

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2014～2016

課題番号：26310103

研究課題名(和文) 高齢者の多様性を規定する老化恒常性維持に必須な代謝特性解明の基盤的研究

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(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80402890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：「老化の多様性」解明のため「解糖系代謝と老化」研究と「ヒト血液メタボローム」研究を行った。前者ではPGAMモデルマウスの解析より、糖代謝パラメーターは正常であったが、協調的代謝制御効果を見出した。後者では、ヒト血液メタボロームの結果、80%以上、進化上メタボライトも保存されていることが判明した。さらに30名の健常者の解析で、126個のメタボライトに関し、その個人差バラつきを検定した。最後に、14個の老化マーカーの同定に成功した。そのうち、11個は、我々による新規報告であった。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。

研究成果の概要(英文)：Enhanced glycolysis, the Warburg effect, is well-known property of cancer, while it is not clear how it is coupled with the other hallmark of cancer, immortalization. Several recent reports established the significance of phosphoglycerate mutase PGAM both in the Warburg effect and cancerous proliferation. Moreover, the recent analysis of PGAM-TG and KO mice disclosed the impact of PGAM on the Warburg effect. Interestingly, cooperative manner are observed on the impact of PGAM in vivo and in vitro. We develop standard experimental procedures to identify and precisely quantify human age-related blood metabolites. To this end, our intent was to increase the reproducibility and accuracy of measuring blood metabolites, which are highly unstable. 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 identified 14 age-related metabolites.

研究分野：老化生物学

キーワード：老化 代謝

## 1. 研究開始当初の背景

本邦は、「老化先進国」と呼ぶべき新時代(2055年予測 40.5%、内閣府平成 23 年版高齢社会白書)に突入し、「老化」という生命事象が、社会・経済全体の構造変革を促しつつある。臨床でも基礎老化研究でも、「老化(高齢者)の多様性」が観察され、時間軸(年齢)だけを基準として「老化(高齢者)」を定義する事は、もはや現状に合わない点が問題を複雑化している(近藤祥司著「老化はなぜ進むのか」講談社ブルーバックス 09 年)。その深い理解と適切な対応(多様性を生かした医療や社会再構築)が重要だ。なぜ若年は均一で、高齢(老化)は多様化するのか? ヒントとして興味深い新概念「老化は進化のためのトレードオフ」がある。多くの生命体は外的・内的環境変化に適応し、「生理的恒常性」バランス獲得し進化してきた。しかし人類が進化上獲得した形質(2 足歩行、陸上生活、ミトコンドリアによる大量エネルギー獲得、飢餓適応によるエネルギー貯蔵等)は、加齢によりむしろ個体に負に働く事(下肢骨折による寝たきり、塩分貯留による高血圧発症、酸化ストレスダメージ蓄積、飽食の時代の肥満等)が最近判明した(井村裕夫著「進化医学」羊土社 13 年、N.レーン著「ミトコンドリアが進化を決めた」みすず書房 07 年)。もし「老化は進化のトレードオフ」なら、「老化の多様性」も進化的考察が必要となる。残念ながら、基礎老化研究の歴史の中でも、様々な老化仮説(酸化ストレス、カロリー制限等)が乱立し、「老化の多様性」に振り回されているのが現状だ(R.アーキング著「老化のバイオロジー」MEDSI 2000 年)。我々は「老化と代謝」という新しい観点で、一貫して老化研究を進めている。「代謝」の観点から「老化の多様性」を検証する重要性を感じ、本計画を立案した。

## 2. 研究の目的

「老化の多様性」を規定する代謝特性解明を目的とし、解糖系代謝モデルマウスやヒト血液メタボローム解析を行う。

## 3. 研究の方法

我々は、高齢者(老化)の多様性を規定する因子として、代謝特性に注目している。近藤が長寿遺伝子として同定した解糖系酵素 PGAM がストレス老化シグナル活性化に伴いユビキチン化されることや、脱アセチル化されることを見出し 2014 年に報告した(三河他 JCB2014、津坂他 GtC2014)。これらは主に培養細胞での成果であったた

