルが増加していた。さらにカテコラミン投与により心機能が低下するよりも以前から熱産生能が低下していることが明らかとなったことから、圧負荷時には持続的かつ過剰な交感神経の活性化が褐色脂肪の機能不全を誘導し、TMAOの産生増加を介して心機能をさらに悪化させる悪循環が存在していることが示唆された（図３C）[22]。心不全時にはTMAOは血液中でも増加しており、心臓以外にもミトコンドリアが多く存在する臓器、例えば骨格筋などにおいても影響を及している可能性が考えられる。心不全時の他臓器におけるTMAOの役割も検討していくことで、心不全に伴う様々な病態への理解が深まり、より効果的な心不全治療を創出できる可能性があると考えられた。

引用文献

1. Ikegami R, Shimizu I, Yoshida Y, et al. Metabolomic analysis in heart failure. Circ. J. 82：10–16, 2017.
2. Troseid M, et al. Microbiota-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide is associated with disease severity and survival of patients with chronic heart failure. J. Intern. Med. 277：717–726, 2015.
3. Koeth RA, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. Nat.Med. 19：576–585, 2013.
4. Ikeda K, Maretich P, Kajimura S. The common and distinct features of brown and beige adipocytes. Trends Endocrinol. Metab. 29：191–200, 2018.
5. Sacks H, Symonds ME. Anatomical locations of human brown adipose tissue：Functional relevance and implications in obesity and type 2 diabetes. Diabetes 62：1783–1790, 2013.
6. van der Lans AA, et al. Cold acclimation recruits human brown fat and increases non shivering thermogenesis. J.Clin.Investig. 123：3395–3403, 2013.
7. Shimizu I, et al. Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. J.Clin.Investig. 124：2099–2112, 2014.
8. Valero-Munoz M, et al. Heart failure with preserved ejection fraction induces beiging in adipose tissue. Circ.HeartFail. 9：e002724, 2016.
9. Ahmed A. et al. Decreasing body temperature predicts early rehospitalization in congestive heart failure. J.Card.Fail. 14：489–496, 2008.
10. Cohn JN, et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. N.Engl.J.Med. 311：819–823, 1984.
11. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. N.Engl.J.Med. 341：577–585, 1999.
12. Collins HL, et al. L-Carnitine intake and high trimethylamine N-oxide plasma levels correlate with low aortic lesions in ApoE（-/-）transgenic mice expressing CETP. Atherosclerosis 244：29–37, 2016.
13. Osman AM, Nemnem MM, Abou-Bakr AA, et al. Effect of methimazole treatment on doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. Food Chem. Toxicol. 47：2425–2430, 2009.
14. Li B et al. Flavin-containing monooxygenase, a new clue of pathological proteins in the rotenone model of parkinsonism. Neurosci. Lett. 566：11–16, 2014.
15. Janmohamed A, Hernandez D, Phillips IR, et al. Cell-, tissue-, sex-and developmental stage-specific expression of mouse flavin-containing monooxygenases（Fmos）. Biochem. Pharmacol. 68：73–83, 2004.
16. Cho CE, Caudill MA. Trimethylamine-N-oxide：Friend, foe, or simply caught in the cross-fire?. Trends Endocrinol. Metab. 28：121–130, 2017.
17. Anderson KM, et al. The heart and gut relationship：a systematic review of the evaluation of the microbiome and trimethylamine- N-oxide（TMAO）in heart failure. Heart Fail. Rev. 27：2223–2249, 2022.
18. Pasini E, et al. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. JACC Heart Fail. 4：220–227, 2016.
19. Cui X, et al. Metagenomic and metabolomic analyses unveil dysbiosis of gut microbiota in chronic heart failure patients. Sci. Rep. 8：635, 2018.
20. Hayashi T, et al. Gut microbiome and plasma microbiome-related metabolites in patients with decompensated and compensated heart failure. Circ. J. 83：182–192, 2018.
21. Tahara A, et al. Brown adipose tissue activation in severe heart failure. Eur. Heart J. 41：2415, 2020.
22. Yoshida Y, Shimizu I, Minamino T, et al. Brown adipose tissue dysfunction promotes heart failure via a trimethylamine N-oxide-dependent mechanism. Sci Rep. 12：14883, 2022.

Choline-derived metabolite as a novel therapeutic target for heart failure

Yohko Yoshida [1, 2]

[1] Department of Advanced Senotherapeutics, Juntendo University Graduate School of Medicine

[2] Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine

Abstract

Low body temperature predicts poor clinical outcomes in patients with heart failure, however, underlying mechanisms and pathological implications are largely unknown. Brown adipose tissue (BAT) was initially characterized as a heat generating organ, and studies suggest it has crucial roles for maintaining systemic metabolic health. Here, we demonstrate that alteration of BAT function contributes to development of heart failure through disorientation in choline metabolism. Thoracic aortic constriction (TAC) reduced the thermogenic capacity of BAT in mice, leading to significant reduction of body temperature under cold exposure. BAT became hypoxic with TAC, and hypoxic stress induced apoptosis of brown adipocytes. Cardiac function was impaired in a mouse model of genetic BAT dysfunction, in association with a low survival rate after TAC. Metabolomic analyses showed that BAT dysfunction led to an increase of choline and its downstream metabolite, trimethylamine N-oxide (TMAO), promoting metabolic dysfunction in the failing heart. TMAO administration resulted in a significant reduction in phosphocreatine or ATP level in cardiac tissues via suppression of mitochondrial complex IV activity. Inhibition of TMAO production ameliorated cardiac dysfunction during left ventricular pressure overload. These results suggest that maintenance of BAT homeostasis and reducing TMAO production could be potential next-generation therapies for heart failure.

Keywords : Brown adipose tissue, Heart failure, Metabolites

基礎老化研究 48（1）; 21－26, 2024

【総説】

中枢と骨格筋の NAD$^+$ 代謝に着目したサルコペニアの分子機序

伊藤　尚基[1]、今井　眞一郎[2, 3]

[1] 国立長寿医療研究センター 研究所 ジェロサイエンス研究センター 中枢性老化－骨格筋代謝－運動機能制御研究プロジェクトチーム

[2] ワシントン大学医学部（米国ミズーリ州セントルイス）発生生物学部門・医学部門（兼任）

[3] 一般社団法人プロダクティブ・エイジング研究機構

要約

加齢に伴う骨格筋量および筋力の低下（サルコペニア）、あるいは身体的フレイルは、転倒リスクの増大に加え、社会保障費の増大に繋がる医学的、社会的、そして経済的問題となっている。サルコペニアに限らず、加齢性疾患は単一遺伝子、あるいは単一組織で起こる疾患とは性質が異なり、本質的な理解のためには全身性あるいは個体レベルで起きている老化現象の一部として捉える視点が必要不可欠である。そこで本稿では加齢性疾患に深く関わるニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド（nicotinamide adenine dinucleotide：NAD$^+$）代謝に着目し、骨格筋の NAD$^+$ 代謝および中枢（脳）の NAD$^+$ 代謝に関する最新の知見を紹介し、NAD$^+$ 代謝を起点とした中枢－骨格筋連関とサルコペニア病態の関係性を概説したい。

キーワード：骨格筋、サルコペニア、NAD$^+$、中枢－骨格筋連関

1．はじめに

全世界的に高齢化が進み、今後も高い老齢人口を維持し続けていくと考えられる。その中でも日本の高齢化率は最も高い割合を示しており、認知症・骨粗鬆症をはじめとし、様々な加齢性疾患が問題となっている。特に加齢に伴う骨格筋量および筋力の低下（サルコペニア）、あるいは身体的フレイルは、転倒リスクの増大に加え、社会保障費の増大に繋がる医学的、社会的、そして経済的問題となっている。

サルコペニアは2016年に国際疾病分類第10版（ICD10）に登録され、疾患として認識されるようになった。また国内でも Asian Working Group for Sarcopenia によりサルコペニア診療ガイドラインが発行され、日本人を含めたアジア人に焦点を当てたサルコペニアの診断基準が提唱されている（詳細なサルコペニアの診断基準に関しては以下の文献を参照[1]）。しかし認知症でいうところのアミロイドβやリン酸化タウ蛋白質に匹敵するようなサルコペニアの明確な分子病態は明らかになっておらず、骨格筋量・筋力の低下を引き起こす根本的な原因は不明な点が多い。IGF-1 などの成長因子の低下、運動神経や神経筋接合部の異常、ホルモンの異常、低栄養や不活動などの様々な要因が関わっていると考えられており、タンパク質・アミノ酸を主成分とした栄養療法および運動療法を中心とした対症療法が行われている。

疾患への治療法を開発するためには、その原因となる分子病態を解明し、その分子病態に則した分子標的・創薬技術基盤を構築する必要がある。サルコペニアに限らず、加齢性疾患は単一遺伝子、あるいは単一組織で起こる疾患とは性質が異なり、本質的な理解のためには全身性あるいは個体レベルで起きている老化現象の一部として捉える視点が必要不可欠であると考えられる。一つの組織の破綻が他の組織に悪影響を与え、その悪影響が更なる組織の破綻を生むという負のスパイラルが加齢性疾患では生じていると考えられるが、加齢に伴う組織間相互作用の破綻は多くの部分が明らかになっていない[2–5]。この組織間相互作用の破綻に関わる分子機序を明らかにすることが、サルコペニアを含む加齢性疾患の本質的な理解には必要不可欠であると著者らは考えている。

近年、加齢に伴うニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド（nicotinamide adenine dinucleotide：NAD$^+$）の低下を起因とする NAD$^+$ 代謝の異常が、老化の本態、及び加齢性疾患に深く関わることが明らかになってき

連絡先：伊藤　尚基
〒 474-8511　愛知県大府市森岡町 7 丁目 430 番地
TEL：0562-44-5651　内線：7594
E-mail：naoki.ito@ncgg.go.jp

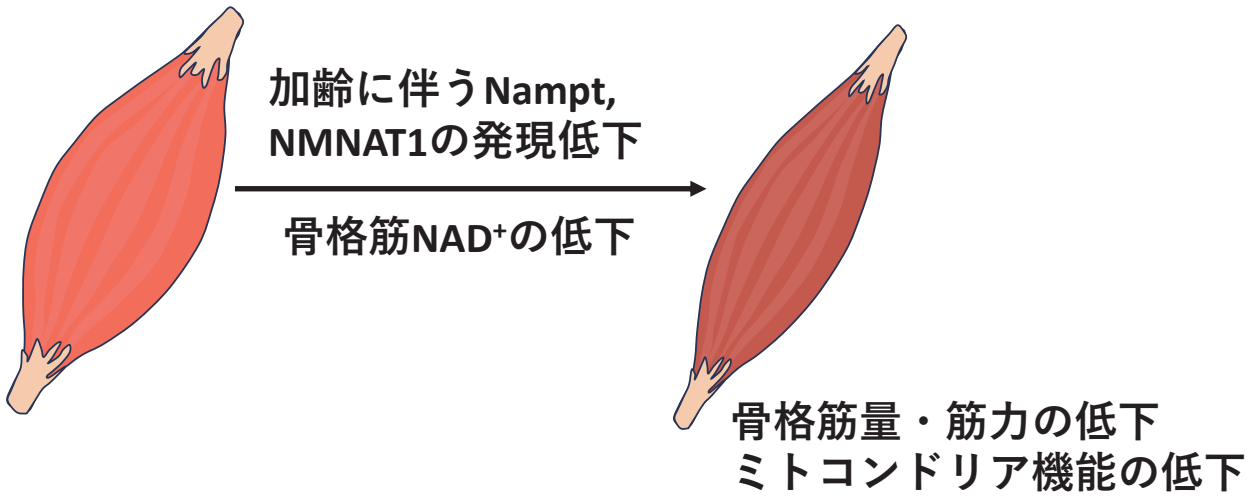


図１　加齢に伴う骨格筋 NAD^+ の低下によるサルコペニアの発症
加齢に伴い、NAD^+ 生合成経路に関わる Nampt, NMNAT1 の発現が低下する。
それにより骨格筋 NAD^+ が低下し、骨格筋量・筋力の低下、ミトコンドリア機能の低下といった筋機能異常が生じ、サルコペニアが発症する。

た[6]。NAD^+ は 500 以上の酵素反応に関わり、老化・寿命制御因子として知られているサーチュインをはじめとし、代謝・生存など非常に多くの細胞内過程やシグナル経路に関わっている。組織 / 細胞 NAD^+ は NAD^+ 生合成経路や分解経路に関わる様々な酵素によって制御されているが、特にサルコペニアでは NAD^+生合成経路が低下していることが、ヒトやマウスなどのモデル動物において報告されている。興味深いことに、NAD^+合成中間体のニコチンアミド・モノヌクレオチド（nicotinamide mononucleotide：NMN）やニコチンアミド・リボシド（nicotinamide ribose：NR）を投与することで、加齢に伴い低下した細胞 / 組織 NAD^+を上昇させることができる。これらの分子は“NAD^+ブースター”と呼ばれ、抗老化物質として大きな注目を浴び、国内外でヒト臨床試験が行われている[7, 8]。特に NMN は日本の食薬区分において食品として位置付けられており、NMN、NR は共にサプリメントとしても上市されている。一方米国においては、NMN の創薬開発を目的とした臨床研究がベンチャー企業により開始される予定となったため、本稿を執筆している 2023 年 11 月現在、米国食品医薬品局（FDA）によって NMN の栄養補助食品としての販売に規制がかかっている。社会的にも、抗老化物質として NMN が注目されていることを示す一例と思われる。

NAD^+ の低下と加齢性疾患が密接に関わっていることが明らかになり、骨格筋を含めた各組織における NAD^+ の役割が明らかになりつつある。しかし、未だ各組織の NAD^+ 代謝の解析に留まり、NAD^+ を起点とした組織間相互作用に注目している研究例は少ない。加齢性疾患を理解するためには、各組織の解析だけではなく、NAD^+ を指標とした組織間相互作用に着目する必要がある。そこで本稿では、著者らが着目している NAD^+ 代謝を起点とした中枢（脳）と末梢組織である骨格筋の機能連関に焦点を当てる。まずはサルコペニアと NAD^+ の関係について概説し、その後、著者らが着目している中枢の NAD^+ 代謝と骨格筋の機能連関・サルコペニアとの関係を紹介したい。

２．加齢に伴う骨格筋 NAD^+ 代謝の変化とサルコペニア・身体的フレイルの関係

全身の様々な組織／細胞で、加齢と共に NAD^+ は低下する。骨格筋も例外ではなく、加齢と共に骨格筋 NAD^+ が低下し、サルコペニア、あるいは身体的フレイルを悪化させることがヒト・マウスモデルなどで示されている（図１）。特に健常な高齢者とサルコペニアを有する高齢者を比較した結果、サルコペニアを有する高齢者の骨格筋では NAD^+ 生合成経路に関わる Nicotinamide phosphoribosyltransferase（NAMPT）と Nicotinamide Mononucleotide Adenylyltransferase 1（NMNAT1）の発現が低下し、NAD^+生合成経路の異常によってNAD^+ が低下していることが示されている[9]。興味深いことに、骨格筋の NAD^+が低い高齢者ほど、歩行速度・握力・筋量も低く、骨格筋 NAD^+ の低下が加齢に伴う骨格筋量や筋機能低下を招く一因となっていることが示唆されている。

また運動習慣などの身体活動レベルが異なる高齢者を対象とし、骨格筋における様々な代謝物量を比較解析した研究によると、一日の歩数および運動習慣が低い高齢者で最も顕著に低下している代謝物は NAD^+であった[10]。一日あたりの平均歩数、ミトコンドリア量や骨格筋機能と骨格筋 NAD^+ の間に相関があり、NAD^+ の低下が筋機能低下を招くことを示す結果と言える。興味深いことに、運動習慣があり、身体活動レベルが高い高齢者は NAD^+ の低下が認められなかった。このことは、運動が抗老化作用を発揮する一因に NAD^+ が関わっている可能性を示唆している。

興味深いことに、NAD^+ 上昇作用がある NMN あるいは NR を用いたヒト臨床試験によって、加齢に伴う NAD^+ の低下が改善され、骨格筋機能が改善されることが示されつつある。前糖尿病期の肥満あるいは過体重の女性を対象とした米国ワシントン大学の研究では、一日 250mg の NMN の 10 週間継続摂取によって、骨格筋におけるインスリン感受性が約 25% 改善することが示されている[8]。この効果は糖尿病治療薬のトログリタゾンを 12 週間投与したときに生じる効果に匹敵するものである。骨格筋でのインスリン感受性の改善に加え、骨格筋の再構築に関する遺伝子群の発現が一律上昇していた。肝臓や脂肪組織ではインスリン感受性の上昇は認められず、特に骨格筋において強い改善効果が見られたことが特筆すべき点と言える。もちろん NMN そのものは骨格筋に特異性があるわけではなく、NMN の摂取後に最も NAD^+ が上昇するのは肝臓である[11]。なぜ NMN が骨格筋において強い作用を示したのかは興味深い点であり、今度明らかになっていくことが期待される。

骨格筋特異的に NAD^+ を低下させるマウスモデルによって、骨格筋機能と NAD^+ の関係性が調べられている。NAD^+ は NAD^+ 生合成経路や分解経路を構成する様々な酵素によって制御されているが、その中でも、サーチュインなどによって消費された NAD^+ を再利用する NAD^+ サルベージ経路が最も重要と考えられている。特に NAD^+ サルベージ経路の律速酵素である *Nampt* の薬理学的阻害、あるいは遺伝学的ノックアウト、ノックダウンによって多くの組織／細胞で NAD^+ が低下するため、各組織 / 細胞特異的な *Nampt* のノックアウトが NAD^+ 低下モデルとして使われている。

骨格筋特異的な *Nampt* ノックアウトマウスが作成され、骨格筋機能への影響が報告されている。骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスでは、骨格筋 NAD^+ 量は 80% 程度減少し、顕著な筋力低下が生じる[12]。興味深いことに、12 週齢の時点では筋力低下は生じるものの、筋量の減少は見られず、全身性のエネルギー消費量や自発運動量にも顕著な変化はない。しかし 7 ヶ月齢になると中心核を伴う再生線維が顕著になり、エバンスブルー陽性の壊死線維も見られるようになる。また体重低下と共に筋量・筋力の低下、トレッドミルによる走行距離の低下が生じ、様々な筋機能低下が生じる[12]。これらの結果は、骨格筋 NAD^+ の低下は短期的には筋力の低下を生じ、長期的には筋量の低下を伴う様々な筋機能低下を引き起こすことを示している。サルコペニアを有する高齢者で生じている骨格筋 NAD^+ 量の減少、骨格筋量・筋力の低下と同様のことが生じており、短期的あるいは長期的な骨格筋 NAD^+ の低下がサルコペニア発症の一端を担っていることが示唆される。また別のグループが作成した骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスでは、6 週齢から筋力の低下が認められている。また 4 週齢から体重および除脂肪体重の低下が認められ、4 週齢以降から 12 週齢の間に 6 割近い個体が死亡し、より重篤な表現型を示すことが報告されている[13]。この骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスでも中心核を伴う再生線維が確認され、骨格筋 NAD^+ の低下によって筋変性が生じることが示されている。後者の骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスの方がより重篤な表現型を示した理由は定かではないが、前者では myosin light chain 1f プロモーターが使われ、後者では human α-skeletal muscle actin プロモーターが使われている。これらのプロモーターの強さや、Cre が発現するタイミングの違いによって表現型の差が生まれた可能性がある。

骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスの解析から、骨格筋 NAD^+ が骨格筋量・筋量の維持に必要不可欠なことが示唆される。しかし注意しなければならないのは、これらの骨格筋特異的 *Nampt* ノックアウトマウスは、発生期・成長期から *Nampt* がノックアウトされているという点である。骨格筋は生まれてから成熟するまでの間も筋重量が増え続ける。例えば、骨格筋の成長・再生に必要不可欠な骨格筋幹細胞（筋衛星細胞）の挙動も発生期・成長期と成長を終えた成熟期ではかなり異なる。骨格筋幹細胞維持に必要不可欠な転写因子である *Pax7* のノックアウトマウスは生まれつき骨格筋幹細胞が枯渇し、筋成長が起こらずに出生まもなくに致死となる[14]。しかし驚くべきことに、成長を終えた成熟期に *Pax7* 陽性の筋衛星細胞を枯渇させても、筋萎縮といった筋重量の減少は見られず、加齢させても、サルコペニアが顕著に悪化するわけではないことがわかっている[15]。高齢者で生じているサルコペニアあるいは身体的フレイルと NAD^+ との関連を明らかにするためには、成長を終えた成熟期において *Nampt* をノックアウトする研究が今後望まれるだろう。

また骨格筋は筋線維のみで構成されているわけではなく、骨格筋幹細胞や間葉系前駆細胞をはじめ、運動神経・交感神経・血管など多種多様な細胞によって制御されている。他の細胞においても加齢と共に NAD^+ が低下することが予想されるが、他細胞における NAD^+ の低下がサルコペニアに与える影響は明らかになっていない。他細胞とのコミュニケーションという観点からも、骨格筋（筋線維）以外の細胞における NAD^+ の低下がサルコペニアに与える影響を検討していくことが今後望まれるだろう。

3．加齢に伴う中枢 NAD^+ 代謝の変化とサルコペニア・身体的フレイルの関係

骨格筋 NAD^+ の低下がサルコペニア病態に関わることは明らかである。しかし老化という全身性の異常の一つとしてサルコペニアを捉えると、骨格筋の中で起きている異常に加え、骨格筋以外の臓器、あるいは全身性に起きている異常がサルコペニアを誘因・悪化させていることも想像に難くない。特に中枢機能と骨格筋機能の関係性として、アルツハイマー型認知症患者では早期の段階から骨格筋量の減少が認められ、サルコペニアの有病率が高くなる。逆にサルコペニアを有する高齢者は認知障害を有する割合が約 2 倍高く、サルコペニアが認知症の有病率を上昇させる要因であることがわかっている。臨床的には脳と骨格筋が相互にコミュニケーションを取

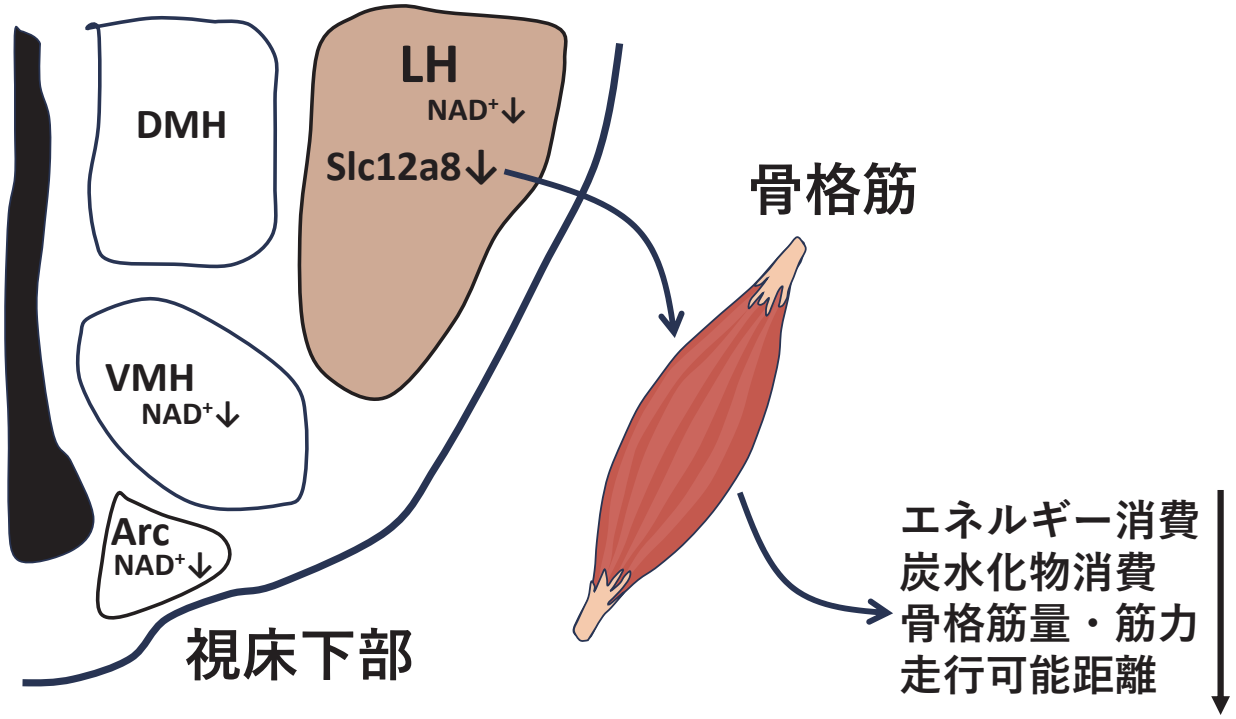


図２　加齢に伴う視床下部 NAD^+ の低下と筋機能低下
加齢に伴い、視床下部の中でも外側視床下部（LH）、腹内側視床下部（VMH）、弓状核（Arc）の NAD^+ が低下する。特に外側視床下部では NAD^+ 前駆体である NMN の取り込みに関わる Slc12a8 の発現が低下し、全身性代謝・骨格筋機能の低下を引き起こす原因となっている。

り、その破綻が認知症やサルコペニアを悪化させることが示唆されているものの、その機序や因果関係は明らかになっていない。

著者らは中枢における NAD^+ 代謝に着目し、“中枢（脳）の異常がサルコペニア発症の一端を担い、中枢の機能回復がサルコペニア改善の鍵となる”ことを最近報告した。特に著者の一人である今井らは、老化・寿命制御の重要制御因子の一つであるサーチュインファミリーに着目し、脳の中でも特に視床下部の機能低下と末梢組織の老化に関する研究を進めている。起点となる研究として、哺乳類のサーチュインである *Sirt1* を脳特異的に過剰発現させたマウス（BRASTO マウス）を作成したところ、寿命の延伸と共に、末梢組織である骨格筋の機能改善が認められた[16]。この BRASTO マウスでは脳の中でも特に視床下部、より詳細には背内側視床下部（Dorsomedial hypothalamus：DMH）と外側視床下部（Lateral hypothalamus：LH）において *Sirt1* が過剰発現されていた。視床下部は体温、摂食行動、睡眠覚醒など、多様な生理機能に関わる領域である。特に交感神経・副交感神経機能や内分泌系を制御することで、生体恒常性維持を担っている。興味深い点として、組織中の微少部位の NAD^+ 量を測定する技術を開発し、老齢マウスを用いて各視床下部領域の NAD^+ の変化を解析した結果、腹内側視床下部（ventromedial hypothalamus：VMH）、外側視床下部、弓状核（arcuate nucleus：ARC）において NAD^+ が有意に低下していた[17]。このことは加齢に伴う末梢臓器の機能低下に視床下部における NAD^+ の低下、およびその下流の Sirt1 の機能低下が関わっていることを示唆している。

さらに今井らは NMNを細胞外から取り込むトランスポーターとして *Slc12a8*を同定した[18]。*Slc12a8* は特に腸管組織に高発現し、NMN 依存的な NAD^+ の上昇に関わっている。また *Slc12a8* の中枢における機能を解析した結果、特に外側視床下部における *Slc12a8* が加齢に伴う骨格筋機能の低下に関わっていることを明らかにした[19]（図２）。*Slc12a8* 陽性細胞特異的に ZsGreen を発現するマウスを解析した結果、*Slc12a8* 陽性細胞は視床下部の中でも特に外側視床下部に多く存在していた。興味深いことに、外側視床下部における *Slc12a8* の発現は加齢と共に低下し、加齢依存的な NAD^+ の低下に関わっている可能性が示唆される。そこで若齢マウスの外側視床下部において、レンチウイルスを用いたステレオタキシックインジェクションによって *Slc12a8* をノックダウンした。RNA 解析によるノックダウン効率は約 40% であり、*Slc12a8* のノックダウンによって、全身性のエネルギー消費量・炭水化物消費量が低下し、骨格筋量・筋力、走行距離といった筋機能異常に加え、骨格筋内の解糖系・タンパク質合成低下といったサルコペニア様のフェノタイプが生じた。さらに老齢マウスの外側視床下部において *Slc12a8* を過剰発現し、加齢に伴う *Slc12a8* の発現低下をレスキューした結果、加齢依存的な代謝・筋機能の低下が顕著に改善された[19]。これらの結果は外側視床下部の機能低下がサルコペニア発症の一端を担っていること、外側視床下部の機能改善によってサルコペニアが改

善できることを示し、サルコペニア病態における中枢－骨格筋連関の重要性を示している。

著者らの研究以外にも視床下部と骨格筋機能との関連を示した報告があり、特に腹内側視床下部におけるオレキシンAの投与によって骨格筋の糖取り込みが促進されることが示されている[20]。また腹内側視床下部の中でも腹内側および中心部分（dorsomedial and central parts of the ventromedial hypothalamic nucleus）によって骨格筋のPGC-1αが制御され、腹内側視床下部と骨格筋機能との関連が示唆される[21]。未だ中枢と骨格筋の機能連関は不明な点が多いが、今後、中枢のNAD^+に着目することで、より詳細な中枢 - 骨格筋連関の機序と共に、サルコペニア病態に与える影響が明らかになっていくだろう。

４．まとめ

本稿ではNAD^+代謝に焦点を当て、骨格筋のNAD^+代謝がサルコペニアに与える影響、および中枢のNAD^+代謝が骨格筋機能に与える影響を概説した。NAD^+代謝に着目した中枢と骨格筋の機能連関は、サルコペニアの分子病態を明らかにする上で重要な制御系であることは間違いない。しかし骨格筋だけでなく、中枢は肝臓や脂肪といった様々な代謝臓器も制御しており、加齢に伴う中枢NAD^+代謝の低下を起点として、様々な中枢－末梢臓器連関の破綻、あるいは末梢 - 末梢臓器連関の破綻が生じることが予想される。また中枢から末梢臓器への作用だけでなく、Irisinをはじめとした骨格筋から放出されるマイオカインが中枢に作用することも報告されており、末梢から中枢への制御も個体老化に大きく関わっているかもしれない[22]。未だ多くの部分が未解明の組織間相互作用の分子機序の研究が進むことで、サルコペニアを含む加齢性疾患の本質的な理解に繋がることが今後期待される。

引用文献

1. Chen LK, Woo J, Assantachai P, et al. Asian Working Group for Sarcopenia：2019 Consensus Update on Sarcopenia Diagnosis and Treatment. Journal of the American Medical Directors Association 21：300-307. e2, 2020.
2. Kurosawa T, Goto M, Kaji N, et al. Liver fibrosis-induced muscle atrophy is mediated by elevated levels of circulating TNFα. Cell Death & Disease 12：11, 2021.
3. Yu MD, Zhang HZ, Zhang Yu, et al. Relationship between chronic kidney disease and sarcopenia. Scientific Reports 11：Article number：20523, 2021.
4. Armandi A, Rosso C, Caviglia GP, et al. The Impact of Dysmetabolic Sarcopenia Among Insulin Sensitive Tissues：A Narrative Review. Front Endocrinol (Lausanne) 12：716533, 2021.
5. Koliaki C, Liatis S, Dalamaga M, et al. Sarcopenic Obesity：Epidemiologic Evidence, Pathophysiology, and Therapeutic Perspectives. Current Obesity Reports 8：458-471, 2019.
6. Katsyuba E, Romani M, Hofer D, et al. NAD^+ homeostasis in health and disease. Nature Metabolism 2：9-31, 2020.
7. Rajman L, Chwalek K and Sinclair DA. Therapeutic Potential of NAD-Boosting Molecules：The In Vivo Evidence. Cell Metabolism 27：529-547, 2018.
8. Yoshino M, Yoshino J, Kayser BD, et al. Nicotinamide mononucleotide increases muscle insulin sensitivity in prediabetic women. Science 372：1224-1229, 2021.
9. Migliavacca E, Tay SKH, Patel HP, et al. Mitochondrial oxidative capacity and NAD^+ biosynthesis are reduced in human sarcopenia across ethnicities. Nature Communications 10. 2019.
10. Janssens GE, Grevendonk L, Perez RZ, et al. Healthy aging and muscle function are positively associated with NAD^+ abundance in humans. Nature Aging 2：254-263. 2022.
11. Mills KF, Yoshida S, Stein LR, et al. Long-Term Administration of Nicotinamide Mononucleotide Mitigates Age-Associated Physiological Decline in Mice. Cell Metabolism 24：795-806. 2016.
12. Frederick DW, Loro E, Liu L, et al. Loss of NAD Homeostasis Leads to Progressive and Reversible Degeneration of Skeletal Muscle. Cell Metabolism 24：269-282. 2016.
13. Basse AL, Agerholm M, Farup J, et al. Nampt controls skeletal muscle development by maintaining Ca2+ homeostasis and mitochondrial integrity. Molecular Metabolism 53. 2021.
14. Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. Cell 102：777-786. 2000.
15. Fry CS, Lee JD, Mula J, et al. Inducible depletion of satellite cells in adult, sedentary mice impairs muscle regenerative capacity without affecting sarcopenia. Nature Medicine 21：76-80. 2015.
16. Satoh A, Brace CS, Rensing N, et al. Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. Cell Metabolism 18：416-430. 2013.
17. Johnson S, Yoshioka K, Brace CS, et al. Quantification of localized NAD^+ changes reveals unique specificity of NAD^+ regulation in the hypothalamus. npj aging 9. 2023.
18. Grozio A, Mills KF, Yoshino J, et al. Slc12a8 is a nicotinamide mononucleotide transporter. Nature Metabolism 1：47-57. 2019.
19. Ito N, Takatsu A, Ito H, et al. Slc12a8 in the lateral hypothalamus maintains energy metabolism

and skeletal muscle functions during aging. Cell Reports 40. 2022.
20. Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, et al. Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system. Cell Metabolism 10：466-480. 2009.
21. Yoshida T, Fujitani M, Farmer S, et al. VMHdm/cSF-1 neuronal circuits regulate skeletal muscle PGC1-α via the sympathoadrenal drive. Molecular Metabolism 77：101792. 2023.
22. Zhang Y, Zhang X and Lin S. Irisin：A bridge between exercise and neurological diseases. Heliyon 8. 2022.

NAD^+ metabolism in the hypothalamus and skeletal muscle, and its relationship with sarcopenia

Naoki Ito [1], Shin-ichiro Imai [2, 3]
[1] Brain-Muscle Connection in Aging Project team, Geroscience Research Center, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan
[2] Department of Developmental Biology, Department of Medicine (Joint), Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA
[3] Institute for Research on Productive Aging (IRPA), Tokyo, Japan

Abstract

Sarcopenia is an urgent medical and socio-economic problem in rapidly aging societies. However, the underlying molecular mechanisms of sarcopenia remain unclear. A number of studies have revealed that the progressive and systemic decreases in nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) levels and resultant dysfunctions of NAD^+-consuming enzymes such as sirtuins are a driving force of age-associated pathophysiologies. In this review, we summarize the role of NAD^+ in skeletal muscle and brain, particularly in the hypothalamus, for the regulation of skeletal muscle, and show the importance of the brain-muscle communication for the pathogenesis of sarcopenia.

