

2024年3月14日

一般財団法人日本産業科学研究所 御中

国際医療福祉大学医学部

研究代表者 岩佐 宏晃

令和5年度 産業科学研究所報告書

研究課題名：高 AGE 食によってもたらされる攪乱作用因子の探索

<研究の背景>

世界は美味しいモノにあふれている---食の甘い誘惑は私たちを魅了して止まない。**糖は誘惑の代表格であるが、その代償として、反応性の高い糖代謝産物による攻撃を受けることになり、自身の生体成分を劣化させる終末糖化産物 (AGE) を蓄積する。**一方、小麦製品や肉料理などの風味を増すために欠かせない加熱が AGE を発生させてしまい、食品由来の AGE を摂取すること自体が健康に害を及ぼすことが知られるようになった。分子レベルでは、AGE との結合によって蛋白質、脂質、核酸の変性や異常が誘発されることや、AGE 特異的な蛋白質受容体によって炎症性のシグナル伝達を働かせることが報告されている。この他にも、がん、糖尿病、老化といった病態と AGE との相関性が報告され、AGE の重要性はもはや疑う余地はない。しかし、実際の医療では、AGE に着目した治療が確立されたとはいえない。また、AGE 含有性食品の摂取を避けられない現代の食生活において、いかにして AGE の攪乱ともいえる作用を予防できるかという知恵を私たちは持ち合わせていない。**本研究では、AGE が影響する健康寿命とその制御に関わる遺伝子を解析し、未だ十分な理解に至っていない AGE の攪乱作用の解明を目指す。**

ハンバーグや肉、卵、ケーキなどのお菓子を焼くと、表面が美味しそうなキツネ色に色づく。これは糖（ブドウ糖、果糖、乳糖など）とアミノ化合物（アミノ酸、ペプチド、タンパク質）を含む食品を加熱すると起こる「糖化反応」の結果として生じたものである。糖化によってできるのがAGE（終末糖化産物）であり、これが肉などの焼き色の正体なのである。AGEは老化や老化を基礎とする疾患にとって重要な要因であることがわかってきた。



By APN MUM [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)], from Wikimedia Commons

<研究の目的>

健康寿命に関する研究をヒトやマウスで行う場合、長期の実施期間や高額の研究費の面で難しくなる問題を抱えている。**米国では早くからその代替法として、寿命の短い単純モデル生物である「線虫」を用いた研究が多くの大学や研究機関で行われてきた。**細菌食性生物である線虫は大腸菌を塗布した寒天培地上で飼育することができるが、高グルコースを与えて人為的に AGE を蓄積させた大腸菌を給餌させた場合、健康寿命の指標とされる運動能の早期低下や寿命が短くなることが観察される (Kingsley *et al*, Scientific Reports 2021)。これは高 AGE 含有食を摂取し続けたときに起こる健康寿命に対する影響を模倣していると考えられており、予備研究においても同様の「高 AGE 給餌法」を再現できている (図)。**本研究では、AGE が影響する健康寿命とその制御に関わる遺伝子を解析し、未だ十分な理解に及ばない AGE の攪乱作用の解明を目指す。**