め、まず PGAM モデルマウス(TG および cKO)を作成し、その in vivo での生物学的効果の解析を進めた。

次にヒト血液メタボロームに関しては、我々は独自に赤血球メタボローム解析の手法を確立した。その手法を用いて、ヒト血液メタボローム解析を行った。

## 4. 研究成果

まず、「解糖系代謝と老化」研究に関して、PGAM は解糖系酵素であるため、まず糖尿病などの生活習慣病への影響が疑われた。その理由の一つとして、既報として、他の解糖系酵素の KO マウスでは糖尿病の表現型が報告されていたが、PGAM に関しては KO マウスそのものが未報であったからである。まず PGAM ホモノックアウトマウスは胎生期早期致死であることが判明したので、KO に関してはヘテロ KO を用いた。我々は、マウスの体重、脂肪重量、血糖値、IPGTT、肥満プロトコルなどを、TG および KO で検討した。意外なことに、これらのパラメーターは、すべて正常であった。

つぎに、ヒト血液メタボロームの結果を分裂酵母メタボライトと比較検討した結果、80%以上が保存されており、進化上メタボライトも保存されていることが判明し、報告した(ロマス他 MolBiosys2014)。さらにこの血液・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った。30名のサンプルで、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。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・高齢群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評価され、いくつかの招待講演でも発表した。

これらの知見を、より社会一般に啓蒙する目的で、二つの著作を出版した。一つは、「老化と進化」に関するもので、「老化は進化とのトレードオフ」であることを、史上初めて詳細に記載したものである(近藤祥司著 日本評論社「シリーズ進化生物学の新潮流; 老化という生存戦略; 進化におけるトレードオ

フ」2015年p222)。もう一つは、海外での「老化教科書」の翻訳事業である。これも、史上初めて、臨床高齢者医療と基礎老化研究の成果両者の教科書として出版された(近藤祥司監訳 MEDSI「老化生物学 老いと寿命のメカニズム」2015年p408 原著「Biology of ageing」Roger B McDonald 著 (Garland Science NY & London 2014) p390)。これら二つの著作とも、「老化の多様性」に関して、深く考察している。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表、分担及び連携研究には下線)

【雑誌論文】(計29件)