Keywords：Skeletal muscle, Sarcopenia, NAD^+, Brain-skeletal muscle connection

基礎老化研究 48（1）; 27－28, 2024

【シンポジウム報告】

第 44 回日本基礎老化学会シンポジウムを終えて

森　亮一
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科（医学系）病理学

2023 年 11 月 11 日（土）に長崎大学医学部ポンペ会館にて第 44 回日本基礎老化学会シンポジウムを開催しました（写真１）。日本本土の最西端の地を有する長崎県で開催ということもあり、遠方より皆様にお越しいただけるか不安でしたが、全国各地より 44 名の先生方にご参加いただきました。その後の懇親会にも 27 名の皆様に参加していただき無事に終えることができました。簡単ではございますが本シンポジウムについて報告したいと思います。

写真１　シンポジウム会場のポンペ会館

本シンポジウムは「組織再構築と老化」を主題とし、美容やアンチエイジングなどの観点から一般社会で注目度が高い臓器である「皮膚」に着目し、基礎老化研究の第一線でご活躍なさっている３名の先生と、基礎老化研究成果の社会への還元も重要であることから、研究成果を基盤とした企業化への取り組みについて第一線でご活躍なさっている２名の先生をお招きして、開催に至りました（写真２）。

前半は基礎研究の話題を集約しました。最初に、佐田亜衣子先生（九州大学、熊本大学）に「ステムセルバイオロジーの視点から紐解く皮膚老化と再生」と題してご講演いただきました。皮膚表皮に存在する幹細胞には種々のサブタイプが存在し、そのサブタイプ間では分裂速度などの違いによって表皮幹細胞集団の不均衡や幹細胞の老化（ステムセルエイジング）に影響することや、さらには、皮膚のオルガノイドに関する最新の知見についてご発表いただきました。次に、豊島 文子先生（京都大学、東京医科歯科大学）には「皮膚のリモデリングとエイジング」と題してご講演いただきました。妊娠期の腹部皮膚は胎児の成長に従って急速に伸張し、その現象には、転写因子 Tbx3 陽性表皮幹細胞から高い増殖能

写真２　演者の先生（左から石神理事長、豊島先生、佐田先生、森、宮井先生、首藤先生、中島先生）

を持つ細胞群が妊娠期特異的に産生されることにより、皮膚組織の伸展応答に関与していることや、さらには、出産後の皮膚退縮は体表血管の減少と相まって、Tbx3 陽性細胞は分化し表皮から排出されることをご発表下さいました。その現象は、老化皮膚における真皮層硬化の分子メカニズム解明にも繋がっていると考えられています。前半最後は中島 由佳里先生（慶應義塾大学）に「胎仔皮膚再生治癒から本質的な若返り治療を目指して」と題してご講演いただきました。皮膚瘢痕形成の分子メカニズム解明を目指した、非常に緻密な手技を必要とするマウス胎仔皮膚創傷モデルは、形成外科医だからこそ確立できる研究モデルです。網羅的に同定された瘢痕関連遺伝子群の今後の解析結果が待たれます。また実臨床に資する皮膚老化と若返りについて機能解析を行い、実際にいくつかの薬剤の開発に成功しております。

後半は基礎研究の実用化に関する内容です。首藤 剛先生（熊本大学）は「線虫を使った健康寿命のミニ集団解析技術 C-HAS の開発と社会実装」と題してご講演いただきました。線虫を用いた健康寿命のミニ集団解析技術 C-HAS 技術開発の経緯、疾患研究や天然素材等の機能性・安全性評価への応用、さらにその技術を基盤とした研究開発型ベンチャー企業の設立経緯や現状のご経験をご講演いただきました。首藤先生の企業化への思いとご苦労、さらには企業化に成功した研究者ならではの視点と今後の展望は、ベンチャー企業と共同研究を実施・興味をもたれている先生において、目からうろこが落ちたような思いを感じられたと察します。最後に、宮井

雅史先生（株式会社資生堂）は「角層の変化から老化を考える」と題してご講演いただきました。皮膚構造全体からみると非常に狭い領域である一番外側の角質層が、保湿にとても重要であることを分子の視点からご発表いただきました。超微小環境でありながらもその世界には、様々な現象が関与し最終的に皮膚機能に重要な保湿維持に関する内容は、外界刺激のバリアとして働く皮膚の重要性を改めて認識することができました。皮膚乾燥を防ぐことによって実施するスキンケアやアンチエイジングは、一般社会に幅広く浸透しており、これらを行うための安全な商品開発には、企業で行う基礎研究が非常に重要であることを改めて感じるご講演でした。

2020年5月に長崎大学にて第43回日本基礎老化学会大会（大会長　下川　功先生（現 長崎大学名誉教授））を開催する予定でしたが、新型コロナウイルス感染拡大のため開催することができませんでした。今回のシンポジウム開催はその“再挑戦”と位置づけ、石神理事長よりお話をいただいたのが事の始まりでした。そして基礎老化学会運営委員の先生方にご助言をいただきながら、長崎大学医学部病理学スタッフ一同で協力し準備を進めてきました。また5社よりご支援いただきシンポジウム当日を円滑に進めることができました。この場をお借りして協賛企業と運営スタッフの皆様に心より御礼申し上げます。

基礎老化研究 48（1）; 29－30, 2024

【奨励賞受賞者研究トピックス】

老化指標 DNA メチル化に影響を及ぼす因子の評価

佐藤　綾美、石神　昭人
東京都健康長寿医療センター研究所　老化制御研究チーム　分子老化制御

キーワード：DNA methylation, Smoking, Heated tobacco products, RRBS

１．はじめに

喫煙は、老化を促進する代表的なリスクファクターである。喫煙者の寿命は約 10 年短いとの調査結果もあり[1]、世界で毎年 800 万人以上がたばこを原因として亡くなっている[2]。喫煙によるニコチン摂取は快感を得られる一方、たばこ煙への曝露は、酸化ストレスや慢性炎症を介して老化や加齢性疾患につながる。また、喫煙はエピジェネティクス異常を引き起こすことが知られる。エピジェネティクスとは、DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御機構であり、DNA メチル化（DNAm）やヒストン修飾に代表される。DNAm の加齢変化は、エピジェネティック時計と称され、老年病罹患リスクや寿命の予測への応用研究が加速している。即ち、DNAm は老化指標として注目される。一方、喫煙による DNAm 変化は、喫煙が原因となる疾患の発症メカニズムの一つである[3]。喫煙者と非喫煙者で血球の DNAm 状態を調べた複数の研究により、多くの CpG サイトでメチル化の変化が認められた[4]。対して、喫煙者が禁煙することにより、一部の DNAm は元の状態に戻ることもわかっている[4]。さらに、喫煙による DNAm 変化は肺がん発症を予測するマーカーになり得ることが報告されており[5]、DNAm 変化がみられる主な遺伝子には p16 などが含まれる[6]。以上のように、DNAm に影響する喫煙のようなリスク因子の理解は、老化制御を目指す上で重要である。

近年、従来の紙巻きたばこに代わり、加熱式たばこ（heated tobacco product：HTP）が普及している。2023 年現在、HTP は日本のたばこ市場の３割を占めており、使用者は増加している。HTP は、たばこ葉を燃焼せずに、加熱して発生する蒸気（エアロゾル）を喫煙する製品であり、従来の紙巻きたばこのような煙や副流煙、灰は出ない。しかし、HTP が使用者の健康に与える影響は未だ十分に調査されていない。現在、世界中でさまざまな種類の HTP が使用されており、その生体へのリスク評価は急務である。以上の背景より、本稿では、HTP が DNAmに及ぼす影響を調べた我々の研究成果[7]を概説する。

２．DNAm への HTP の影響

我々は、ヒト肺胞上皮由来の細胞株 A549を用い、市販の HTPs エアロゾル抽出液の曝露による細胞毒性、DNAm、および遺伝子発現への影響を生化学的に解析した。比較対象には、紙巻きたばこ標準品である 1R6F（reference cigarette：RC）の煙抽出液を用いた。たばこ煙抽出液は、専用の吸引システムでガラス繊維フィルターに捕集したエアロゾル中の総粒子相（total particulate matter：TPM）を DMSO に溶解し、培養液に添加した。まず細胞毒性を WST-8 法と LDH（lactate dehydrogenase）アッセイにより評価した結果、RC では 0.1mg TPM/mL から毒性を示したが、HTPsでは 1mg TPM/mL まで毒性を示さなかった。しかし、HTP でも 2mg TPM/mL では細胞生存活性の減少がみられた。たばこ煙中の芳香族アミンやフェノール化合物などは、細胞毒性に関与することが知られている[8]。これらの有害成分は、RC より HTP の方が少ないが、HTP はグリセロールやプロピレングリコールの含有量が多いという特徴がある。HTP は加熱温度が高い製品の方がエアロゾル中の粒子状物質が多く発生しやすく[9]、一部の HTP は酸化ストレスを惹起し炎症マーカー（IL-6 など）を増加させることが報告されている[10]。次に我々は、HTP エアロゾル抽出液曝露による DNAm 関連因子への影響を検討した[7]。Dot blot 法によるゲノム全体での DNAm 定量の結果、RCでは有意な減少がみられたが、HTPs では変化は認められなかった。しかしながら、DNAm シーケンス（reduced representation of bisulfite sequencing：RRBS）法を用いて CpG サイトのメチル化変化を網羅的に解析した結果、HTP は相対的にメチル化率を減少した（図１A）。可変メチル化シトシン（differentially methylated cytosine：DMC）サイト数を図１B に示す。RC より小さいが、HTP でもメチル化の変動がみられた。さらに、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果、HTP（2mg TPM/mL）は DNAm 関連遺伝子セットや老化関連遺伝子（GDF15 など）の発現レベルに影響した。しかし、RC（0.1 mg

連絡先：佐藤　綾美
〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35-2
TEL：03-3964-3241　ext. 4304
E-mail：ayamis@tmig.or.jp

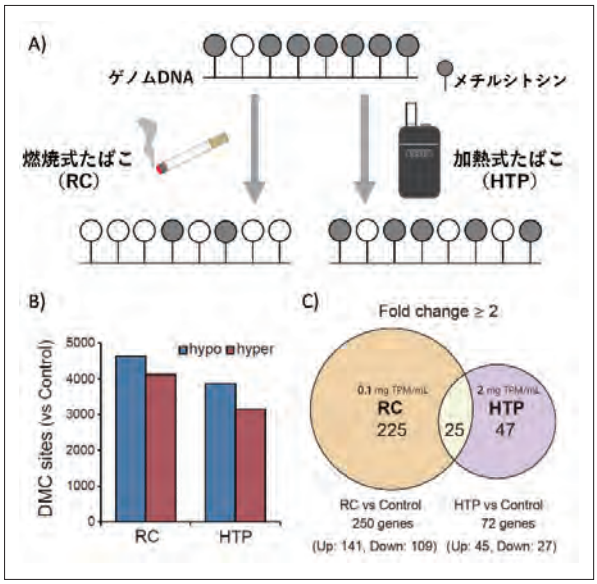


図１　HTP の影響
A）たばこ煙による DNAm 変化の概念図．B）可変メチル化シトシン（DMC）への影響．A549 細胞に 0.1mg TPM/mL RC または 2mg TPM/mL HTP を 12h 曝露した．RRBS 解析よりメチル化率の差が 25% 以上であったサイト数を示す．C）発現変動がみられた遺伝子数．DNA マイクロアレイ解析より Fold change ２倍以上であった遺伝子数を示す．

TPM/mL）と比較するとその程度は小さかった（図１C）。注目すべき点として、HTP は特にシトクロム P450 の一種 CYP1A1（cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1）のプロモーター領域メチル化を大きく変化させ、mRNA 発現量を増加した。しかし、RC と比較するとその程度は小さかった。CYP1A1 は、たばこ煙に含まれるベンゾピレンのような多環芳香族炭化水素に対し、体内で変異原性・発がん性のある物質へ代謝するはたらきをもつため、肺がんのリスク因子として注目される[11]。本研究より、HTP は CpG 領域のメチル化に影響するが、RC ほど大きな遺伝子発現変化にはつながらない可能性が示された。

３．おわりに

HTP は、DNAm および遺伝子発現を変化させるリスクはあるが、そのリスクは紙巻きたばこよりは低いと考えられる。コホート研究では、HTP 使用者は紙巻きたばこ喫煙者と比べて血球のメチル化への影響は小さい可能性が示されている[12]。一方、現状では多くの対象者が紙巻きたばこの喫煙歴があるため、今後、HTP のみを使用する若年層を対象とした調査が望まれる。また、HTP の長期的な使用による影響など、まだ分かっていないことも多い。今後、紙巻きたばこと同様に HTP も喫煙というくくりで、老化の交絡因子として考えてよいのかなど、注視していく必要がある。

引用文献

1. Doll R, Peto R, Boreham J, *et al*. Mortality in relation to smoking：50 years' observations on male British doctors. BMJ 328（7455）：1519, 2004.
2. WHO, https：//www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco（2023-08）.
3. Gao X, Jia M, Zhang Y, *et al*. DNA methylation changes of whole blood cells in response to active smoking exposure in adults：a systematic review of DNA methylation studies. Clin Epigenetics 7：113, 2015.
4. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, *et al*. Epigenetic signatures of cigarette smoking. Circ Cardiovasc Genet 9：436-47, 2016.
5. Zhang Y, Elgizouli M, Schöttker B, *et al*. Smoking-associated DNA methylation markers predict lung cancer incidence. Clin Epigenetics 8：127, 2016.
6. Kaur G, Begum R, Thota S, *et al*. A systematic review of smoking-related epigenetic alterations. Arch Toxicol 93（10）：2715-40, 2019.
7. Sato A, Ishigami A. Effects of heated tobacco product aerosol extracts on DNA methylation and gene transcription in lung epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 475：116637, 2023.
8. Schaller JP, Keller D, Poget L, *et al*. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2：Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. Regul Toxicol Pharmacol 81（2）：S27-47, 2016.
9. Horinouchi T, Miwa S. Comparison of cytotoxicity of cigarette smoke extract derived from heat-not-burn and combustion cigarettes in human vascular endothelial cells. J Pharmacol Sci 147（3）：223-33, 2021.
10. Sawa M, Ushiyama A, Inaba Y, *et al*. Increased oxidative stress and effects on inflammatory cytokine secretion by heated tobacco products aerosol exposure to mice. Biochem Biophys Res Commun 610：43-8, 2022.
11. Denissenko MF, Pao A, Tang M, *et al*. Preferential formation of benzo［a］pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. Science 274（5286）：430-2, 1996.
12. Ohmomo H, Harada S, Komaki S, *et al*. DNA methylation abnormalities and altered whole transcriptome profiles after switching from combustible tobacco smoking to heated tobacco products. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 31（1）：269-79, 2022.

基礎老化研究 48（1）; 31－34, 2024

【奨励賞受賞者研究トピックス】

ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の生細胞イメージングと筋肉抗老化・筋疾患治療への応用

竹岩　俊彦、井上　聡
東京都健康長寿医療センター研究所　老化機構研究チーム　システム加齢医学

1．はじめに

超高齢化社会を迎えた本邦では、加齢や疾患に伴う筋肉量や筋力の低下を示すサルコペニアなどをはじめとして健康障害が増加しており、社会問題となっている。サルコペニアは、フレイルや要介護に至る重要な要因の一つと考えられており、その予防・治療法の開発は社会的急務であるが、その病態メカニズムはいまだ十分に解明されていない。

ミトコンドリアは好気呼吸によるエネルギー産生に重要な役割を担う細胞小器官であり、筋肉の有酸素運動・恒常性維持に関わることが報告されている[1-3]。ミトコンドリアの内膜に存在しエネルギー産生に関わる呼吸鎖複合体は、より高次の呼吸鎖超複合体を形成することが知られているが[4]、我々を含む最近の研究から、超複合体はエネルギー産生の亢進や筋肉の運動持久力の向上に重要な役割を担うことが明らかとなってきた[5-8]。一方で、超複合体を生細胞で精密に観察・測定する手法がなく、その形成制御のメカニズムは十分に解明されていなかった。

我々は世界で初めて超複合体の生細胞イメージング・定量評価法を開発し、その筋肉抗老化やサルコペニア等の筋疾患の治療・予防への応用を目指し研究を進めている。本稿では、超複合体の生細胞イメージングと筋肉抗老化・筋疾患治療への応用に関する我々の最新の研究成果について紹介する。

2．ミトコンドリア呼吸鎖超複合体

真核細胞において、ミトコンドリアは酸化的リン酸化と呼ばれる反応により ATP を産生する。酸化的リン酸化反応には、ミトコンドリアの内膜に存在する呼吸鎖複合体（I-IV）及び ATP 合成酵素が関与する（図１）[4,9]。呼吸鎖複合体は還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NADH）または還元型フラビンアデニンジヌクレオチド（$FADH_2$）から酸素分子への電子伝達を担い、その過程で生じたプロトンの濃度勾配を利用して ATP 合成酵素が ATP を産生する。生化学的な解析及びクライオ電子顕微鏡を用いた解析から、呼吸鎖複合体 I、III、及び IV は会合し、呼吸鎖超複合体を形成することが報告されている[4]。I/III_2、III_2/IV、及び $I/III_2/IV$ といった組成の超複合体が知られており、$I/III_2/IV$ の超複合体は特にレスピラソームと呼ばれている。

我々は性ホルモンであるエストロゲンの作用に関する研究から独自に同定したエストロゲンの標的のひとつである cytochrome c oxidase subunit 7a related polypeptide（COX7RP）が超複合体の形成制御因子そのものであることを世界に先駆けて解明した。さらに、超複合体の形成促進によりエネルギー産生が亢進し、マウスでは筋肉の運動持久力が高まりマラソンランナー型になることを明らかにした[5,6]。超複合体は筋肉の能力を向上させるキープレイヤーであり、筋肉の抗老化やサルコペニア等の筋疾患の予防・治療への応用が期待される。しかし、生細胞で超複合体を精密に測定する技術がなかったことから、超複合体の実態を観察することには困難が伴い、その形成制御のメカニズムについての研究は立ち遅れていた。そこで、我々は超複合体の生細胞イメージング及び定量評価法の開発を進めることとした。

3．ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の可視・定量化手法の開発とハイスループットスクリーニングへの応用

超複合体を生細胞においてイメージング・定量評価するため、我々は蛍光タンパク質の間で起こる Förster 共鳴エネルギー移動（Förster resonance energy transfer; FRET）[10] という現象を利用した（図２）。まず、複合体 I と IV のサブユニットである NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit B8（NDUFB8）と cytochrome c oxidase subunit 8A（COX8A）に蛍光タンパク質である AcGFP 及び DsRed-Monomer を融合し、マウス C2C12 筋芽細胞様細胞に安定発現させた。超複合体（レスピラソーム）において蛍光標識した複合体が近接すると、AcGFP に対する励起光を照射した時に DsRed-Monomer が蛍光を発するという FRET 現象が起きる。この現象を共焦点蛍光顕微鏡や、イメージングサイト

連絡先：：竹岩　俊彦
〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35-2
TEL：03-3964-3241　FAX：03-3579-4776
E-mail：ttakeiwa@tmig.or.jp

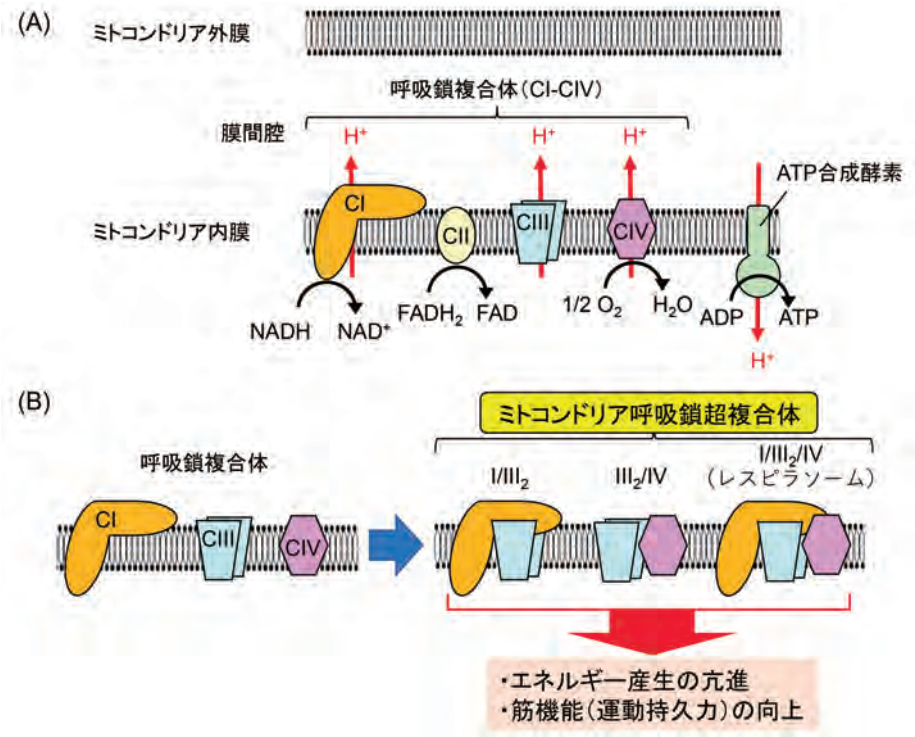


図１　ミトコンドリア呼吸鎖複合体および超複合体
(A)ミトコンドリア呼吸鎖複合体及びATP合成酵素によるATP産生。CI：複合体I、CII：複合体II、CIII：複合体III、CIV：複合体IV、NADH：還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、NAD^+：酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、$FADH_2$：還元型フラビンアデニンジヌクレオチド、FAD^+：酸化型フラビンアデニンジヌクレオチド［論文4より改変引用］。(B)複合体I、III、及びIVは、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体を形成することにより、エネルギー産生の亢進や運動持久力の向上に寄与する[5, 6]。

