

課題番号 20

## 加齢変化における酸化ストレス応答系の役割 についての網羅的解析

### [1] 組織

代表者：有田 誠  
(理化学研究所 統合生命医学研究  
センター メタボローム研究チーム)  
対応者：本橋 ほづみ  
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 40 万円

### [2] 研究経過

酸化ストレス応答機構は生物個体の寿命を規定する重要な要因であることが以前より示されているが、最近、様々なげっ歯類の平均寿命が、酸化ストレス応答を担う鍵因子である nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2) の活性化レベルと正の相関を示すことが報告された (Lewis et al, PNAS. 2015; 112(12): 3722-7)。これは、酸化ストレス応答機能が低いほど、自然界における寿命が長いことを意味している。さらに、ヒトの早老症であるハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群において、Nrf2 の機能異常による抗酸化活性の低下が、その病態に重要な役割を果たしていることが報告されている (Kubben et al, Cell. 2016; 165: 1361-74)。すなわち、Nrf2 による抗酸化ストレス応答の増強は老化に対して抑制的に働くことが考えられる。

加齢関連疾患においては、多くの場合慢性炎症が基盤となっており、そこに代謝異常・代謝障害が伴っている。これまでに代表者は、脂肪酸由来の代謝物を包括的かつ定量的に捉えるために、高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー (LC-MS/MS) を用いたメタボローム解析システムを独自に構築している。このシステムを用いた解析により、慢性炎症や代謝疾患を改善するためには、脂質代謝バランスをコントロールすることが重要であることを明らかにしてきた。

古くからエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などの  $\omega$ 3 脂肪酸は抗炎症性物質として知られている。これらは酵素的に代謝され、親電子シグナル経路を介して Nrf2 を活性化することから、 $\omega$ 3 脂肪酸が Nrf2 を介して抗老化作用を発揮する可能性が考えられる。そこで本研究では、 $\omega$ 3 脂肪酸による Nrf2 機能の増強が抗老化作用をもたらすかを明らかにすることを最終的な目標とする。本共同研究は1年間という限られた期間で実施する必要があるため、まず本年度は野生型マウスの種々の臓器を用い、加齢に伴う脂肪酸代謝変化をメタボローム解析により検討した。この結果は、今後高齢の Nrf2 欠損マウスや Keap1 ノックダウンマウス (Nrf2 が常時活性化しているマウス) を用いた解析を行う際の基礎データとして用いる。将来的に、加齢に伴う Nrf2 依存的な抗酸化機能・抗炎症機能の変化を、網羅的な遺伝子発現解析と代謝物解析により検討するとともに、 $\omega$ 3 脂肪酸の投与実験を行う予定である。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本研究の遂行に先立ち、まずは理化学研究所横浜事業所において研究の全体像を議論した。また、進捗状況については E-mail にて随時の打ち合わせを行った。

### [3] 成果

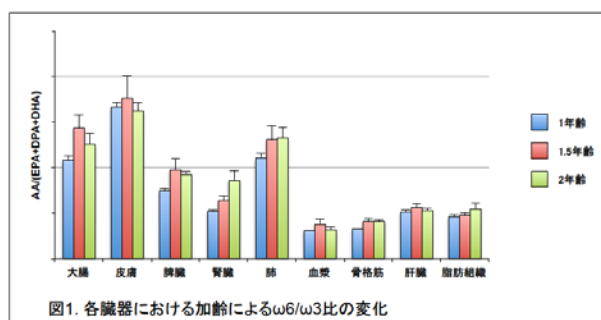
#### (3-1) 研究成果

まず、LC-MS/MS を用いた脂肪酸代謝物のメタボローム解析を行うにあたり、脂肪酸代謝物の抽出方法の検討 (固層抽出カラム、臓器量、洗浄溶媒、抽出溶媒) を行った。その結果をもとに、それぞれの臓器において最適な条件を設定し、以下の検討を行った。

