

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15412

研究課題名(和文)メタボローム分析による高齢者寝たきり予防の基盤となる新規老化関連メタボライト探索

研究課題名(英文) Investigation for metabolic features in divergency of ageing

研究代表者

近藤 祥司 (Kondoh, Hiroshi)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80402890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：血液・赤血球メタボローム解析を用いて、30名の健常者の解析を行い、126個のメタボライトに関し、その個人差バラつきをCV値で検定した。メタボライトには、個人差の少ないものと大きなものの2群に大きく分かれることが判明した。前者には生育に必須なものが数多く含まれていた。最後にヒト若年(15名、平均20歳代)・高齢群(15名、平均80歳代)の血液メタボローム比較し、14個の老化マーカー同定した。11個は、新規報告であった。高齢者特有のメタボライトは、年齢以外に、食生活、生活様式、健康状態、環境要因などを反映すると推測される(ハレキツ他 PNAS 2016, 近藤, 柳田PNAS 2016)。

研究成果の概要(英文)：Human aging is a highly complex biological process exhibiting great individual variation. While distinguishing young and elderly people visually is easy and intuitive, it is still not possible to distinguish human blood samples from young and elderly donors. Nonetheless, chemical biology holds great promise for identifying age-related metabolites, quantitatively and qualitatively. Our deliberate exclusion of middle-aged donors from the study gave us a clearer age-difference between young (average; 29yr) and elderly (average; 81yr). The combination of comprehensive CV (coefficient of variation) analysis and RBC (red blood cell) metabolomics enabled us to identify 51 previously unreported metabolite CVs. Ultimately, we presented evidence that a small number of blood samples (N=30) clearly indicated 14 possible age-related metabolites. Six of these 14 candidates are RBC-enriched, suggesting that RBC metabolomics is highly valuable.

研究分野：老化生物学

キーワード：老化

1. 研究開始当初の背景

メタボロームとは、細胞が生きている間に合成・代謝する非常に小さなメタボライト(代謝物)成分(低分子)を、マスペクトロメトリー応用する事により網羅的に計測する最先端技術である。最新の研究では、メタボロームにより新規腫瘍マーカー等の発見(Nature2009)が報告され、非常に将来性有望な先端技術である。一方、老化先進国日本では、寝たきり増加が危惧されており、寝たきりの一歩手前の新概念「フレイル(虚弱)」(一般に言うヨボヨボ)も最近提唱され、その要件5項目(体重減少、易疲労、筋力低下、歩行スピード低下、身体活動性低下の内の3つ以上を満たすこと)が規定された(2014年日本老年学会)。現時点でのフレイル予防法として、十分な蛋白摂取、定期的運動、身体活動や認知機能の定期チェック、感染予防、術後リハビリ、内服整理などが提案されているが、新分野であるため明確なエビデンスはない。今後、フレイル・寝たきり予防への新しいアプローチとして、高齢者や老化を規定する新規マーカーや代謝産物の同定が、重要な課題となる。

研究代表近藤は、基礎老化研究に10年以上従事し、と同時に臨床医として、「寝たきり予防」を目的とし、国立病院日本初のアンチエイジング外来を京大病院に設立した(06年)。このような経過の中で基礎老化研究や最先端代謝研究のノウハウ・知見を、健康長寿・フレイル予防に応用することを目的として、本計画を着想した。このメタボロームを利用すれば、既知健康低分子のヒト血中吸収効率や、その代謝影響を高感度検出可能であり、その成果は低分子物質の健康効果の学術的基盤として還元されうることを、我々は既に報告し、準備は整った(村上他、PLOS ONE 2014、Chaleckis 他 Mol Biosyst.2014)。

2. 研究の目的

高齢社会における健康長寿達成・フレイル(虚弱)予防や診断の重要性に鑑み、基礎老化・代謝研究の成果を臨床応用することを究極の目的として、最新のメタボローム技術を駆使して、従来評価の難しかった低分子代謝物質の科学的探索を行う。

本計画では、最先端技術メタボローム解析を駆使し、今まで謎の多かった低分子メタボライトに焦点を絞り、高齢者 VS 若年のサンプル比較解析や、フレイルに影響するであろう飢餓適応時の新規関連代謝物質の同定を目指し、将来の寝たきり予防・診断臨床応用の基盤データとする。

3. 研究の方法

具体的にはメタボローム技術を用いて、ヒト血中新規老化代謝低分子マーカーの探索、飢餓条件適応による新規関連代謝物質の同定を目指した。ヒト血液メタボロームにおいて、我々は独自に赤血球メタボローム解析の手法を確立しており、それを活用した。