メーターを用いて観察することにより、我々は世界に先駆けて、超複合体（レスピラソーム）形成の生細胞イメージングに成功した。また、FRET の効率を算出することにより超複合体の定量評価にも成功した。

次に、我々は本手法を活用し、超複合体の形成を促進する新しい化合物のスクリーニングを行った。1,000 種類を超える化合物を対象としてハイスループットスクリーニングを行った結果、超複合体の形成を促進する複数の新たな候補化合物を同定した。候補化合物の中でも、spleen tyrosine kinase（SYK）の阻害剤として作用する 3, 4-methylenedioxy-β-nitrostyrene（MNS）が超複合体の形成を最も促進したため、さらに２種類の SYK 阻害剤（BAY61-3606 及び GSK143）について解析したところ、双方とも超複合体の形成を促進することが確認された。これら３種類の SYK 阻害剤による超複合体の形成促進は非変性電気泳動法である blue native polyacrylamide gel electrophoresis（BN-PAGE）を利用した解析でも確認された。また、フラックス解析を行い、これらの

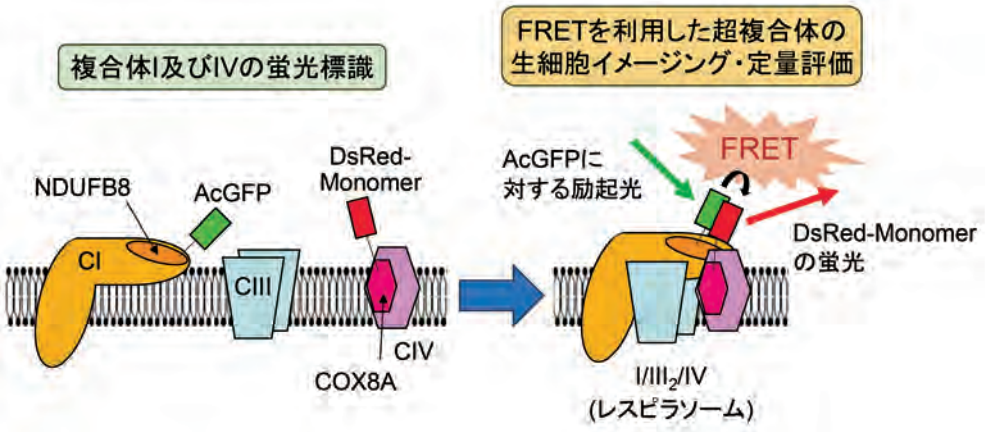


図２　ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の生細胞イメージング及び定量評価法の開発
蛍光蛋白質で標識した呼吸鎖複合体Ⅰ及びⅣが、超複合体中で近接する際に起こる FRET 現象を測定することにより、超複合体（レスピラソーム）の生細胞イメージングと定量評価に成功した。CⅠ：複合体Ⅰ、CⅢ：複合体Ⅲ、CⅣ：複合体Ⅳ、NDUFB8：NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit B8、COX8A：cytochrome c oxidase subunit 8A、FRET：Förster resonance energy transfer［論文７より改変引用］。

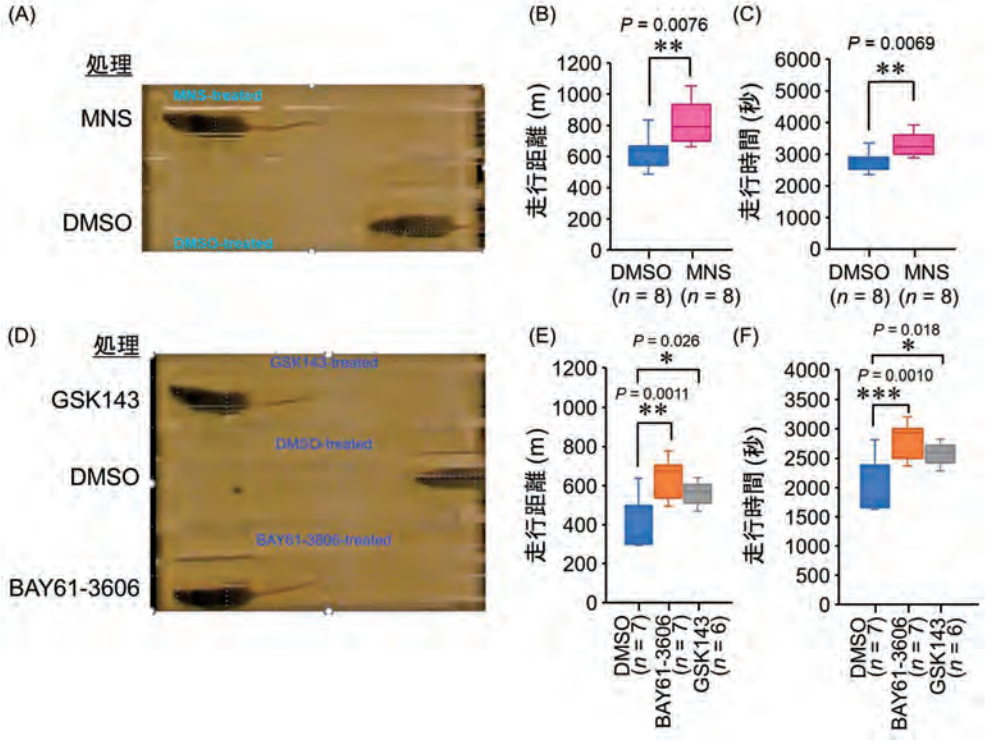


図３　Spleen tyrosine kinase（SYK）阻害剤の処理によりマウスの運動持久力は向上した
８週齢の雌の DBA/2 マウスに 3, 4-methylenedioxy-β-nitrostyrene（MNS）（4mg/kg）または dimethyl sulfoxide（DMSO）を腹腔内投与し、トレッドミル試験（A）を行ったところ、MNS 投与マウスは、DMSO 投与マウスと比較して、有意に長時間・長距離走り続けることが示された（B, C）。また、BAY61-3606（2mg/kg）及び GSK143（2mg/kg）を腹腔内投与したマウスでもトレッドミル試験（D）を行った結果、DMSO 投与マウスと比較して有意に長時間・長距離走り続けることが示された（E, F）［論文７より改変引用］。

SYK 阻害剤を処理した C2C12 細胞でミトコンドリア呼吸が亢進することを示した。さらに、siRNA を用いた SYK の発現抑制実験でも、SYK の減少により超複合体の形成促進及びミトコンドリア呼吸の亢進が誘導された。これらの結果は、SYK の適度な抑制は超複合体の形成を促進し、ミトコンドリア代謝を活性化することを示唆している [7]。

４．SYK 阻害剤の処理によりマウスの運動持久力は向上する

次に、SYK 阻害剤が運動能に及ぼす効果を検証するため、３種類の SYK 阻害剤を腹腔内投与した DBA/2 マウスの運動能をトレッドミル試験及びワイヤーハング試験で評価した。その結果、３種類の SYK 阻害剤を投与したマウスはいずれもトレッドミル試験において走行距離・時間が有意に延長し（マラソンランナー型となる）（図３）、ワイヤーハング試験の成績も有意に向上したことから、運動持久力が向上したことが示された。また、BN-PAGE 等を用いた生化学的な解析により、SYK 阻害剤を投与したマウスの大腿四頭筋で超複合体の形成が促進されることが示された。一方で、マウスの体重や骨格筋の重量に影響は見られなかった。これらの結果より、SYK 阻害剤は筋肉のミトコンドリアにおいて超複合体の形成を促進し、筋肉の量でなく質を高めることにより、運動持久力を向上させることが示唆された [7]。

５．おわりに

本稿では、我々が開発した超複合体の生細胞イメージング・定量評価法と、それに基づくケミカルスクリーニングから見出した超複合体の形成を促進し筋肉の運動持久力を向上させる新規の化合物について紹介した。本成果は筋肉の抗老化やサルコペニア等の筋肉疾患の予防・治療への応用が期待される。最近になり、COX7RPがマウスに加えて [5, 11]、ヒトの高齢者の運動・心肺機能と関連することが報告され [11]、ミトコンドリア超複合体と老化・加齢性疾患の関連が注目されている。今後は、超複合体の生細胞イメージング・定量評価法を活用し、超複合体の実態や役割を解明することにより、老化や加齢性疾患の分子基盤を詳細に理解し、治療・予防法の開発等へ応用につなげることを目指して研究を進めていきたい。

引用文献

1. Coen PM, Musci RV, Hinkley JM, et al. Mitochondria as a Target for Mitigating Sarcopenia. Front. Physiol. 9 : 1883, 2019.
2. Joseph AM, Adhihetty PJ, Buford TW, et al. The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals. Aging Cell 1 : 801–809, 2012.
3. Gouspillou G, Sgarioto N, Kapchinsky S, et al.

Increased sensitivity to mitochondrial permeability transition and myonuclear translocation of endonuclease G in atrophied muscle of physically active older humans. FASEB J. 28 : 1621–33, 2014.
4. Azuma K, Ikeda K, Inoue S. Functional Mechanisms of Mitochondrial Respiratory Chain Supercomplex Assembly Factors and Their Involvement in Muscle Quality. Int. J. Mol. Sci. 21 : 3182, 2020.
5. Ikeda K, Shiba S, Horie-Inoue K. et al. A stabilizing factor for mitochondrial respiratory supercomplex assembly regulates energy metabolism in muscle. Nat. Commun. 4 : 2147, 2013.
6. Ikeda K, Horie-Inoue K, Suzuki T, et al. Mitochondrial supercomplex assembly promotes breast and endometrial tumorigenesis by metabolic alterations and enhanced hypoxia tolerance. Nat. Commun. 10 : 4108, 2019.
7. Kobayashi A, Azuma K, Takeiwa T, et al. A FRET-based respirasome assembly screen identifies spleen tyrosine kinase as a target to improve muscle mitochondrial respiration and exercise performance in mice. Nat. Commun. 14 : 312, 2023.
8. Lapuente-Brun E, Moreno-Loshuertos R, Acín-Pérez R, et al. Supercomplex assembly determines electron flux in the mitochondrial electron transport chain. Science 340 : 1567–1570, 2013.
9. Kobayashi A, Takeiwa T, Ikeda K, et al. Roles of Noncoding RNAs in Regulation of Mitochondrial Electron Transport Chain and Oxidative Phosphorylation. Int. J. Mol. Sci. 24 : 9414, 2023.
10. Zadran S, Standley S, Wong K, et al. Fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based biosensors : visualizing cellular dynamics and bioenergetics. Appl. Microbiol. Biotechnol. 96 : 895–902, 2012.
11. Benegiamo G, Bou Sleiman M, Wohlwend M, et al. COX7A2L genetic variants determine cardiorespiratory fitness in mice and human. Nat. Metab. 4 : 1336–1351, 2022.

基礎老化研究 48（1）; 35－38, 2024

【奨励賞受賞者研究トピックス】

運動療法のメカニズム：細胞老化の視点から

津島　博道
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター
老化制御研究チーム　老化細胞

キーワード：運動療法、慢性疾患、細胞老化

１．はじめに

運動は、加齢に伴う炎症など一部の老化の特徴を抑制できるアンチエイジング効果を持つことが知られている[1-3]。また、身体的不活動は老化を促進し、様々な慢性疾患の要因となることが知られている[4]。運動は様々な疾患に対して有効性の高い非薬物療法として認知されている[5]。世界保健機関（WHO）はこのような疾患のリスクを減らすため、成人に対し毎週 150 分以上の中強度の身体活動を奨励しているが、世界の約 27.5％がこの推奨を満たしていないと報告されている[6]。

一方で、運動の抗老化作用や疾患の進行を遅らせる効果については、その基礎となる詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。様々な運動の生化学的メカニズムを解明できれば、疾患に対してより効果的な運動処方の選択や運動の生化学的作用点を標的とした薬剤の開発などが期待される。

近年、加齢により組織に蓄積する老化細胞が様々な慢性疾患病態に関与することが明らかになってきた。運動は、ヒトやげっ歯類において細胞老化を抑制することが以前より報告されている[7]。本稿では運動の抗老化作用のメカニズムについて、細胞老化の視点から概説する。

２．細胞老化

ヒトを含む哺乳動物は、加齢に伴い様々な組織に細胞老化を起こした細胞（老化細胞）が蓄積することが知られている[8]。細胞老化の誘導には複数のがん抑制タンパク質が関与し[9]、古くから細胞自律的ながん抑制機構として機能することが知られていた[10]。また老化細胞は、様々な生理活性物質を分泌する senescence-associated secretory phenotype（SASP）と呼ばれる表現型を示し、非細胞自律的に近傍の細胞に影響を与える[11]。SASP を介した老化細胞の作用が、組織の老化や慢性疾患病態を引き起こすと考えられている。

近年、遺伝学的・薬理学的な手法により老化細胞除去を行った研究から、老化細胞の除去（セノリシス）が組織機能を回復させたり、病態を軽減させたりする作用を持つことが明らかになり、老化細胞が様々な疾患の創薬・治療標的として期待されている[12]。

３．運動と細胞老化

健康な人間が習慣的に身体活動を行うと、末梢血T細胞において細胞老化マーカーである$p16^{INK4a}$陽性細胞数が低下することが示されている。さらに、その身体活動の頻度や強度と$p16^{INK4a}$には負の相関があることが報告されている[13-15]。また長期間のランニングやレジスタンス運動を含む介入研究では、単核細胞や脂肪組織、血管内皮細胞、内皮前駆細胞における$p16^{INK4a}$の発現が低下することから[7, 16, 17]、身体活動量の多いヒトでは、様々な細胞種で老化細胞のレベルが低いことが示唆される（表１）。しかし一方で、冠動脈バイパス術を受けた高齢患者においては、運動習慣と末梢血 T 細胞における$p16^{INK4a}$の発現に相関は認められず[18]、また、急性的なサイクリング行った研究でも、筋細胞において細胞老化マーカー senescence-associated β galactosidase（SA-β-Gal）の活性に影響が認められなかったことから[19]、運動による細胞老化への影響は健康状態や運動強度・期間に依存する可能性が示唆された。

動物モデルを用いた研究においても、運動が細胞老化に及ぼす効果が明らかになっている（表２）。マウスやラットの自然老化、肥満モデル、D-ガラクトース誘導性老化モデルにおいて、ホイール走行装置やトレッドミル、スイミングなどの長期的な運動を行わせた研究では、心臓、血管内皮、脂肪組織、肝臓、骨格筋など様々な組織における$p16^{Ink4a}$発現レベルの低下が確認された。ただし、その効果は一部の組織に限定されており、腎臓や膵臓、皮膚では影響を示さなかったことから、運動による抗細胞老化効果は組織によって異なる可能性が示唆されている[20-29]。

運動が細胞老化を抑制する要因として、テロメラーゼ活性や酸化ストレスへの影響が関連すると考えられている。細胞老化は、細胞分裂によるテロメア短縮や酸化ス

連絡先：〒 173-0015　東京都板橋区栄町 35 番 2 号
E-mail 1：spt4527@tmig.or.jp
E-mail 2：spt4527@gmail.com

表１　ヒト試験における運動によるセノリティック効果

著者（発表年）	対象	対象者の年齢	対象臓器／細胞	運動の種類	運動プロトコル	細胞老化への影響	参考文献
Liu et al.（2009）	ヒト，健常者; n=170	18-80歳	T細胞	習慣的な身体活動	1か月あたり240分未満と240分以上の比較（0-1900分/月）	$p16^{Ink4a}$↓	13
Tsygankov et al.（2009）	ヒト，健常者; n=170	18-80歳	T細胞	習慣的な身体活動	1か月あたり240分未満と240分以上の比較（0-1900分/月）	$p16^{Ink4a}$↓	14
Song et al.（2010）	ヒト，健常者; n=104	18-80歳	T細胞	習慣的な身体活動	身体活動習慣（0～2000分/月）と細胞老化マーカーの相関	$p16^{Ink4a}$↓	15
Pustavoitau et al.（2016）	ヒト，冠動脈バイパス術を受けた高齢患者; n=47	56-81歳	T細胞	習慣的な身体活動	1か月あたり240分未満と240分以上の比較（0-4000分/月）	$p16^{Ink4a}$→	18
Werner et al.（2009）	ヒト，中年のマラソンランナーやトライアスロン選手; n=25/低活動的な対象者; n=21	49-52歳	単核細胞	ランニング	平均走行距離 80±7.5km/週，35±2.7年間継続（対照群：1時間以下/週，過去1年間）	$p16^{Ink4a}$↓	7
Rossman et al.（2017）	ヒト, トレーニングを受けた健常な高齢者; n=12/低活動的な対象者; n=13	58-63歳	血管内皮細胞	運動トレーニング	1日45分以上，週5日，5年間/対照群：1日30分未満，週2日以内，少なくとも過去2年間	$p16^{Ink4a}$↓，p21↓	16
Justice et al.（2018）	ヒト, 高齢の過体重／肥満者; n=8	67-77歳	脂肪組織	レジスタンストレーニング	1RMの70%の負荷でで10回×3セット/日、3日/週、5ヵ月間	$p16^{Ink4a}$↓	17

Chen XK et al. 2021 [3]より改変引用

トレスによりDNA損傷応答により誘導される。長期間の運動は、テロメラーゼ逆転写酵素を活性化し、テロメア結合因子やDNA修復タンパク質の発現を増加させることが報告されている[7, 20, 21]。

一方で、過度な負荷のかかる運動は炎症反応や酸化ストレスを誘導すると考えられている。重りを装着した状態でスイミングを長期間行わせると、海馬における細胞老化マーカーの発現が増加することが報告されている[30]。また、ダウンヒル（下り坂）条件下でトレッドミル運動に負荷をかけた状態では、骨格筋の間葉系前駆細胞（Fibro-adipogenic progenitor; FAP）において細胞老化マーカーの発現が増加することが示されている[31]。