1 年齢、1.5 年齢、2 年齢の雄性・雌性の野生型マウス (C57BL/6 系) より大腸、皮膚、脾臓、腎臓、肺、血漿、骨格筋、肝臓、脂肪組織を摘出し、脂肪酸代謝物の包括的メタボローム解析を行った。その結果、それぞれの臓器において、加齢依存的に変化

が認められる脂肪酸代謝物が複数見出された。それらの結果より、加齢によって変化する各臓器に特有の代謝経路の存在が示唆された。特に、複数の臓器において、リポキシゲナーゼを介した代謝経路が減弱するという、興味深い知見が得られた。リポキシゲナーゼは脂肪酸を過酸化する酵素であり、過酸化された脂肪酸（ヒドロペルオキシド体）はヒドロキシ体を経てケトン体に変換される。ケトン体は親電子シグナルを活性化することから、これらの臓器では Nrf2 経路を介した酸化ストレス応答経路が減弱している可能性が考えられる。今後、これらの臓器を用いて加齢に伴う Nrf2 活性の変化を評価するとともに、Nrf2 欠損マウスや Nrf2 活性化マウスでの表現型解析につなげたい。最終的に、 $\omega$ 3 脂肪酸投与による抗加齢効果を評価したいと考えている。

さらに、メタボローム解析の結果から、雌性マウスにおいて加齢に伴う  $\omega$ 6 脂肪酸と  $\omega$ 3 脂肪酸のバランスの変化が認められる臓器を確認することができた。図 1 は  $\omega$ 6 脂肪酸としてアラキドン酸 (AA) 量を、 $\omega$ 3 脂肪酸として EPA とドコサペンタエン酸 (DPA) と DHA 量を足し合わせ、それらの比を算出しグラフ化した結果である。その結果、脾臓、腎臓、肺において、加齢とともに  $\omega$ 6 /  $\omega$ 3 比が増大していることがわかった。この結果から、これらの臓器では老化に伴い  $\omega$ 3 脂肪酸の割合が減弱しており、Nrf2 を介した抗酸化応答の低下が認められる可能性が考えられる。また、これらの臓器において、 $\omega$ 3 脂肪酸投与による Nrf2 経路の活性化を介した抗加齢効果が認められることが期待される。



### (3-2) 波及効果と発展性など

今後超高齢化社会を迎える我が国において、老化を制御する方法の確立は喫緊の課題である。 $\omega$ 3 脂肪酸による抗炎症作用は広く知られているが、哺乳動物において老化を抑制するかはよくわかっていない。一方、雌の Nrf2 欠損マウスではヘテロマウスに比べ、生存期間が短くなることが報告されており (Yoh et al, *Kidney Int.* 2001; 60(4): 1343-53)、Nrf2 経路を介した抗酸化作用が個体の老化に対して抑制的

に働くと考えられている。本研究で得られる成果は、 $\omega$ 3 脂肪酸や、最近申請者が明らかにしている新規脂肪酸代謝物が、個体の加齢プロセスや Nrf2 による酸化ストレス応答機構に及ぼす影響を解析するために必要な基礎データとして利用できる。さらに本研究は、 $\omega$ 3 脂肪酸食による老化制御の可能性を示すエビデンスを提供する、社会的にも大変意義のある研究であると考えている。すでに、当施設においても Nrf2 欠損マウスや Nrf2 活性化マウスの導入が完了している。現在これらの高齢マウスを準備中であるため、今後も本共同研究を継続し、論文発表につなげたい。さらに、論文発表後は、加齢医学研究所の共同研究における成果「加齢マウスデータベース」として得られた網羅的解析の結果を公開し、本分野のさらなる研究の発展に貢献したいと考えている。

### [4] 成果資料

本共同研究成果が直接掲載された論文はまだないが、本研究をもとに、引き続き共同で研究を進める準備をしている。