健康若年者と寝たきりでない健康高齢者群のメタボローム比較を検討した(京大医学部倫理委員会承認済み)。2群は30歳以下と70歳以上、平均約80歳という明確な年齢差を示す。同時に全被験者の詳細な健康ファイル、一般採血、生活シートなども記録した。これら血液サンプルを速やかにメタボローム解析した。未知の低分子にぶつかった場合は、MS-MSという手法を用いて、低分子内の分子構造をある程度予想可能であり、さらに、その低分子から予想される代謝経路を綿密に解析することが可能となる。高齢者・若年群のサンプル数を十分獲得し、メタボローム解析データを蓄積し、全被験者の詳細な健康ファイル、一般採血、生活シートも合わせて、これら多因子を統計学的解析した。これら代謝産物あるいはその代謝経路が、どのような加齢性変化と関連するか検討し、新規代謝マーカーとして確立目指した。

さらに介入によるメタボローム研究として、ヒトにおける飢餓適応をテーマにした。飢餓条件による健康長寿効果に関しては、いまだに大きく議論が分かれる。基礎老化研究の世界では、80%のカロリー制限により、マウス以下の多くの生物種で寿命が20%以上延長するという健康効果が確認されているが、実はマウスまでしか証明されておらず、ヒトやサルでの是非は結論が出ていない(Dirks 他、Mech Ageing Dev 2006)。勿論、肥満や糖尿病という状況では、ヒトでもカロリー制限が健康効果を発揮すると期待できるが、通常健康人におけるメリットはほとんど謎である。逆にヒト高齢者においては小太りなほうが長生きできるという疫学調査もある(Nagai 他、J Epidem 2010)。これに関しては、やはり高齢者においてはフレイル(虚弱)が深刻な問題となるので、過度なカロリー制限は健康を害する可能性が高い。また、ヒトで長期に80%カロリー制限研究をすることは非現実的で不可能に近い。

よって、我々は代謝調節による健康効果の仕組みの一端を解き明かす糸口として、ヒト短期間絶食後のメタボローム解析を立案した(京大病院倫理委員会承認済み)。高齢者ではある程度リスクを伴うため除外し、原則30歳以下の健康な若者を対象とした。注意深い観察のもと、短期間絶食期間中の採血サンプリングし、メタボローム解析を行い、絶食により誘導されるメタボライト同定を目指した。

4. 研究成果

我々の血液・赤血球メタボローム解析を用いて、健常者の解析を行った。血液サンプルで、126個のメタボライトに関し、その個人差バラつきをCV値で検定した。まず、4名の健常ボランティアで、24時間以内の日内変動を観察した。被験者には、通常生活通り、3度の食事も摂取してもらった。意外なことに、126個のメタボライトの多くは、24時間以内の変動は非常に少なく、7個のメタボライトが24時間以内のCV値で高値を示し、それらは、食物由来のメタボライトであった。

次に、30名の健康な参加者の朝絶食時のメタボローム解析を行った。その結果、メタボライトには、個人差の少ないものと大きなものの2群に大きく分かれることが判明した。前者には生育に必須なメタボライトが数多く含まれていた。最後にヒト若年(15名、平均20歳代)・高齢群(15名、平均80歳代)の血液メタボローム比較し、14個の老化マーカーの同定に成功した。そのうち、3個は既報があり、残りの11個は、我々による新規報告であった。14個のうち、6個は赤血球に豊富なメタボライトであり、我々のアプローチの重要性が再確認できた。

興味深いことに、これら14個の老化関連メタボライトは、相関係数解析により、大きく二つのグループに分かれることが見いだされた。このような高齢者特有のメタボライトは、年齢以外に、食生活、生活様式、健康状態、環境要因などを反映すると推測される(ハレキツ他 PNAS 2016, 近藤, 柳田 PNAS 2016)。これらの成果は、代謝の観点からの独創的な老化研究として国内外で大きく評価され(14か国のマスコミで報道)、いくつかの招待講演でも発表した。

さらにこの技術を用いて、寿命に関与する健康効果として、長時間飢餓実験を試みた。京大病院倫理委員会の承認のもと、4名の若年者の58時間飢餓を行い、その経過中の採血を施行し、メタボライトの変化を観察した。126のメタボライトの網羅的解析を行い、44個のメタボライトの上昇を見出した。このうち32個が未発表であった。以上より、長期飢餓時には意外にも、より代謝活性化するメタボライトが存在することが判明した。現在さらに解析中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

- 1) Lorente J, Velandia C, Leal JA, Garcia-Mayea Y, Lyakhovich A, Kondoh H, LLeonart ME. The interplay between

autophagy and tumorigenesis: exploiting autophagy as a means of anticancer therapy. Biol Rev Camb Philos Soc. 2018 93, 1, P152-165 doi: 10.1111/brv.12337.