老化細胞は、組織の老化や加齢性疾患の増悪化などの有害な作用を持つ一方で、生体にとって有益な作用を持つことも知られている。皮膚創傷や筋損傷における組織再生の過程において、細胞老化はSASPを介して細胞の分化を促進し、組織再生に貢献することが示されている[32, 33]。ダウンヒル条件下でのトレッドミル運動においても、運動によって誘導された骨格筋の間葉系前駆細胞の細胞老化が、SASPやアポトーシスの促進を介して筋肉の再生と慢性的な軽度の炎症の軽減に寄与することが示唆され、老化細胞の有益な作用が運動で発揮されることが示されている[31]。

以上をまとめると、運動による細胞老化への影響は、組織・細胞の種類、身体状況、運動の形式・強度によって異なり、特定の条件下で細胞老化抑制作用が示されること、また細胞老化に対する影響が生じやすい組織があることが示唆される。

４．おわりに

運動による細胞老化の制御に関する研究はまだ限られており、どのような運動形式（強度や種類）がどの組織や細胞の老化に影響を及ぼすのか、除去もしくは誘導された老化細胞が生体にとってどのような作用を持つのか、細胞老化の制御を仲介する因子は何かなど、未だ不明な点が多い。運動によって分泌される因子は、運動模倣薬としての有効性も期待される。運動によって生体内に誘導されることが知られるインターロイキン-15を外部から投与することで、皮膚創傷治癒が促進され、運動を介入した時と同様の効果を示すことが報告されている[25]。このように、運動が細胞老化を制御するメカニズムを解明することは、細胞老化を標的とした新規治療法や薬剤の開発につながると期待される。

５．謝辞

第46回日本基礎老化学会で発表した研究成果は現在論文執筆中であり、当該研究に関連した運動と細胞老化に関する研究論文のミニレビューを寄稿させていただきました。研究を行うにあたり、御協力頂いた多くの先生方にこの場をお借りして御礼申し上げます。特に、国立長寿医療研究センターの浅井 あづさ 博士、細山 徹 博士、至学館大学の多田 敬典 博士、東京都健康長寿医療センターの研究所の杉本 昌隆博士に深謝いたします。

引用文献

1. Garatachea N, Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, *et al*. Exercise attenuates the major hallmarks of aging. ejuvenation Res. 18(1)：57-89, 2015.
2. Woods JA, Wilund KR, Martin SA, *et al*. Exercise,

表２　動物実験における運動によるセノリティック効果

著者（発表年）	対象	対象の週月齢	対象臓器／細胞	運動の種類	運動プロトコル	細胞老化への影響	参考文献
Werner et al.（2008）	マウス(C57BL/6)，正常マウス; n=8-12	8週齢	心臓	ホイール走行装置（自発的運動）	平均走行距離 5,100±800m/日，21日間	$p16^{Ink4a}$↓	20
Werner et al.（2009）	マウス(C57BL/6)，正常マウス; n=6-8	8週齢	単核細胞，大動脈	ホイール走行装置（自発的運動）	平均走行距離 4280±670m/日，21日間	$p16^{Ink4a}$↓	7
Kröller-Schön et al.（2012）	マウス(C57BL/6)，正常マウス; n=6	8週齢	血管内皮細胞	ホイール走行装置（自発的運動）	平均走行距離 4336 ± 842 m/日，8週間	$p16^{Ink4a}$↓	21
Schafer et al（2016）	マウス(p16INK4a-EGFP Tg)，肥満モデル; n=6-7	8ヶ月齢	脂肪組織，肝臓，大動脈，骨格筋，膵臓，腎臓，心臓	ホイール走行装置（自発的運動）	平均走行距離 3,391±1166m/日，16日間	$p16^{Ink4a}$↓→，p21↓→，SA-β-gal↓→（組織により異なる結果）	22
Zhang et al.（2016）	ラット(SD)，自然老化モデル	20ヶ月齢	膝蓋腱	トレッドミル	30分/日（13m/分），5回/週，4-8週間	SA-β-gal↓	23
Yoon et al.（2019）	マウス(C57BL/6)，自然老化モデル; n=5	19ヶ月齢	骨格筋	トレッドミル	30分/日（2回/日），5回/週，4週間	$p16^{Ink4a}$↓，p21↓	24
Wong et al.（2019）	マウス(C57BL/6)，自然老化モデル; n=6	3-5ヶ月齢，24ヶ月齢	真皮，表皮	トレッドミル	10-16 m/分（33日間）+8 m/分（5日間）	$p16^{Ink4a}$→，p21→	25
Jang et al.（2019）	マウス(C57BL/6)，肥満モデル; n=3	10週齢	海馬	トレッドミル	1時間/日（8-16m/分），5回/週，12週間	$p16^{Ink4a}$↓，p21↓，SA-β-gal↓	26
Saito et al.（2020）	マウス (Balb/c)，正常マウス; n=3-5	13週齢	骨格筋の間葉系前駆細胞（Fibro-adipogenic progenitor; FAP）	トレッドミル	17 m/分 のダウンヒルトレッドミル（-20°），30分	Cdkn2a↑，Cdkn1a↑，$p16^{Ink4a}$↑，SA-β-gal↑	31
Bao et al.（2020）	マウス(C57BL/6)，自然老化モデル; n=5	19ヶ月齢	腎臓	回転式トレッドミル	5-60分/日（3.2-4.8 m/分），5回/週	SA-β-gal↓	27
Huang et al.（2013）	ラット(SD)，D-ガラクトース誘発老化モデル; n=5-6	7週齢	肝臓	スイミング	60分/日，5回/週，12週間	p21↓，SA-β-gal↑	28
Fan et al.（2017）	ラット(SD)，D-ガラクトース誘発老化モデル; n=7	4ヶ月齢	骨格筋	スイミング	45分/日，5回/週，6週間	SA-β-gal↓	29
Liu et al.（2019）	ラット(SD)，正常ラット; n=3	8-10週齢	海馬	スイミング	60分/日，5週間，尾の付け根に重りを装着	p21↑，SA-β-gal↑	30

Chen XK et al. 2021 [3]より改変引用

inflammation and aging. Aging Dis 3(1)：130-40, 2012.

3. Chen XK, Yi ZN, Wong GT, *et al*. Is exercise a senolytic medicine? A systematic review. Aging Cell 20(1)：e13294, 2021.
4. Booth FW, Roberts CK and Laye MJ. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. Compr Physiol 2(2)：1143-211, 2012.
5. Pedersen BK and Saltin B. Exercise as medicine-evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. Scand J Med Sci Sports 25 Suppl 3：1-72, 2015.
6. Guthold R, Stevens GA, Riley LM, *et al*. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016：a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1・9 million participants. Lancet Glob Health 6(10)：e1077-e1086, 2018.
7. Werner C, Fürster T, Widmann T, *et al*. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. Circulation 120(24)：2438-47, 2009.
8. Dimri GP, Lee X, Basile G, *et al*. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A 92(20)：9363-7, 1995.
9. Ben-Porath I and Weinberg RA. The signals and pathways activating cellular senescence. Int J Biochem Cell Biol 37(5)：961-76, 2005.
10. Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. Trends Cell Biol 11(11)：S27-31, 2001.
11. Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, *et al*. The senescence-associated secretory phenotype：the dark side of tumor suppression. Annu Rev Pathol 5：99-118, 2010.
12. Zhang L, Pitcher LE, Yousefzadeh MJ, *et al*. Cellular senescence：a key therapeutic target in aging and diseases. J Clin Invest 132(15)：e158450, 2022.
13. Liu Y, Sanoff HK, Cho H, *et al*. Expression of p16（INK4a）in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging. Aging Cell 8(4)：439-48, 2009.
14. Tsygankov D, Liu Y, Sanoff HK, *et al*. A quantitative model for age-dependent expression of the p16INK4a tumor suppressor. Proc Natl Acad Sci U S A 106(39)：16562-7, 2009.
15. Song Z, von Figura G, Liu Y, *et al*. Lifestyle impacts on the aging-associated expression of biomarkers of DNA damage and telomere dysfunction in human blood. Aging Cell 9(4)：607-15, 2010.
16. Rossman MJ, Kaplon RE, Hill SD, *et al*. Endothelial cell senescence with aging in healthy humans：prevention by habitual exercise and relation to

vascular endothelial function. Am J Physiol Heart Circ Physiol 313 (5) : H890–H895, 2017.
17. Justice JN, Gregory H, Tchkonia T, *et al*. Cellular Senescence Biomarker p16INK4a+ Cell Burden in Thigh Adipose is Associated With Poor Physical Function in Older Women. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 73 (7) : 939–945, 2018.
18. Pustavoitau A, Barodka V, Sharpless NE, *et al*. Role of senescence marker p16 INK4a measured in peripheral blood T-lymphocytes in predicting length of hospital stay after coronary artery bypass surgery in older adults. Exp Gerontol 74 : 29–36, 2016.
19. Wu J, Saovieng S, Cheng IS, *et al*. Ginsenoside Rg1 supplementation clears senescence-associated β-galactosidase in exercising human skeletal muscle. J Ginseng Res 43 (4) : 580–588, 2019.
20. Werner C, Hanhoun M, Widmann T, *et al*. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. J Am Coll Cardiol 52 (6) : 470–82, 2008.
21. Kröller-Schön S, Jansen T, Hauptmann F, *et al*. α1AMP-activated protein kinase mediates vascular protective effects of exercise. Arterioscler Thromb Vasc Biol 32 (7) : 1632–41, 2012.
22. Schafer MJ, White TA, Evans G, *et al*. Exercise Prevents Diet-Induced Cellular Senescence in Adipose Tissue. Diabetes 65 (6) : 1606–15, 2016.
23. Zhang J, Yuan T and Wang JH. Moderate treadmill running exercise prior to tendon injury enhances wound healing in aging rats. Oncotarget 7 (8) : 8498–512, 2016.
24. Yoon KJ, Zhang D, Kim SJ, *et al*. Exercise-induced AMPK activation is involved in delay of skeletal muscle senescence. Biochem Biophys Res Commun 512 (3) : 604-610, 2019.
25. Wong W, Crane ED, Kuo Y, *et al*. The exercise cytokine interleukin-15 rescues slow wound healing in aged mice. J Biol Chem 294 (52) : 20024–20038, 2019.
26. Jang Y, Kwon I, Cosio-Lima L, *et al*. Endurance Exercise Prevents Metabolic Distress-induced Senescence in the Hippocampus. Med Sci Sports Exerc 51 (10) : 2012–2024, 2019.
27. Bao C, Yang Z, Li Q, *et al*. Aerobic Endurance Exercise Ameliorates Renal Vascular Sclerosis in Aged Mice by Regulating PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway. DNA Cell Biol 39 (2) : 310–320, 2020.
28. Huang CC, Chiang WD, Huang WC, *et al*. Hepatoprotective Effects of Swimming Exercise against D-Galactose-Induced Senescence Rat Model. Evid Based Complement Alternat Med. 2013 : 275431, 2013.
29. Fan J, Yang X, Li J, *et al*. Spermidine coupled with exercise rescues skeletal muscle atrophy from D-gal-induced aging rats through enhanced autophagy and reduced apoptosis via AMPK-FOXO3a signal pathway. Oncotarget. 8 (11) : 17475–17490, 2017.
30. Liu B, Liu W, Liu P, *et al*. Silibinin Alleviates the Learning and Memory Defects in Overtrained Rats Accompanying Reduced Neuronal Apoptosis and Senescence. Neurochem Res 44 (8) : 1818–1829, 2019.
31. Saito Y, Chikenji TS, Matsumura T, *et al*. Exercise enhances skeletal muscle regeneration by promoting senescence in fibro-adipogenic progenitors. Nat Commun 11 (1) : 889, 2020.
32. Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, *et al*. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. Dev Cell 31 (6) : 722–33, 2014.
33. Chikenji TS, Saito Y, Konari N, *et al*. p16INK4A-expressing mesenchymal stromal cells restore the senescence-clearance-regeneration sequence that is impaired in chronic muscle inflammation. EBioMedicine 44 : 86–97, 2019.

基礎老化研究 48（1）; 39－49, 2024

【名誉会員特別寄稿】

老化の根本的なメカニズムとしての老化炎症とカロリー制限による老化の調節

盧　相均[1]、權　力俊[2]、李　在原[1]、尹　靖賢[1]、横澤　隆子[3]、劉　秉八[4]、鄭　海泳[1]
[1]釜山大學校 藥學大學 藥學科・新藥開發研究所、
[2]釜山大學校 梁山病院 家庭醫學科・醫科學研究所、
[3]富山大学理工学研究部、
[4]Texas 大學校 醫科大學 生理學科

要約

老化炎症（Senoinflammation）は、老化に伴う慢性炎症とも言われ、多臓器並びに全身にひき起こされる炎症反応で、悪性度は低いが、未解決の多い疾患である。本稿では、複雑な老化炎症の基本的概念とその枠組みについて概説し、次いで種々の老化臓器への関与を究明して、進行性の老化による全身変性について概説する。老化関連炎症の根底にある老化炎症は、代謝調節異常並びに老化関連分泌表現型（SASP）の形成と因果関係を有するが、本稿では、カロリー制限（CR）の老化防止効果と抗炎症効果で実証されるように、老化炎症の概念とその制御プロセスを裏付ける生化学的証拠とシステム分子生物学データを紹介する。さらに、CR が老化に伴うさまざまな炎症誘発性サイトカインやケモカイン、脂質蓄積、SASP の増加を効果的に抑制することを明らかにした。結論として、老化炎症の概念は、老化や老化関連疾患をひき起こす微細環境を作り出す基本的なメカニズムを表しており、また老化や老化に関連した病気に対する治療標的としても機能していることが示されている。

キーワード：老化、老化関連疾患、老化炎症、カロリー制限、代謝異常、SASP

1．はじめに

老化と炎症との相互作用についての研究は、多数報告されており、現在までのところ、老化に伴って生ずる慢性炎症については、分子レベル、細胞レベル、全身の生理学的レベルで概説されている。さらに、アテローム性動脈硬化症、メタボリックシンドローム、骨粗鬆症、サルコペニア、アルツハイマー病などが、老化とともに、さまざまな症状に変化する知見について報告され、このことは老化に伴って生ずる慢性炎症を管理するための解決策が必要不可欠であることを示している。

2000 年に、Franceschi らは高齢者の炎症誘発状態を「炎症」と提案した [1]。同じ頃、我々は分子炎症プロセスの概念を導入して、カロリー制限（CR）による抗炎症効果を提示した [2]。数年後、我々はさらに老化過程における慢性炎症と老化関連疾患を解明するために、老化炎症概念として知られる包括的なスキーマを開発した [3]。

連絡先：鄭　海泳
〒46241　釜山廣域市 金井區 釜山大學路 63番-2
TEL：82-51-510-2814　FAX：82-51-518-2821
E-mail：hyjung@pusan.ac.kr

老化プロセスの主な特徴は、免疫の調節不全で、広範囲に亘って全身性の慢性炎症をひき起こす。この制御されていない炎症環境の主な原因は、サイトカインとケモカインであり、これらは慢性炎症や老化関連疾患に極めて重要な役割を果たしている。注目すべきことに、老化した組織では、インターロイキン-6（IL-6）、腫瘍壊死因子（TNF-α）並びにそれらの受容体の発現が増加し、またケモカインやC反応性タンパク質（CRP）レベルの上昇も、老化に関連したメカニズムに関与していると考えられている [4]。

本稿では、老化研究に最適な抗老化技術と考えられている CR の抗炎症効果を調査しながら、さまざまな分子レベルおよびシステムレベルの証拠を提供したい。

2．老化に伴う慢性炎症と慢性疾患

炎症は通常、短期間に治る急性炎症と非常に複雑で、治りにくい慢性炎症に分類されている。急性炎症の場合、マクロファージや好中球、マスト細胞などが重要な役割を果たしており、最初の防御壁として機能している。この段階では、認識受容体がまず病原体関連分子パターン（PAMP）と損傷関連分子パターン（DAMP）を有害な刺激として識別するが、特に Toll様受容体（TLR）と

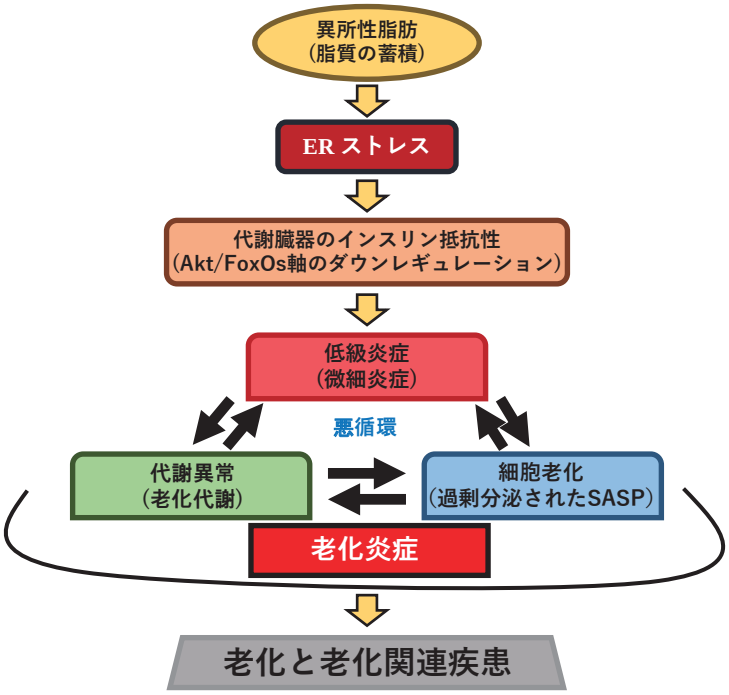


図１　老化炎症の構成要素と役割
老化プロセスに伴う酸化ストレスと慢性炎症は、脂質の蓄積と小胞体（ER）ストレスを特徴とした老化代謝状態の発達に関係している。これらのプロセスは細胞の老化を促進するとともに、これらの相互作用は老化を悪化させる。このことは、老化や老化関連疾患につながる微細炎症の枠組みの中で、代謝および細胞の老化変化を調べることの重要性を強調している。