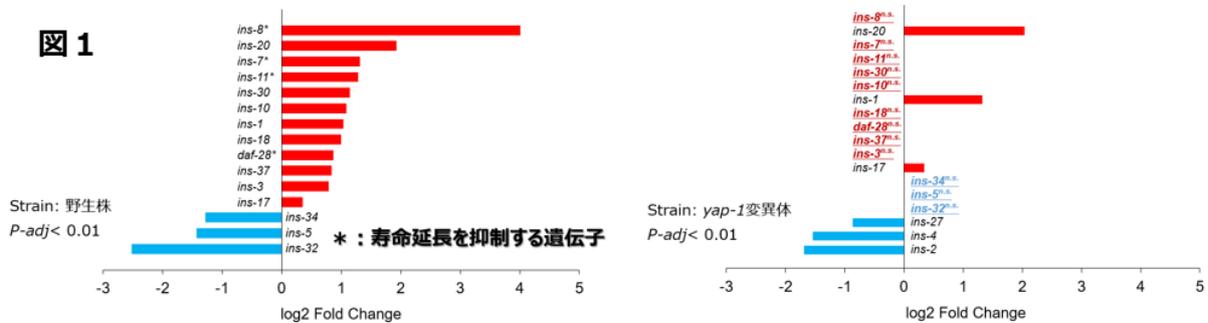
図：高AGE給餌による健康「短寿命」の誘導

Scientific Reports | (2021) 11:5931 改変

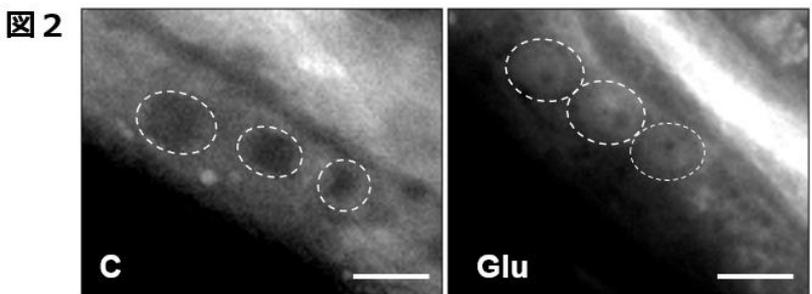
<研究の成果>

① 転写因子 YAP-1 がターゲットとする高 AGE 応答性遺伝子の探索

線虫に高 AGE 給餌を施して変動する遺伝子を見出すために、次世代シーケンスを用いた解析を行った。その結果、高 AGE 給餌によって発現上昇するインスリン遺伝子群を見出した (図 1 左)。さらに、発現上昇する遺伝子群の中には、老齢期に活性化される転写因子 YAP-1 (Iwasa *et al*, *Exp. Cell Res* 2013) の遺伝子変異といった介入によって発現上昇しないことが判明した (図 1 右)。



いくつかのインスリンが発現上昇すると、線虫の寿命延長が抑制されることが知られている。本研究において着目する転写因子 YAP-1 が高 AGE 給餌によってインスリン遺伝子の発現調節に関与する可能性は高く、事実、高 AGE 給餌によって YAP-1 が転写因子として機能を発揮するために局在を細胞質から核へ移行する様子が観察された (図 2)。



皮下で発現するGFP融合型YAP-1蛋白質の挙動について調べた。通常培養の大腸菌を塗布したNGM寒天培地 (C: control OP50) では、YAP-1の蛍光は細胞質からは検出されるが、核内では検出されない (C)。グルコース添加培養の大腸菌を塗布した NGM 寒天培地 (Glu: 0.4% glucose OP50) では、YAP-1の蛍光は核内からも検出された (Glu)。点線は核の位置、スケールバーは10 μ Mを示す。

② 高 AGE 給餌によって生じるエクソソームの精製と解析

近年、細胞外に分泌されるエクソソームと呼ばれる腔内膜小胞が脚光を浴びている。エクソソームには生理活性をもつ核酸、タンパク質、脂質などが含まれていることがわかり、細胞間でシグナルを伝達する機能があることや体液を循環することで病態を進行させるなどの重要な物質として注目を集めている (図 3)。本研究では、次世代シーケンスの結果に基づき、データの生物学的意義や生命反応などを抽出する解析をした結果、高 AGE 給餌によってエクソソームの形成過程に関わる遺伝子群の発現変動が検出された。