- 2) 照屋貴之、柳田充弘、近藤祥司 「血液メタボロミクスによる老化マーカー同定」基礎老化研究 2017 41(1) p11-8
- 3) Hiroshi Kondoh, and Mitsuhiro Yanagida. Reply to Makinen VP et al: Small scale but accurate metabolomics with high-reproducibility for identifying age-related blood metabolites PNAS 2016 Jun 21;113(25):E3471-2. doi: 10.1073/pnas.1607149113.
- 4) Romanas Chaleckis, Itsuo Murakami, Junko Takada, Hiroshi Kondoh, and Mitsuhiro Yanagida Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences PNAS 2016 113(16): 4252-9. doi: 10.1073/pnas.1603023113.
- 5) 近藤祥司、小倉雅仁、稲垣暢也 「超高齢者のための運動療法」女性医療のすべて 編集太田博明メディカルレビュー社 2016 年全 289 ページ p206-261
- 6) 近藤祥司、三河拓己、稲垣暢也 「細胞老化概論 2～慢性炎症と SASP を中心に」季刊誌『The Lung perspectives』2016 24;3 p84-87
- 7) 近藤祥司、三河拓己、稲垣暢也 「老化制御・抗加齢医学の現況と展望」 The overview for regulation of aging and the future perspective of anti-aging medicine 『日本臨床』「老化研究と疾患 エイジング研究の進歩」 2016 74;9 p1429-34
- 8) 近藤祥司、三河拓己、稲垣暢也 「細胞老化概論 1～テロメア依存性/非依存性からみた細胞老化」季刊誌『The Lung perspectives』2016 24;2 p87-90
- 9) 三河拓己、稲垣暢也、近藤祥司「解糖系酵素 PGAM と老化シグナル」「生化学」特集タイトル:代謝変化とエピジェネティクス制御 2016 年 88-3 号 p296-301

[学会発表](計19件)

- 1) 老化に伴う多角的治療戦略～老化と代謝研究の視点から見えてきたもの～第7回広島腎疾患研究会 広島 2018 年 2 月 8 日
- 2) 解糖系代謝新規制御機構の解明 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会 大津 2018 年 1 月 25 日
- 3) Novel regulation for glycolysis 日本癌学会 横浜 2017 年 9 月 28 日
- 4) 細胞・個体老化における解糖系代謝とメタボライト がん代謝研究会 札幌

- 2017年7月14日
- 5) ヒト血液メタボライトの多様性と新規老化マーカー同定 日本老年学会 名古屋 2017年6月16日
 - 6) 血液メタボロームの老化マーカー解析 抗加齢医学会東京 2017年6月2日
 - 7) がんと代謝研究の最前線 抗加齢医学会東京 2017年6月2日
 - 8) 老化疾患と骨粗鬆症 老化と代謝セミナー2017 京都 2017年4月7日
 - 9) 老化の多様性とその代謝特性の研究 ~ Glycolysis in senescence & metabolites in ageing. 高知大学医学部生化学講座招待講演 2017年3月16日
 - 10) 老化に伴う多角的治療戦略 第60回日本心身医学会近畿地方会京都 2017年3月12日
 - 11) Metabolites in organismal ageing & Glycolysis in cellular senescence Asian Society of Aging Research 札幌 2017年3月3日
 - 12) 協調的な解糖系制御新規機構を標的とした疾病臨床応用への探求 創薬シーズ事業化コンペティション 大阪 2017年2月13日
 - 13) Metabolites in organismal ageing & Glycolysis in cellular senescence International symposium in Kumamoto 熊本大学 2017年2月11日
 - 14) ヒト血液メタボライトの多様性と新規老化マーカー発見 日本分子生物学会横浜 2016年11月30日
 - 15) Metabolites in ageing and glycolysis in senescence 日仏ワークショップ 2016 老化と疾病京都 2016年11月1日
 - 16) Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. スイス京都会議 京都 2016年10月31日
 - 17) 老化に伴う多角的治療戦略 不眠症治療を考える会 京都 2016年9月15日
 - 18) ストレス老化シグナルと解糖系代謝 第68回日本細胞生物学会 京都 2016年6月16日
 - 19) 老化の多様性を規定する代謝・液性因子 第58回日本老年医学会 金沢 2016年6月9日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.anti-aging.jpn.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

Hiroshi Kondoh

近藤祥司(京都大学医学部 地域ネットワーク医療部 准教授)

研究者番号: 80402890