NOD 様受容体（NLR）は、このプロセスに大きく貢献している[5]。そして、これら活性化されたシグナル伝達経路を通じて、NF-κB や AP-1 などの転写因子が自己誘導されて、サイトカインやケモカイン、エイコサノイド、その他の強力な炎症促進剤などが、さまざまな炎症性メディエーターの発現を上方制御する。急性炎症反応は、最終的には炎症の根本的な原因を排除することによって、平衡を再確立する方向に働くが、最近の研究では、この段階で重要な役割を果たす新しい抗炎症要素として、リポキシン、レゾルビン、プロテクチンや種々のプロスタノイドが示されている。しかし、老化の過程では、これらメディエーターのレベルが低下しており、慢性炎症をひき起こすことが報告されている[6]。この慢性炎症（微細炎症）の進行は、急性炎症とは異なる経路を辿る。また、慢性炎症では初期の炎症を完全に解消するに至らないことが多く、その結果、肉芽腫のような異所性のリンパ様構造の形成を特徴とする慢性炎症状態に繋がる。炎症プロセスとメカニズムの特異性は、さまざまな慢性炎症状態によって異なるが、その結果は一貫して多くの老化に関連した慢性疾患と絡み合っている[4]。

３．免疫調節不全、細胞老化、代謝の変化に基づく老化炎症の概念

老化現象に関した多くの仮説の中で、フリーラジカルに基づく酸化ストレス仮説が、現在最も容認されており[7]、老化による酸化ストレスの増加は、DNA や細胞の構成要素、さらにはそれらの機能に損傷を与え、老化プロセスを促進する。酸化還元感受性 NF-κB 転写因子の活性化と、その後の酸化ストレスによる慢性炎症誘発プロセスの増強は、老化炎症仮説の中核要素として機能している[3]。

老化炎症は、分子レベルからマクロファージ、miRNA、代謝経路を含む全身レベルに至る複雑な炎症反応が関連しており（図１）、これらには老化関連分泌表現型（SASP）、代謝異常、微細炎症などの特徴を有している。また、老化炎症は酸化ストレスに敏感な転写因子の NF-κB が急激に増加し、NF-κB の活性化は TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8、MCP-1 などのサイトカイン／ケモカインの上方制御をひき起こす[3, 8, 9]。接着分子、p53、AP-1、STAT を含む他の転写因子[10, 11]も MAPK/IKK シグナル伝達の上方制御をひき起こす[12]。その後、上方制御された慢性炎症は、インスリン／インスリン様成長因子（IGF）経路やAMPK/mTOR 経路、FoxO、PPAR、SIRT 経路などの重要な代謝および炎症経路に影響を与えると同時に[11]、細胞レベルでは、老化によって TLR シグナル伝達、M1/M2 分極化、NF-κB シグナル伝達が亢進して、好中球、NK 細胞、B/T 細胞などの免疫細胞の増殖と浸潤を誘導し[13, 14]、これらの増幅は慢性炎症と SASP 分泌のカスケードをひき起こす。その結果、TNF-α、IL-6、IL-1β、CRP、血清アミロイド A などの炎症誘発性メディエーターの上昇と相俟って、全身レベルの系統的な老化関連炎症の急増が、最終的に小胞体ストレスと機能障害をひき起こし[15]、老化炎症は顕微鏡的にも巨視的にも老化プロセスを悪化、加速させる。

老化炎症は、炎症／代謝経路への影響を通じて、さま

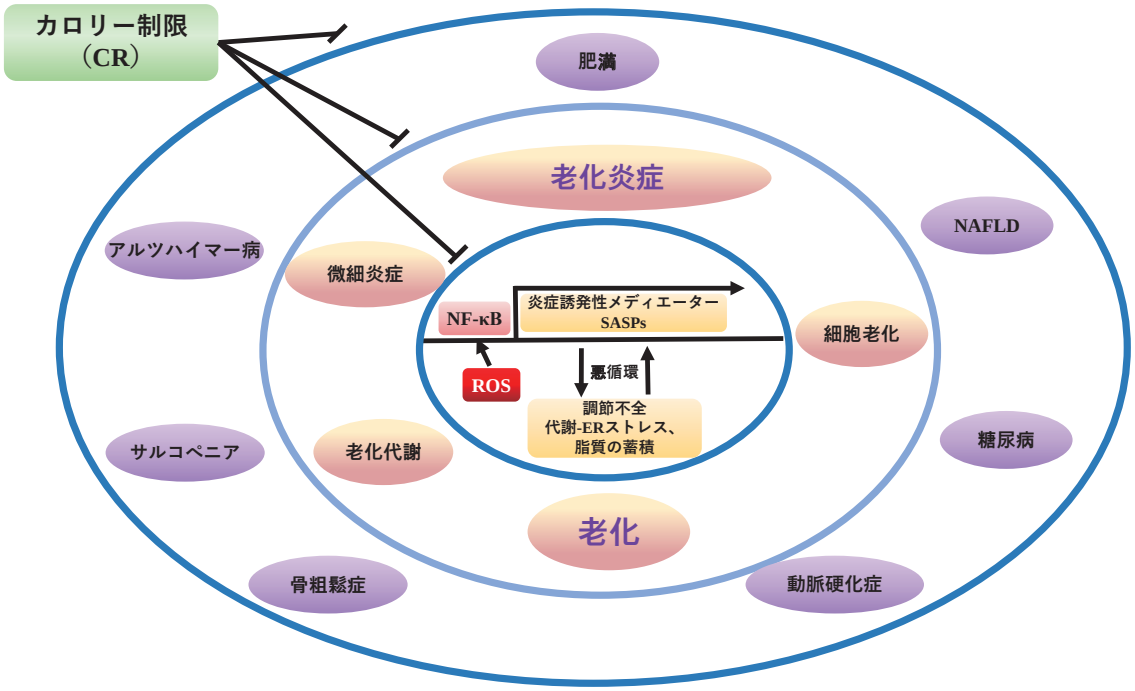


図２　老化および老化関連疾患の基礎としての老化炎症
酸化ストレスはNF-κBの活性化、サイトカイン、ケモカインの誘導をひき起こし、微細炎症と細胞老化を開始する。これらのプロセスは、セノメタボリズムと相互に作用して、悪循環を形成する。これとは対照的に、アンチエイジングパラダイムとしてのCRは、SASPの分泌やセノメタボリズムなどの炎症に関連する遺伝子の発現を抑制することによって慢性炎症を軽減し、アンチエイジング効果を促進する有望な手段を提供すると同時に、CRは代謝異常に関連する遺伝子の発現を調節して、老化や老化関連疾患の原因となる老化炎症を軽減する。

ざまな臓器にわたって機能不全をひき起こす。特に、慢性炎症は腎臓の細胞外マトリックス（ECM）生成に直接関与して、線維症を誘発する[16]。一方、皮膚の慢性炎症は色素沈着、しわ、メラニンの蓄積に代表される皮膚の老化を増幅させる[17, 18]。さらに、肝臓ではPPAR経路に関与して、過剰な脂質の蓄積をひき起こす[19]。一方、筋肉では、慢性炎症がAkt-FoxOs軸を介してサルコペニアに寄与する[20, 21]。上述したように、老化炎症の病理学的影響は、老化関連疾患に対する感受性を明らかに悪化させる能力の基礎となっている。

多くの研究者は、老化関連疾患の経過における極めて重要な炎症メディエーターと、その経路を理解するための有益な手段として、老化炎症を認識している。これらは治療標的に光を当て、従来は老化に伴った慢性炎症と関連付けていなかった代謝転写因子、代謝炎症メディエーター、炎症性代謝経路についての洞察を提供しており、このパラダイムは、複雑な分子レベルの相互作用を明らかにし、老化と老化に関連した疾患の複雑さを解読する上に、大きな影響を及ぼしている[3, 4]。

老化細胞では、SASPの発現が一部上昇するが、他ではSASPレベルが低下する。インターロイキンやMMPのような同じグループであっても、発現パターンはサブタイプによって異なっているが、老化した細胞はSASPを放出してエフェクター細胞として機能し、微細環境に影響を与える。さらに、別のサブタイプは、SASPとその受容体を共発現することによって、細胞間のコミュニケーションに関与する。逆に、一部の老化細胞はSASP受容体のみを発現して、他の供給源からのSASPを受容する標的細胞として機能するが、一部の細胞はSASPとその受容体の発現を阻害して、細胞間のコミュニケーションを欠如させる[22-24]。

老化炎症では、極めて重要なプロセスとして、相互に連関している。この概念によると、老化と共に酸化ストレスが高まると、NF-κBが活性化され、その結果として炎症とSASP産生が促進され、最終的には細胞が老化状態に陥る。老化した細胞は、脂肪細胞、肝臓細胞、筋肉細胞だけでなく、免疫細胞とも関わって、炎症と代謝異常の両方を激化させる。すなわち、細胞老化は老化と老化に関連した疾患に重要な役割を演じている（図２）。

さらに、老化細胞は細胞周期が停止しているにもかかわらず、正常細胞と比較して異常な代謝プロファイルを有しているにもかかわらず、代謝活性を保持している[25]。細胞の老化では、mtDNA損傷によって酸化的リン酸化機能不全をひき起こしてミトコンドリアの伸長、ミトコンドリア分裂の減少、ミトコンドリア動態の変化によって、ミトコンドリア質量の増加を来たす[26-29]。さらに、ミトコンドリアでは、逆行性シグナル伝達の活性化によって、ROSや酸化ストレス、DNA損傷の増加等をひき起こす[30-32]。その結果、代謝障害によって細胞の老化とともに糖生成、脂質生成、タンパク質合成などのプロセスに顕著な影響を与え[33-35]、特に脂質生成の増加は、セノメタボリズムの特徴である過剰な脂質の蓄積を

来たす[36]。以上より、細胞における老化代謝の変化を理解することは、老化プロセスの複雑さを解明する上で極めて重要である。

老化炎症と細胞老化は、ともに代謝の調節不全をひき起こす。老化に伴う代謝の変化は広く認識されており、積極的に研究されているが、代謝バランスを支配するシグナル伝達経路のAkt-FoxOs軸は、酸化ストレスと慢性炎症が代謝器官のインスリン抵抗性を誘発することが報告されている[37]。すなわち、Akt活性が低下してFoxOs発現が増加し、炎症や脂質蓄積に関連する遺伝子が誘発される（図１）。さらに、PPARシグナル伝達経路の変化は、老化時の代謝変化に極めて重要な役割を果たし、AMPK、IGF-1、mTOR、SIRTなどの複数な代謝関連シグナル伝達経路も老化によって変化することが知られている[38-41]。

筋肉の老化は、筋肉細胞のグルコース代謝を損ない、その結果としての筋肉の減少を来たすが、これをサルコペニアと呼ばれている。肝臓では、老化とともにmTOR、AMPK、SIRTに関わる栄養感知の調節不全をひき起こして、オートファジーやミトコンドリア代謝の混乱を生じ、これによって肝細胞の老化とサイトカインを含むSASP分泌が促進されて、脂質の蓄積や非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）などの原因となる。さらに、脂肪組織では脂肪細胞が老化の過程で組成変化をひき起こして、慢性炎症や脂質の蓄積が激化し、最終的にはインスリン抵抗性に関連した代謝障害をひき起こす[37, 42-44]。

これらの研究成果は、老化に伴って生ずる炎症と細胞老化は、代謝状態を複雑に悪化させること、並びに代謝経路は、代謝と炎症の両方を調節していることを明らかにしている。すなわち、酸化ストレスと慢性炎症を有する老化細胞は、脂質の蓄積と小胞体（ER）ストレスを特徴とする細胞代謝を促進して、サイトカインとケモカインの発現を増幅させ、微細炎症を促進させる。しかし、この微細炎症と細胞老化は悪循環に陥って、さらにセノメタボリズムとなる（図２）。この力関係は、代謝と炎症が老化プロセスで分離されているのではなく、相互に影響しあって、老化を促進するという関係にある。従って、これらを十分に探索して、老化介入への強力なアプローチ、並びにそれらを管理する戦略を模索することの重要性を強調している（図１）。

４．老化炎症概念に対するCRの裏付けとなる証拠

CRとは、適切な栄養を確保しながらカロリー摂取量を減らすことを意味するが、生物学的老化プロセスを遅らせ、平均寿命と最長寿命の両方を延ばす能力を一貫して実証されている注目すべき戦略である[45]。広範な動物研究より、CRは寿命を延ばすだけでなく、全体的な健康状態を向上させ、さまざまな生理学的プロセスに影響を与えるという、説得力のある証拠が提供されており[46]、CRは十分に実証されたアンチエイジング戦略となっている。

CRの有効性は、長寿に関連する特定のバイオマーカーに影響を与える能力と密接に関係しており、多くの研究によって、老化に伴った病気に対して予防効果が確認されている。また、分子レベルでは老化および老化に関連した健康問題に、CRが重大な影響を及ぼしているメカニズムが、いくつか裏付けられている。

１）SASP発現および細胞老化に対するCRの抑制効果

老化の主な特徴は、p53-p21及び$p16^{INK4a}$-pRB経路が関与するメカニズムによって媒介される永久的な成長停止[47]と、もう１つの一般的に使用されているマーカーは老化関連β-ガラクトシダーゼ（SA-βgal）で、活性の増加はリソソーム量の増加に起因すると考えられている[48-50]。また、SASPはサイトカイン、ケモカイン、成長因子などの水溶性シグナル伝達分子、直接作用因子としては 活性酸素種（ROS）、活性窒素種（RNS）などの小さな非タンパク質成分、マトリックスメタロプロテアーゼ、並びにインスリン様成長因子（結合タンパク質）が挙げられている[51]。

CR療法を18週間受けた肥満の中年／高齢者では、T細胞における$p16^{INK4a}$発現の変化はSASP因子の減少と、そして体重減少は炎症促進性の低いSASPプロファイルと関係していた[52]。長期的なCRとPD-1を対象とした特異的抗体治療では、いずれもSASP内の有害なループを破壊することによって、老化に伴った慢性炎症に対抗する能力を保持していることが実証され、老化T細胞を標的とした戦略では、肥満関連の代謝障害を管理するだけでなく、老化に関連した慢性疾患や老化プロセス自体に介入するといった新しいアプローチを提供していた[53]。

マウスの臓器やヒト結腸粘膜において、CRによって老化マーカーが減少する多くの報告がなされているが[54-58]、細胞損傷が老化の主な引き金の１つであることを考えると、CRは損傷を回避することによって、老化細胞の生成を減らすことが想定されている[59]。また、CRによって活性化されるリソソーム分解経路のオートファジーでは、損傷したタンパク質やミトコンドリアなどの細胞小器官を除去するといった老化防止メカニズムの機能が報告されており[60, 61]、注目すべきことに、マクロファジーによる機能不全のミトコンドリアの選択的除去によって、老化に関連する多くの表現型を軽減していることが示されている[62]。

CRはまたDNA修復機構を強化して活性化することにより、細胞の老化を阻止することも示され、非相同末端結合における老化に伴う減少を軽減して、ヌクレオチド除去修復を強化し、ポリメラーゼαおよびβ活性を高めて、老化に伴う減少を阻止させている[63-65]。さらにCRは、若い動物と高齢の動物の両方で、塩基除去修復経路を誘導して、DNAを保護することが報告されている[66]。

ヒトでは、その影響は直接的ではないが、齧歯動物ではCRによって循環IGF-1レベルが低下しているが[67]、長期CRは血清IGFBP-1の継続的な増加によって、IGF-1：IGFBP-1比の低下、循環中の遊離IGF-1を減少させることによって、IGF-1シグナル伝達を阻害すると考えられている[68]。従って、CRによるIGF-1活性の低

下は、早期老化の予防に寄与している可能性が示唆されている。なお、CRはラパマイシンの機構的標的（mTOR）にも好影響を及ぼし、それによってmTOR主導の老化プロセスが妨げられている[59]。

2）インスリン感受性と小胞体ストレスに対するCRの影響

CRは、特に高カロリー食によって誘発されたメタボリックシンドロームのマウスモデルにおいて、インスリン感受性を高めることが示されている。2～4週間続く短期CR介入によって、肝臓組織のインスリン感受性が改善されることが実証されている[69]。さらに、3か月間延長したCR療法によって、脂肪組織におけるインスリン作用の部分的な改善がもたらされ、老化に関連するインスリン抵抗性の軽減に貢献していた[70]。

メタボリックシンドロームのマウスモデルにおけるCRによるインスリン抵抗性の改善の根底にあるメカニズムは多面的であるが、改善に寄与するメカニズムの1つとして、CRによって誘発される小胞体（ER）ストレスの軽減が挙げられている[71]。これまでの研究では、CRがERストレスに関連するマーカータンパク質のmRNAレベルに影響を及ぼして、メタボリックシンドロームのマウスの肝臓と精巣上体脂肪組織の両方で、ERストレスマーカーが大幅に減少することが示されている[70]。さらに、CRはインスリン受容体IRS-1およびJNKのリン酸化に関与しているが、いずれもERストレスと密接に関係しており、CRはERストレスを軽減することによって、インスリン感受性を高める役割を有している[72, 73]。

要約すると、CRはインスリン抵抗性の改善に関与しているが、このことは老化マウスの肝臓や脂肪組織などのERストレスの軽減に部分的に起因していた[71]。インスリン感受性に対するCRの効果には、制御機構の組み合わせが関与しているが、インスリン抵抗性は健康や老化にプラスの効果をもたらされることが実証されている。

3）CRによるインフラマソームの抑制

インフラマソームの形成に対するCRの影響についての理解は、ある程度限られているが、いくつかの研究では、食事中の栄養素がインフラマソームによってひき起こされる炎症反応に、どのような影響を与えるかについての報告がなされている[74]。すなわち、誘発性脳卒中マウスにおける間欠的絶食は、脳組織中の炎症性サイトカイン（IL-1β，IL-18）の発現を減少させることが示されている[75]。ヒトの臨床研究では、絶食時にNLRP3インフラマソームの活性が相対的に低下することも示されている[76]。これらの知見は、CRによる食事制限がインフラマソーム形成を効果的に抑制していることを示すものである。

CRがインフラマソーム活性を抑制する正確なメカニズムは、まだ完全に解明されていないが、このプロセスに潜在的な関与因子としてβ-ヒドロキシ酪酸、そして絶食やCR中に生成されるケトンであることが指摘されている[74]。β-ヒドロキシ酪酸は、インフラマソームの機能を阻害する中間生成物として機能していることが知られているが、インフラマソームの重要な構成要素のカスパーゼ動員ドメイン内へのK^+イオンの流出とオリゴマーの凝集を妨げることによって達成されることが報告されている[74]。すなわち、このことはNLRP3インフラマソームの阻害に繋がり、さらにβ-ヒドロキシ酪酸は、NLRP3インフラマソーム活性化に応答して、免疫細胞で生成される炎症性サイトカインのIL-1βやIL-18の産生を抑制することが観察されている[74]。

これらの知見から、CRに関連した抗炎症効果は、β-ヒドロキシ酪酸の生成と活性化とが複雑に関連していると推測される。この代謝中間体は、炎症要素の活性を調節して、その後の全体的な炎症反応に影響を及ぼしているものと考えられている[71]。