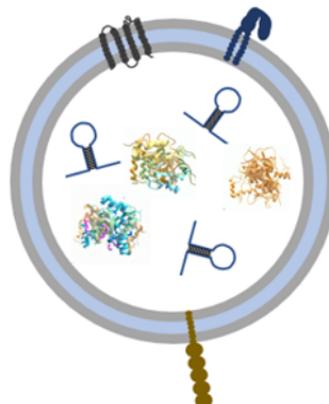
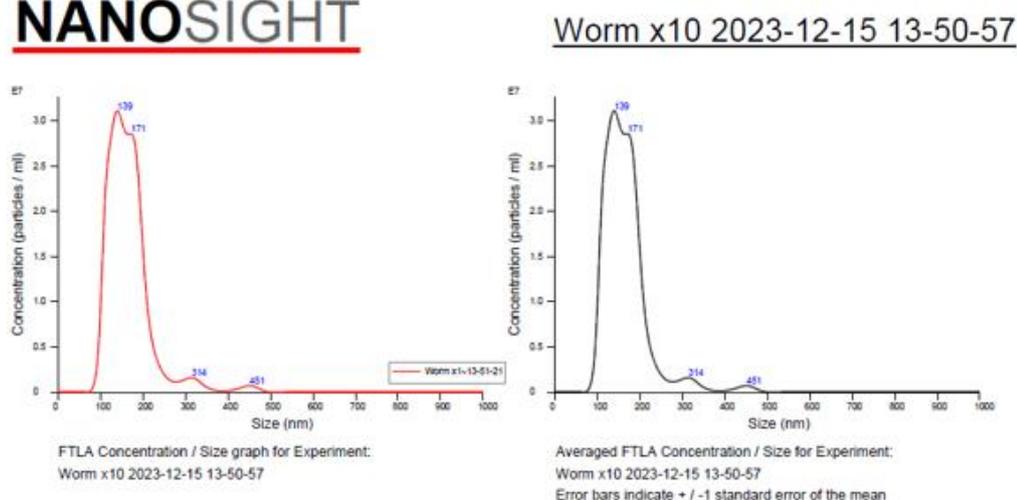


図 3

エクソソームは細胞と共通した構造をもつ。脂質二重膜からなる 100 nmほどの小胞であり、細胞膜蛋白質や細胞内蛋白質が存在し、さらに、DNA, mRNA, miRNAといった核酸が含まれる。エクソソームが細胞から分泌されると、目的の細胞へと運ばれて細胞間や組織へのシグナルを伝達する。医薬、美容、食品などを扱う産業界からは、バイオマーカーとしてや治療薬研究において注目されている。

エクソソームに内包される核酸やタンパク質などの生理活性物質を解析するためには、細胞外に分泌するエクソソームの精製が不可欠となる。本研究では、高 AGE 給餌によって生じるエクソソームの精製と解析を目的とするが、その第一歩として、線虫から体外に放出されるエクソソームの精製を試みた。通常の寒天培地で培養した後、生理状態に近い培養液中で線虫を一晩培養し、超遠心分離機によってナノサイズのエクソソームの分離精製を試みた。その結果、およそ 100~200 ナノメートルサイズのエクソソーム様の粒子がナノ粒子解析システムによって検出された (図 4)。

図 4 NANOSIGHT



<研究成果の発表>

岩佐宏晃、渡部栄地、西村渉; 高 AGE 食によってもたらされる老化と遺伝子発現の変動; 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年 12 月 7 日, 神戸国際展示場

<謝辞>

本研究を行うにあたり、一般財団法人日本産業科学研究所から助成を受けましたこと深く感謝を申し上げます。本研究はまだ発展途上にはありますが、助成を受けました期間において大きな前進がありました。糖化産物の摂取によって変動する大規模な遺伝子セットを入手できたこと、また、遺伝子に介入することが有効であることを見出したことのすべてが僥倖であり、これらの発見によって研究が益々飛躍することが期待されます。産業科学の発展の一助となるよう、これからも研究に邁進する所存です。

最後に、宮地尚代表理事ならびに多くの役員、事務職員の方々に改めてお礼と感謝を申し上げます。