### 英語論文

- 1) **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 査読有 2016 Jun 21;113(25):E3471-2.
- 2) Romanas Chaleckis, Itsuo Murakami, Junko Takada, **Hiroshi Kondoh**, and Mitsuhiro Yanagida Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences PNAS 査読有 2016 113(16): 4252-9.
- 3) Taisuke Izumi, Takumi Mikawa, **Hiroshi Kondoh**, Matilde E LLeonart and Akifumi Takaori-Kondo. The Warburg-like regulation of PGAM in tumor. **Trends in Cancer Research** 査読有 2015 vol10; p103-108
- 4) Goodson WH 3rd, Lowe L,他合計 173 名. **Hiroshi Kondoh** は 59 番目 Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: the challenge ahead. Carcinogenesis. 査読有 2015 Jun;36 Suppl 1:S254-96.
- 5) Amancio Carnero, Carmen Blanco-Aparicio, **Hiroshi Kondoh**, Matilde Lleonart, Juan Fernando Martinez-Leal, Chiara Mondello, A. Ivana Scovassi, John Pierce Wise Sr., Sandra S. Wise and Hemad Yasaey. Disruptive chemicals, senescence and immortality. Carcinogenesis 査読有 2015 Jun;36 Suppl 1:S19-37.
- 6) Takumi Mikawa, Matilde E LLeonart, Akifumi Takaori-Kondo, Nobuya Inagaki, **Masayuki Yokode**, and **Hiroshi Kondoh** Dysregulated glycolysis as an oncogenic event. **Cell. Mol. Life Sci.** 査読有 2015 72:1881-1892
- 7) Takumi Mikawa, Koji Okamoto, Matilde E LLeonart, Akifumi Takaori-Kondo, **Masayuki Yokode**, Nobuya Inagaki, and **Hiroshi Kondoh** Posttranscriptional Regulation of Glycolytic enzyme Phosphoglycerate Mutase. **Science Proceedings** 査読有 2014 1(1) e380;p1-4
- 8) T Mikawa, T Maruyama, K Okamoto, H Nakagama, ME LLeonart, T Tsusaka, K Hori, I Murakami, T Izumi, A Takaori-Kondo, **M Yokode**, G Peters, D Beach, and **H Kondoh**. Senescence inducing stress promotes proteolysis of glycolytic enzyme phosphoglycerate mutase via ubiquitin ligase Mdm2. **Journal of Cell Biology** 査読有 2014 204(5):729-45.
- 9) Romanas Chaleckis, Masahiro Ebe, Tomáš Pluskal, Itsuo Murakami, **Hiroshi Kondoh**, and Mitsuhiro Yanagida "Unexpected similarities between the Schizosaccharomyces and human blood metabolomes, and novel human metabolites" **Molecular BioSystems** 査読有 2014 (10):2538-51.
- 10) Itsuo Murakami, Romanas Chaleckis, Tomáš Pluskal, Ken Ito, Kousuke Hori, Masahiro Ebe, Mitsuhiro Yanagida and **Hiroshi Kondoh**. Metabolism of skin-absorbed resveratrol into its glucuronized form in mouse skin. **PLoS One**. 査読有 2014 9(12): e115359.
- 11) Takeshi Tsusaka, Tingting Guo, Teiti Yagura, Toshiaki Inoue, **Masayuki Yokode**, Nobuya Inagaki, and **Hiroshi Kondoh** Deacetylation of PGAM in its distinct central region by SIRT2 downregulates its enzymatic activity. **Genes to Cells** 査読有 2014 (10):766-77.
- 12) Takumi Mikawa, Matilde E LLeonart, Akifumi Takaori-Kondo, **Masayuki Yokode**, and **Hiroshi Kondoh** RING-mutant Mdm2-M459I Confers Anti-apoptotic Effect in Primary Cells **Journal of Cytology & Histology** 査読有 2014 5: i103.
- 13) Takako Okamoto, Masaki Mandai, Noriomi Matsumura, Ken Yamaguchi, **Hiroshi Kondoh**, Yasuaki Amano, Tsukasa Baba, Junzo Hamanishi, Kaoru Abiko, Kenzo Kosaka, Susan K, Murphy, Seiichi Mori, Ikuo Konishi. Hepatocyte nuclear factor-1β promotes glucose uptake and

glycolytic activity in ovarian clear carcinoma. **Molecular carcinogenesis** 査読有 2015 54(1):35-49.

### 日本語論文

- 14) 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 査読有 2017 41 (1) p11-18
- 15) **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 査読有 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
- 16) **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』査読有 2016 24;3 p84-87
- 17) **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」査読有 2016 74;9 p1429-34
- 18) **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』査読有 2016 24;2 p87-90
- 19) 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 査読有 2016 年 88-3 号 p296-301
- 20) 三河拓己、稲垣暢也、**近藤祥司** 「がんの代謝制御標的としての PGAM」実験医学 査読有 vol33 2015 p1741-1745
- 21) **近藤祥司** 「骨粗鬆症のドロップアウトに対する解決策について」「かかりつけ医のための老年病、100 の解決法」秋下雅弘編集 メディカルレビュー社 査読有 2015 年 6 月出版 p154-5
- 22) **近藤祥司** 「運動療法における「動脈硬化予防」と「骨折予防」の違い」「かかりつけ医のための老年病、100 の解決法」秋下雅弘編集 メディカルレビュー社 査読有 2015 年 6 月出版 p216-7
- 23) **近藤祥司** 「私の好きな過剰なるもの」近畿化学工業界 査読有 2015 vol167 No4 p5-7
- 24) 足立祥、**近藤祥司** 生活習慣病予防と長期臥床期間の関係について。日本医事新報 査読有 2015 4737 p62-63