4）CRによる老化炎症反応の調節

CRの抗炎症効果を解明するために、数多くのメカニズムが提案されており、抗体がこれらに大きく寄与していることを強調する新たな証拠も出てきている[77]。CRの抗炎症作用の注目すべき側面の1つとして、細胞内の活性酸素種の減少を伴った抗酸化作用に関係しており、このプロセスの重要な要素としてCOX-2の阻害に重点が置かれている[78]。

さらに、CRは細胞内の酸化ストレスなどのさまざまなトリガーに応答して、MAPKシグナル伝達経路に影響を与えることが示されている。動物実験では、CRが炎症に関連するJNKやp38などのMAPKの活性増加を効果的に逆転させて、調節していることが実証されている[78]。

CRの影響を受けるもう1つの側面は、PPAR（ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体）の活性で、これまでの研究では、老化した腎臓内のPPAR遺伝子発現とそのDNA結合活性の大幅な低下が明らかになっている反面、CRはPPAR活性を増強することが判明しており、このことは炎症を軽減するNF-κBシグナル伝達系の抑制に起因している可能性が示唆されている[79, 80]。具体的には、PPARは老化に伴った炎症の軽減に期待されているが、根底にあるメカニズムを包括的に解明するには、さらなる研究が必要である。

一方、CRは肝臓や脳、脂肪組織などの組織において、寿命を延ばして老化を遅らせるタンパク質のサーチュイン1（SIRT1）[81]レベルを増加させることが実証されている[82]。CRを介したSIRT1の活性化にはFoxO3、FoxO4、PGC1α、NF-κBなどのタンパク質との相互作用が関与して、MnSODなどの抗酸化物質の生成に寄与し、それによって老化防止効果と抗炎症効果をもたらしていることが報告されている[83]。

老化は、メタボリックシンドロームの主な原因のインスリンシグナル伝達機能不全並びにインスリン抵抗性を特徴とする代謝変化と密接に関連しているが、CRはインスリン抵抗性とそれに伴う代謝異常の改善に重要な役割を果たし、最終的にはインスリン感受性を高めて、高

インスリン血症などの代謝障害の影響を軽減し、高齢者の健康状態の改善に貢献している。

5）CRによる炎症および代謝関連遺伝子のシグナル伝達経路の調節

我々は、マウス腎臓のRNA-Seq解析を通じ、老化とCRに関連する統合シグナル伝達経路の詳細な研究を実施した。次世代シーケンシング（NGS）、プロテオミクス、ゲノミクス、メタボロミクス、エピジェネティクスなどの高度な技術を使用して、老化生物学の複雑な分子基盤を掘り下げた[71]。加えて、オミクスデータの力を活用したが、これには多様な生物学的プロセスとエピジェネティックな要因の包括的な分析と統合が含まれ、老化とCRに関連するオミクスデータを収集して、システム生物学の原理とコンピューターサイエンスのアルゴリズムを使用して再分析を行った。この方法論的枠組みを通じて、我々は老化に関連する478個の遺伝子とCRに関連する586個の遺伝子を特定した[84]。次に、これらの遺伝子を、遺伝子オントロジーを用いて、老化とCRに密接に関連する生物学的経路をマッピングした。我々の発見は、遺伝子発現パターンと免疫機能、脂質代謝、並びに細胞接着との間の重要な相互関係を明らかにすることが出来た。さらに、転写モジュール性の分析によって、老化における細胞接着と免疫応答に関連する遺伝子の上方制御と並んで、脂質代謝に関連する遺伝子の下方制御を強調することが出来た。注目すべきことに、CRはこれらの変化に対し、効果的に拮抗することを明らかにした[84]。

また、発現差遺伝子を用いたタンパク質間相互作用ネットワーク解析を実施し、老化群とCR群の両方から中心ハブタンパク質を同定することに焦点を当て、リンパ球特異的プロテインチロシンキナーゼ（LCK）として知られている極めて重要なハブタンパク質を特定することが出来た[85]。我々の研究は、老化プロセスにおける炎症と代謝の間の複雑な相互作用に光を当てることが出来た。

さらに、RNA-Seq技術を用いて、我々は老化における炎症の調節的役割を分子スケールで検討した[86]。若いマウスと高齢のマウスの腎臓組織を分析した結果、老化に伴って広範囲のサイトカイン、ケモカイン、TNF-αの発現が大幅に増加していることを明らかにした。この現象は、TLR-AKTおよびIKK-NF-κBシグナル伝達経路の顕著な活性化を伴っていたが[87]、CRにはこれらの老化に伴って認められた変化を効果的に逆転させるという、重要な所見を見い出した[88]。CRおよびオミクスのビッグデータ解析から得られた結果と一致して、サイトカインとケモカインが関与する経路は、老化において大幅な上方制御を示し、CRはSASPの放出を効率的に抑制する強力な正の制御因子として出現していた[89, 90]。

以上、CRによる強力な老化防止に関する知見は、老化プロセスを推進する基本的な分子機構としての老化炎症の概念を強力に支持するものであり、これらの発見から、老化炎症では老化に関連した炎症プロセスおよび代謝異常を軽減することを目的とした戦略の有望な標的になると断言したい。

5．結論

老化炎症は、インスリン／Aktシグナル伝達の変化や炎症誘発性遺伝子発現などの代謝変化によって特徴づけられているが、老化やCR関連のオミクスデータの分析より、サイトカインやケモカインを含む炎症経路、老化やCRの過程で顕著に変化する代謝経路の重要性が強調されている。アンチエイジングパラダイムとしてのCRは、SASP分泌などによる炎症に関連した遺伝子発現を抑制することによって、慢性炎症を緩和し、アンチエイジング効果を促進する有望な手段として提供した。同時に、代謝異常に関連する遺伝子の発現を調節することによって、老化や老化関連疾患の原因となる老化炎症を軽減していた（図２）。

老化炎症の概念は、老化に関連した複雑な分子メカニズムを理解するための枠組みを提供するとともに、老化の範疇の慢性炎症を標的とした知見を提供している。このことは、老化プロセスに介入する鍵を握る極めて重要な標的分子を明らかにする可能性を有している。我々が明らかにした老化炎症の概念は、老化の炎症促進プロセスの進行特性の基本的な配置を定義し、次いで炎症と代謝、細胞老化間の潜在的な相互作用を明らかにした。さらに、老化と老化関連疾患の関連性、臓器の機能間の関係、老化と疾患介入の潜在的なターゲットについて、明らかにした。

以上より、老化炎症に関する研究は、そのメカニズムと抗老化戦略の新しいアプローチを特定するための態勢が整っており、今後の研究に期待したい。

引用文献

1. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging - An evolutionary perspective on immunosenescence. Ann N Y Acad Sci. 2000；908：244-54.
2. Chung HY, Kim HJ, Shim KH, Kim KW. Dietary modulation of prostanoid synthesis in the aging process： role of cyclooxygenase-2. Mech Ageing Dev. 1999；111(2-3)：97-106.
3. Chung HY, Kim DH, Lee EK, Chung KW, Chung S, Lee B, et al. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases：Proposal of the Senoinflammation Concept. Aging Dis. 2019；10(2)：367-82.
4. Chung HY, Kim DY, Jung HJ, Bang E, Ha S, Noh SG, et al. Senoinflammation as the Underlying Molecular Mechanism of Aging. Geriatr Rehabil. 2021；11(1)：1-17.
5. Lerner AG, Upton JP, Praveen PVK, Ghosh R,

Nakagawa Y, Igbaria A, et al. IRE1 alpha Induces Thioredoxin-Interacting Protein to Activate the NLRP3 Inflammasome and Promote Programmed Cell Death under Irremediable ER Stress. Cell Metab. 2012 ; 16 (2) : 250-64.
6. Arnardottir HH, Dalli J, Colas RA, Shinohara M, Serhan CN. Aging Delays Resolution of Acute Inflammation in Mice : Reprogramming the Host Response with Novel Nano-Proresolving Medicines. J Immunol. 2014 ; 193 (8) : 4235-44.
7. Yu BP. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. Free Radical Bio Med. 1996 ; 21 (5) : 651-68.
8. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. Emerging role of NF-kappaB signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP). Cell Signal. 2012 ; 24 (4) : 835-45.
9. Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence : causes and consequences. Trends Mol Med. 2010 ; 16 (5) : 238-46.
10. Zou Y, Jung KJ, Kim JW, Yu BP, Chung HY. Alteration of soluble adhesion molecules during aging and their modulation by calorie restriction. Faseb J. 2004 ; 18 (2) : 320-2.
11. Haigis MC, Yankner BA. The Aging Stress Response. Mol Cell. 2010 ; 40 (2) : 333-44.
12. Chung HY, Lee EK, Choi YJ, Kim JM, Kim DH, Zou Y, et al. Molecular Inflammation as an Underlying Mechanism of the Aging Process and Age-related Diseases. J Dent Res. 2011 ; 90 (7) : 830-40.
13. Ponnappan S, Ponnappan U. Aging and Immune Function : Molecular Mechanisms to Interventions. Antioxid Redox Sign. 2011 ; 14 (8) : 1551-85.
14. Solana R, Pawelec G, Tarazona R. Aging and innate immunity. Immunity. 2006 ; 24 (5) : 491-4.
15. Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, et al. Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases. J Am Med Dir Assoc. 2013 ; 14 (12) : 877-82.
16. Chung KW, Lee EK, Lee MK, Oh GT, Yu BP, Chung HY. Impairment of PPARalpha and the Fatty Acid Oxidation Pathway Aggravates Renal Fibrosis during Aging. J Am Soc Nephrol. 2018 ; 29 (4) : 1223-37.
17. McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TCG, Carey HV, Domazet-Loso T, Douglas AE, et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. P Natl Acad Sci USA. 2013 ; 110 (9) : 3229-36.
18. Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V. Skin whitening agents : medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. J Enzym Inhib Med Ch. 2017 ; 32 (1) : 403-25.
19. Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPARalpha action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2015 ; 62 (3) : 720-33.
20. Son YH, Jang EJ, Kim YW, Lee JH. Sulforaphane prevents dexamethasone-induced muscle atrophy via regulation of the Akt/Foxo1 axis in C2C12 myotubes. Biomed Pharmacother. 2017 ; 95 : 1486-92.
21. Skurk C, Izumiya Y, Maatz H, Razeghi P, Shiojima I, Sandri M, et al. The FOXO3a transcription factor regulates cardiac myocyte size downstream of AKT signaling. J Biol Chem. 2005 ; 280 (21) : 20814-23.
22. Byun HO, Lee YK, Kim JM, Yoon G. From cell senescence to age-related diseases : differential mechanisms of action of senescence-associated secretory phenotypes. Bmb Rep. 2015 ; 48 (10) : 549-58.
23. Groppo R, Richter JD. CPEB Control of NF-kappa B Nuclear Localization and Interleukin-6 Production Mediates Cellular Senescence. Mol Cell Biol. 2011 ; 31 (13) : 2707-14.
24. Han XB, Boisvert WA. Interleukin-10 protects against atherosclerosis by modulating multiple atherogenic macrophage function. Thromb Haemostasis. 2015 ; 113 (3) : 505-12.
25. Matsumura T, Zerrudo Z, Hayflick L. Senescent Human-Diploid Cells in Culture - Survival, DNA-Synthesis and Morphology. J Gerontol. 1979 ; 34 (3) : 328-34.
26. Krishnan KJ, Greaves LC, Reeve AK, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations and aging. Biogerontology : Mechanisms and Interventions. 2007 ; 1100 : 227-40.
27. Murakoshi M, Osamura Y, Watanabe K. Mitochondrial alterations in aged rat adrenal cortical cells. Tokai J Exp Clin Med. 1985 ; 10 (5) : 531-6.
28. Yoon YS, Yoon DS, Lim IK, Yoon SH, Chung HY, Rojo M, et al. Formation of elongated giant mitochondria in DFO-induced cellular senescence : Involvement of enhanced fusion process through modulation of Fis1. J Cell Physiol. 2006 ; 209 (2) : 468-80.
29. Kwon SM, Hong SM, Lee YK, Min S, Yoon G. Metabolic features and regulation in cell senescence. Bmb Rep. 2019 ; 52 (1) : 5-12.
30. Ballinger SW. Beyond retrograde and anterograde signalling : mitochondrial-nuclear interactions

as a means for evolutionary adaptation and contemporary disease susceptibility. Biochem Soc T. 2013 ; 41 : 111-7.
31. Lee HC, Wei YH. Mitochondrial alterations, cellular response to oxidative stress and defective degradation of proteins in aging. Biogerontology. 2001 ; 2 (4) : 231-44.
32. Shiloh Y. ATM and related protein kinases : Safeguarding genome integrity. Nat Rev Cancer. 2003 ; 3 (3) : 155-68.
33. Gertz HJ, Cervosnavarro J, Frydl V, Schultz F. Glycogen Accumulation of the Aging Human-Brain. Mech Ageing Dev. 1985 ; 31 (1) : 25-35.
34. Kim YM, Song I, Seo YH, Yoon G. Glycogen Synthase Kinase 3 Inactivation Induces Cell Senescence through Sterol Regulatory Element Binding Protein 1-Mediated Lipogenesis in Chang Cells. Endocrinol Metab (Seoul). 2013 ; 28 (4) : 297-308.
35. Serrano M. Dissecting the role of mTOR complexes in cellular senescence. Cell Cycle. 2012 ; 11 (12) : 2231-2.
36. Kim DH, Bang E, Arulkumar R, Ha S, Chung KW, Park MH, et al. Senoinflammation : A major mediator underlying age-related metabolic dysregulation. Exp Gerontol. 2020 ; 134.
37. Kim DH, Bang E, Ha S, Jung HJ, Choi YJ, Yu BP, Chung HY. Organ-differential Roles of Akt/FoxOs Axis as a Key Metabolic Modulator during Aging. Aging Dis. 2021 ; 12 (7) : 1713-28.
38. Ge YC, Zhou M, Chen C, Wu XJ, Wang XB. Role of AMPK mediated pathways in autophagy and aging. Biochimie. 2022 ; 195 : 100-13.
39. Anisimov VN, Bartke A. The key role of growth hormone-insulin-IGF-1 signaling in aging and cancer. Crit Rev Oncol Hemat. 2013 ; 87 (3) : 201-23.
40. Weichhart T. mTOR as Regulator of Lifespan, Aging, and Cellular Senescence : A Mini-Review. Gerontology. 2018 ; 64 (2) : 127-34.
41. Ji ZJ, Liu GH, Qu J. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging. J Genet Genomics. 2022 ; 49 (4) : 287-98.
42. Daily JW, Park S. Sarcopenia Is a Cause and Consequence of Metabolic Dysregulation in Aging Humans : Effects of Gut Dysbiosis, Glucose Dysregulation, Diet and Lifestyle. Cells-Basel. 2022 ; 11 (3).
43. Li Y, Adeniji NT, Fan WG, Kunimoto K, Torok NJ. Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fibrosis during Aging. Aging Dis. 2022 ; 13 (4) : 1239-51.
44. Martyniak K, Masternak MM. Changes in adipose tissue cellular composition during obesity and aging as a cause of metabolic dysregulation. Exp Gerontol. 2017 ; 94 : 59-63.
45. Redman LM, Ravussin E. Caloric Restriction in Humans : Impact on Physiological, Psychological, and Behavioral Outcomes. Antioxid Redox Sign. 2011 ; 14 (2) : 275-87.
46. Gonzalez OA, Tobia C, Ebersole JL, Novak MJ. Caloric restriction and chronic inflammatory diseases. Oral Dis. 2012 ; 18 (1) : 16-31.
47. Campisi J, di Fagagna FD. Cellular senescence : when bad things happen to good cells. Nat Rev Mol Cell Bio. 2007 ; 8 (9) : 729-40.
48. Dimri GP, Lee XH, Basile G, Acosta M, Scott C, Roskelley C, et al. A Biomarker That Identifies Senescent Human-Cells in Culture and in Aging Skin in-Vivo. P Natl Acad Sci USA. 1995 ; 92 (20) : 9363-7.
49. Kurz DJ, Decary S, Hong Y, Erusalimsky JD. Senescence-associated beta-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. J Cell Sci. 2000 ; 113 (20) : 3613-22.
50. Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, et al. Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. Aging Cell. 2006 ; 5 (2) : 187-95.
51. Borodkina AV, Deryabin PI, Giukova AA, Nikolsky NN. "Social Life" of Senescent Cells : What Is SASP and Why Study It? Acta Naturae. 2018 ; 10 (1) : 4-14.
52. Justice J, Leng I, LeBrasseur N, Mitin N, Kritchevsky S, Nicklas B, Ding JZ. Circulating Biomarkers of Cell Senescence in a Randomized Trial of Caloric Restriction Weight Loss. Innov Aging. 2022 ; 6 (Suppl 1) : 98.
53. Yan XX, Imano N, Tamaki K, Sano M, Shinmura K. The effect of caloric restriction on the increase in senescence-associated T cells and metabolic disorders in aged mice. Plos One. 2021 ; 16 (6) : e0252547.
54. Krishnamurthty J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K, Su LS, Sharpless NE. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. J Clin Invest. 2004 ; 114 (9) : 1299-307.
55. Fontana L, Mitchell SE, Wang BS, Tosti V, van Vliet T, Veronese N, et al. The effects of graded caloric restriction : XII. Comparison of mouse to human impact on cellular senescence in the colon. Aging Cell. 2018 ; 17 (3) : e12746.
56. Wang CF, Maddick M, Miwa S, Jurk D, Czapiewski R, Saretzki G, et al. Adult-onset, short-term dietary restriction reduces cell senescence in mice. Aging-

Us. 2010 ; 2 (9) : 555–66.
57. Ogrodnik M, Miwa S, Tchkonia T, Tiniakos D, Wilson CL, Lahat A, et al. Cellular senescence drives age-dependent hepatic steatosis. Nat Commun. 2017 ; 8 : 15691.
58. Jurk D, Wang CF, Miwa S, Maddick M, Korolchuk V, Tsolou A, et al. Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response. Aging Cell. 2012 ; 11 (6) : 996–1004.
59. Fontana L, Nehme J, Demaria M. Caloric restriction and cellular senescence. Mech Ageing Dev. 2018 ; 176 : 19–23.
60. Yang L, Licastro D, Cava E, Veronese N, Spelta F, Rizza W, et al. Long-Term Calorie Restriction Enhances Cellular Quality-Control Processes in Human Skeletal Muscle. Cell Rep. 2016 ; 14 (3) : 422–8.
61. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion : Molecular mechanisms and biological functions of autophagy. Dev Cell. 2004 ; 6 (4) : 463–77.
62. Ito S, Araya J, Kurita Y, Kobayashi K, Takasaka N, Yoshida M, et al. PARK2-mediated mitophagy is involved in regulation of HBEC senescence in COPD pathogenesis. Autophagy. 2015 ; 11 (3) : 547–59.
63. Lee JE, Heo JI, Park SH, Kim JH, Kho YJ, Kang HJ, et al. Calorie restriction (CR) reduces age-dependent decline of non-homologous end joining (NHEJ) activity in rat tissues. Exp Gerontol. 2011 ; 46 (11) : 891–6.
64. Guo ZM, Heydari A, Richardson A. Nucleotide excision repair of actively transcribed versus nontranscribed DNA in rat hepatocytes : Effect of age and dietary restriction. Exp Cell Res. 1998 ; 245 (1) : 228–38.
65. Linn S, Kairis M, Holliday R. Decreased Fidelity of DNA-Polymerase Activity Isolated from Aging Human Fibroblasts. P Natl Acad Sci USA. 1976 ; 73 (8) : 2818–22.
66. Cabelof DC, Yanamadala S, Raffoul JJ, Guo ZM, Soofi A, Heydari AR. Caloric restriction promotes genomic stability by induction of base excision, repair and reversal of its age-related decline. DNA Repair. 2003 ; 2 (3) : 295–307.
67. Shimokawa I, Higami Y, Tsuchiya T, Otani H, Komatsu T, Chiba T, Yamaza H. Life span extension by reduction of the growth hormone-insulin-like growth factor-1 axis : relation to caloric restriction. Faseb J. 2003 ; 17 (9) : 1108–9.
68. Fontana L, Villareal DT, Das SK, Smith SR, Meydani SN, Pittas AG, et al. Effects of 2-year calorie restriction on circulating levels of IGF-1, IGF-binding proteins and cortisol in nonobese men and women : a randomized clinical trial. Aging Cell. 2016 ; 15 (1) : 22–7.
69. Tsutsumi A, Motoshima H, Kondo T, Kawasaki S, Matsumura T, Hanatani S, et al. Caloric restriction decreases ER stress in liver and adipose tissue in ob/ob mice. Biochem Bioph Res Co. 2011 ; 404 (1) : 339–44.
70. Escriva F, Gavete ML, Fermin Y, Perez C, Gallardo N, Alvarez C, et al. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats : role of adiposity. J Endocrinol. 2007 ; 194 (1) : 131–41.
71. Bang E, Lee B, Noh SG, Kim DH, Jung HJ, Ha S, et al. Modulation of senoinflammation by calorie restriction based on biochemical and Omics big data analysis. Bmb Rep. 2019 ; 52 (1) : 56–63.
72. Zheng YB, Zhang WS, Pendleton E, Leng SH, Wu J, Chen RD, Sun XJ. Improved insulin sensitivity by calorie restriction is associated with reduction of ERK and p70 (S6K) activities in the liver of obese Zucker rats. J Endocrinol. 2009 ; 203 (3) : 337–47.
73. Park MH, Park JY, Lee HJ, Kim DH, Park D, Jeong HO, et al. Potent Anti-Diabetic Effects of MHY908, a Newly Synthesized PPAR alpha/gamma Dual Agonist in db/db Mice. Plos One. 2013 ; 8 (11) : e78815.
74. Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D, et al. The ketone metabolite beta-hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. Nat Med. 2015 ; 21 (3) : 263–9.
75. Fann DYW, Santro T, Manzanero S, Widiapradja A, Cheng YL, Lee SY, et al. Intermittent fasting attenuates inflammasome activity in ischemic stroke. Exp Neurol. 2014 ; 257 : 114–9.
76. Traba J, Kwarteng-Siaw M, Okoll TC, Li J, Huffstutler RD, Bray A, et al. Fasting and refeeding differentially regulate NLRP3 inflammasome activation in human subjects. J Clin Invest. 2015 ; 125 (12) : 4592–600.
77. Chung KW, Kim DH, Park MH, Choi YJ, Kim ND, Lee J, et al. Recent advances in calorie restriction research on aging. Exp Gerontol. 2013 ; 48 (10) : 1049–53.
78. Kim HJ, Jung KJ, Yu BP, Cho CG, Choi JS, Chung HY. Modulation of redox-sensitive transcription factors by calorie restriction during aging. Mech Ageing Dev. 2002 ; 123 (12) : 1589–95.
79. Sung B, Park S, Yu BP, Chung HY. Modulation of PPAR in aging, inflammation, and calorie

restriction. J Gerontol a-Biol. 2004 ; 59 (10) : 997-1006.
80. Delerive P, Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Induction of I kappa B alpha expression as a mechanism contributing to the anti-inflammatory activities of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators. J Biol Chem. 2000 ; 275 (47) : 36703-7.
81. Satoh A, Brace CS, Rensing N, Cliften P, Wozniak DF, Herzog ED, et al. Sirt1 Extends Life Span and Delays Aging in Mice through the Regulation of Nk2 Homeobox 1 in the DMH and LH. Cell Metab. 2013 ; 18 (3) : 416-30.
82. Nisoli E, Tonello C, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. Science. 2005 ; 310 (5746) : 314-7.
83. Frescas D, Valenti L, Accili D. Nuclear trapping of the forkhead transcription factor FoxO1 via Sirt-dependent deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. J Biol Chem. 2005 ; 280 (21) : 20589-95.
84. Hong SE, Heo HS, Kim DH, Kim MS, Kim CH, Lee J, et al. Revealing system-level correlations between aging and calorie restriction using a mouse transcriptome. Age. 2010 ; 32 (1) : 15-30.
85. Park D, Lee EK, Jang EJ, Jeong HO, Kim BC, Ha YM, et al. Identification of the dichotomous role of age-related LCK in calorie restriction revealed by integrative analysis of cDNA microarray and interactome. Age. 2013 ; 35 (4) : 1045-60.
86. Park D, Kim BC, Kim CH, Choi YJ, Jeong HO, Kim ME, et al. RNA-Seq analysis reveals new evidence for inflammation-related changes in aged kidney. Oncotarget. 2016 ; 7 (21) : 30037-48.
87. He SH, Sharpless NE. Senescence in Health and Disease. Cell. 2017 ; 169 (6) : 1000-11.
88. Kim CH, Lee EK, Choi YJ, An HJ, Jeong HO, Park D, et al. Short-term calorie restriction ameliorates genomewide, age-related alterations in DNA methylation. Aging Cell. 2016 ; 15 (6) : 1074-81.
89. Park MH, Kim DH, Lee EK, Kim ND, Im DS, Lee J, et al. Age-related inflammation and insulin resistance : a review of their intricate interdependency. Arch Pharm Res. 2014 ; 37 (12) : 1507-14.
90. Kim DH, Kim JY, Yu BP, Chung HY. The activation of NF-kappa B through Akt-induced FOXO1 phosphorylation during aging and its modulation by calorie restriction. Biogerontology. 2008 ; 9 (1) : 33-47.

Senoinflammation as the underlying mechanism of aging and its modulation by calorie restriction

Sang Gyun Noh[1], Ryuk Jun Kwon[2], Jaewon Lee[1], Jeong-Hyun Yoon[1], Takako Yokozawa[3], Byung Pal Yu[4], and Hae Young Chung[1]

[1] Department of Pharmacy and Research Institute for Drug Development, College of Pharmacy, Pusan National University, Republic of Korea

[2] Department of Family Medicine and Research Institute of Convergence of Biomedical Science and Technology, Pusan National University Yangsan Hospital, Republic of Korea

[3] Graduate School of Science and Engineering for Research, University of Toyama, Japan

[4] Department of Physiology, University of Texas Health Science Center, USA

Abstract

Senoinflammation, i.e., age-related chronic inflammation, is characterized as the unresolved low-grade inflammatory process with multi-organ and systemic responses. This review begins with a brief overview of the basic concept and the framework of intricate senoinflammation. It explores its wide involvement in various aging organs, ultimately leading to progressive senescent systemic degeneration. Senoinflammation, which underlies age-related inflammation, is causally related to metabolic dysregulation as well as the formation of the senescent-associated secretory phenotype (SASP) during aging and age-related diseases. This review presents biochemical evidence and systems molecular biology data that support the senoinflammation concept and its regulatory processes, as demonstrated by the anti-aging and anti-inflammatory effects of calorie restriction (CR). Experimental data from CR studies clearly demonstrate effective suppression of the increase in various pro-inflammatory cytokines and chemokines, lipid accumulation, and SASP during aging. In conclusion, the senoinflammation concept represents the basic mechanism that creates a microenvironment conducive to aging and age-related diseases. It also serves as a potential therapeutic target against aging and age-related diseases.

Keywords : Aging, Age-related diseases, Senoinflammation, Calorie restriction, Metabolic dysregulation, SASP

基礎老化研究 48（1）; 51－52, 2024

【著書紹介】

南カリフォルニア大学の広報誌“USC Health”の表紙（2001年４月）と
『老いをみつめる脳科学』（MEDSi）（2023年12月）の表紙

『老いをみつめる脳科学』
森　望（著）（メディカル・サイエンス・インターナショナル，MEDSi）（2023）の紹介

森　望
福岡国際医療福祉大学・医療学部・教授／長崎大学・名誉教授

「老化脳」の研究を始めたのは、ロサンゼルスのダウンタウンの南、1984年のオリンピックの主会場となったエクスポジションパーク横の南カリフォルニア大学（USC）だった。そこは米国で最初に老年学分野の研究の重要性を指摘し、大学院を整備し、全米で最初に「老年学」の学位を出したところでもあった。世紀の変わり目の頃、その大学の広報誌に面白い絵が載った。特集のテーマは「老化脳」。老人があごに手をあてて考え込んでいる。老いる脳の中でいったい何がおこっているのか？老化脳で老化脳を考える。アンドラス老年学研究所の神経老年学の研究部門、３階のフロアの小さな研究室から始めた科学の謎解きと、そこへの思いを、最近、**『老いをみつめる脳科学』（MEDSi）（2023）**として取りまとめた。ロサンゼルスから京阪奈、大府、長崎、そして福岡と、それぞれの土地で研究室を動かしながら、ある意味では流浪の研究者人生だった。そんな中で、いつもこの絵のように自身の脳で脳の中身の老いを考える。考えてきたのはその脳なのだが、それもまた老いてしまった。いまは「老化脳」で「老化脳」を考えている。

昨年の春には、これまでの老化研究の合間に健康や老いのあり方について思うところを書き綴ったものを取りまとめて、**『老いと寿のはざまで：人生百年の健やかを考えるヒント』（日本橋出版）（2023）**として上梓した[1]。これはもともと、大阪の石切劔箭（いしきりつるぎや）神社の広報誌に書き綴ったエッセイを集約したものだが、全国の高齢者への応援歌のつもりで書いた。しばらく前に、私は、旧来の老化研究の進め方を一変させた寿命遺伝子の発見について、欧米の科学者たちの奮闘をとりまとめた科学解説本を出した。**『寿命遺伝子：なぜ老いるのか　何が長寿を導くのか』（講談社ブルーバックス）（2021）**だが、それはどちらかというと、現場の若手研究者、あるいは理系志向の中高生を意識して書いた[2]。一般向けとしては少し難しいと思われたかもしれないが、志のある基礎老化の若手研究者たちがこの領域の先達の苦闘の一部でも理解する手助けになればと思っている。

さて、本書、**『老いをみつめる脳科学』（MEDSi）（2023）**は、私の「老化シリーズ本」としては３冊目だが、これは半ば私自身のささやかな研究史である。しかし、自分のことだけでなく、周辺のことも含めて、この半世紀ほどの老化研究が、特に脳神経系の老化研究がどのように考えられ、展開されたかも含めて記述した。それは多くのすぐれた科学者との競争と交流と連携の中で進められた。科学研究の現場（論文）では「結果」の記述に終始する。何がわかったのか、何を得たのか。常に、結果勝負。それがすべてである[3]。しかし、それだけでは無味乾燥な冷たい科学にしかならない。この本では科学者の交

連絡先：森　望
〒814-0001　福岡市早良区百道浜 3-6-40
TEL：092-832-1200
E-mail：morinosm@takagigakuen.ac.jp

流の中で、啓発や競争や、ときにすぐれた洞察に圧倒されたり、思いがけない偶然やセレンディピティーに揺れたりもした。その経験を含めて書いた。科学論文には見えない、人との出会いや交流の温かさ、実験研究の現場の驚きや面白さをここから感じていただけたらと思う。

私たちの身体はさまざまな組織器官で構成されているが、システムとしての身体全体の老いを統括しているのは「脳」である。脳は中枢で自己を意識し、まわりの世界を見ている。脳はまた末梢神経を通じて、身体状況を把握し、自己管理の制御塔でもある。だから、個体老化を考える上で「脳の老化」を理解することはとても重要だ。本書では、まず脳全体の構造を俯瞰し、ついで脳機能の中心となる神経細胞、ニューロンの特殊性を解説している。そこには通常の「細胞老化」では説明できない非分裂細胞の老いがある。そんな非分裂のニューロンを守る守護神としてもっとも大切なもののひとつが神経成長因子、神経栄養因子（NGF, BDNF）だった。私がカリフォルニアで神経科学を始めた頃、NGF の発見をベースに 1986 年のノーベル賞に輝いたイタリアの女史、リタ・レーヴィ－モンタルチーニのニュースは衝撃的だった。彼女はもう十年ほど前に 103 歳という超高齢で亡くなったが、その偉業に啓発されながら、私はその NGF のまわりで働く、いわば「NGF の兵隊」のような分子を延々と研究してきた。リタは老化の分野の研究者ではなかったが、彼女の発見は老化脳を考える上で中核にあった。もし彼女が平凡な老化研究者だったら、20 世紀後半に老化の「神経養生説」を喧伝していただろうと思う。私は、そのみえない「神経養生説」のまわりで、NGF によって誘導される神経特異的な遺伝子 SCG10 をとり、その神経特異的な遺伝子発現を決定づける神経選択的サイレンサー NRSE を発見した。そして、そこに結合して機能する転写因子 NRSF（REST）の機能性を探り、いかにして転写抑制、つまり神経特異的遺伝子が発現しないようにするのか、その核心をつかんだ。すなわち、NRSF（REST）は非神経細胞でクロマチン変換の補因子（HDAC）をよびこんで遺伝子をとりまとめているクロマチンの構造を大きく変えることを見出した。さらに、NGF の刺激が入ったあと、NGF の受容体が活性化したあとの細胞内シグナル伝達で重要な働きをする、これまた神経細胞特異的な N-Shc（神経特異的シック）を見出した。そんな頃、シック遺伝子の亜型（p66-Shc）がマウスで寿命遺伝子として機能するという、イタリア、ミラノにいた癌研究の大御所ピエール・ジョゼッペ・ペリッチたちからのニュースに、当時、名古屋郊外の国立長寿医療研究センターにいた私たちは度肝を抜かれた。私たちの神経特異的なシックには寿命を左右する働きはないようだったが、海馬の神経可塑性を操ることで認知能に影響する。このように NGF の下ではたらく、いわば「NGF の兵隊」のような神経特異的分子を中心に、脳内ニューロンの一生を辿りながら、その間におきる老廃物処理や神経骨格の変性や可塑性という機能性の変動などのメカニズムを追究してきた。あえて一言でいえば、「神経特異性」にかかわる三分子（転写因子、シグナルアダプター、神経骨格制御分子）の研究を進めながら、時に意外なところから、それらが「脳の老化」や「寿命制御」に決定的な働きをすることを見てきた。そんな研究を延々と続けながら考えてきたことを本書で縦横に展開した。

元気な脳を一生保つ。人間ならば、それが八十年、百年になる。本書の最後には、百寿者の脳のひみつを探ろう、脳からアンチエイジングを考えてみよう、それこそが抗加齢の王道だ、というようなことも書いた。何がポイントかと問えば、その答えは一言でいうなら「可塑性」だろう。健やかな脳を保つ、その秘訣は「可塑性」を維持する、鼓舞する、そのためには使い続けることだ。老化研究者たるもの、たとえ定年を迎え、研究室を失っても、自らの「老化脳」は使い続ける。それが一番の抗老化戦略だ。インパクトファクターは気にせず、何かしら形にしておく。そうしておけば、後進の誰かがいつかそれを踏み越えて、また次の時代を切り開いてくれるだろう。２千年を超える人類文化史の中で老いと健康の科学は常に人々の関心事だった。そして、それぞれの時代ごとの多くの科学者たちのバトンリレーで今日の姿になってきた[4]。その源流にはヒポクラテスやガレノス、あるいは貝原益軒がいる。先日、益軒の墓に参った[5]。養生を積んで彼の歳まで生きながらえるとすれば、あと十年ばかりはまだ書ける。そう思うと少し気が楽になった。

1. 森望：著書紹介『老いと寿のはざまで：人生百年の健やかを考えるヒント　森望著』（2023）の紹介、基礎老化研究　47(3) 57-58 (2023)
2. 石神昭人：書評『BLUE BACKS「寿命遺伝子」なぜ老いるのか　何が長寿を導くのか 森望著』、基礎老化研究　45(3), 51 (2021)
3. 森望：著書紹介　老化研究最前線“Aging Mechanisms：Longevity, Metabolism, and Brain Aging”(2015) & “Aging Mechanisms II：Longevity, Metabolism, and Brain Aging”(2022) の紹介、基礎老化研究 46 (3), 53-54 (2022)
4. 森望：著書紹介　老いの蘭学『老いと健康の文化史：西洋式養生訓のあゆみ』リナ・ノエフ（編著）／森望（訳）（原書房）(2021) の紹介、基礎老化研究 47(1), 45-46 (2023)
5. 森望：老いの科学・長寿への道（３）東と西の養生訓、公益財団法人 長寿科学振興財団 健康長寿ネット・エッセイ（https://www.tyojyu.or.jp/net/essay/index.html）

複写される方へ

本誌に掲載された著作物を複写されたい方は、日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、著作権者から複写権等の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。
尚、著作物の転載・翻訳のような複写以外許諾は、直接本会へご連絡ください。

107-0052　東京都港区赤坂 9-6-41　乃木坂ビル 9F　学術著作権協会
TEL：03-3475-5618；FAX：03-3475-5619；E-mail：itaku@jaacc.jp

Notice about photocopying（In the USA）
In order to photocopying any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copyright owner of this publication.

Copyright Clearance Center. Inc.
222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA
TEL：978-750-8400；FAX：978-750-4744；URL：https://www.copyright.com

基礎老化研究　第48巻　第１号

令和６年（2024）２月２日

発 行 者　日本基礎老化学会
〒100-0003　東京都千代田区一ツ橋 1-1-1
パレスサイドビル９F
（株）毎日学術フォーラム内（委託）
日本基礎老化学会事務局
TEL：03-6267-4550　FAX：03-6267-4555
E-mail：secretariat@jsbmg.jp

編　　集　編集委員会

印 刷 所　コロニー印刷

日本基礎老化学会

Japan Society for Biomedical Gerontology