- 25) 足立祥、三河拓己、稲垣暢也、**近藤祥司** 代謝ネットワーク再構築による老化制御 細胞 査読有 2014 46(13) p13-16
- 26) 三河拓己、稲垣暢也、**近藤祥司** 「ストレス老化シグナルによる解糖系酵素 PGAM のユビキチン化制御」基礎老化研究 査読有 38 (3); p35 - 37 2014
- 27) 三河拓己、**近藤祥司** 「ストレス老化シグナルによる解糖系酵素 PGAM のユビキチン化制御」細胞工学 査読有 2014 vol33 no9 p972-97
- 28) 津坂剛史、**近藤祥司** 代謝から読み解く細胞老化とがん化 『化学と生物』査読有 2014 52, No. 10, p637-640
- 29) 伊藤健、**近藤祥司** 古くて新しい酸化ストレス老化仮説 BioClinica 老化の分子生物学 査読有 2014 Vol29 No1 p38-42

### 【学会発表】(計 23 件)

- 2017 年 3 月 16 日 老化の多様性とその代謝特性の研究～Glycolysis in senescence & metabolites in ageing. 高知大医学生化
- 2017 年 3 月 12 日 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 3 日 Metabolites in organismal ageing & Glycolysis in cellular senescence Asian Society of Aging Research 札幌
- 2017 年 2 月 11 日 Metabolites in organismal ageing & Glycolysis in cellular senescence International symposium in Kumamoto 熊本
- 2017 年 2 月 2 日 Glycolysis in senescence and metabolites in ageing. OIST 沖縄
- 2016 年 11 月 30 日 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 1 日 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 10 月 31 日 Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. スイス京都会議 京都
- 2016 年 6 月 16 日 ストレス老化シグナルと解糖系代謝 68 回日本細胞生物学会 京都
- 2016 年 6 月 9 日 老化の多様性を規定する代謝・液性因子 58 回日本老年医学会 金沢
- 2015 年 11 月 14 日 「老化の多様性を規定する代謝特性～進化におけるトレードオフ」 6 回 癌・炎症と抗酸化研究会 大分

2015年11月14日「解糖系酵素 PGAM モデルマウスの解析」26回日本老年医学会近畿地方会 京都

2015年7月23日「ストレス老化シグナルに拮抗するワールブルグ解糖系転写後制御」第36回日本炎症・再生医学会 東京

2015年6月13日「メタボロームアプローチによるヒト血液メタボライト解析 Metabolomic approach for human blood」基礎老化学会 横浜

2015年6月13日「老化シグナルによる PGAM の制御機構 Posttranscriptional regulation of PGAM by senescence inducing signal」基礎老化学会 横浜

2015年6月12日「ストレス老化シグナルによる解糖系ユビキチン化制御とその病態意義」57回日本老年医学会、横浜

2015年5月12日「Senescence-inducing stress promotes proteolysis of phosphoglycerate mutase via ubiquitin ligase Mdm2」Cancer Summit London.

2015年4月5日「老化はなぜ進むのか」第29回日本医学会総会 京都

2014年12月16日「ストレス老化シグナルによる解糖系酵素 PGAM のユビキチン化制御」32回染色体ワークショップ・第13回核ダイナミクス研究会 広島

2014年11月26日 分子生物学会 横浜 「ストレス老化シグナルによる解糖系代謝シフトの誘導する生体防御バリアー機構」

①2014年11月15日「ストレス老化シグナルによる解糖系ユビキチン化制御とその病態意義；Beyond the Warburg effect」5回癌・炎症と抗酸化研究 CIA 大分

②2014年11月8日「ストレス老化シグナルによる解糖系ユビキチン化制御とその生体防御機構」日本皮膚学会西部支部 高松

③2014年9月27日「細胞老化誘導性 DNA ダメージによる解糖系ワールブルグ効果の制御機構」癌学会コアシンポジウム横浜

#### 【図書】(計2件)

近藤祥司著 日本評論社「シリーズ進化生物学の新潮流；老化という生存戦略；進化におけるトレードオフ」2015年 p222  
近藤祥司監訳 MEDSI「老化生物学 老いと寿命のメカニズム」2015年 p408 原著「Biology of ageing」Roger B McDonald 著 (Garland Science NY & London 2014) p390

#### 【産業財産権】

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔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

近藤祥司(Kondoh Hiroshi)  
京都大学医学研究科・准教授  
研究者番号 80402890

### (2) 研究分担者

横出正之(Yokode Masayuki)  
京都大学医学研究科・教授  
研究者番号 20252447

### (3) 連携研究者

### (4) 研究協力者