

## 老化と栄養

葛谷 雅文

名古屋大学大学院 医学系研究科 地域在宅医療学・老年科学

### 1. はじめに

「老化と栄養」という大きなテーマをいただいた。いろいろな切り口があると思われるが、「栄養が老化にどのような影響があるか」の視点、「老化とともに体の栄養状態にどのような変化があるか」の二つの視点で考えてみたいと思う。

### 2. 栄養は老化にどのように影響するか

#### 1) カロリー(食事)制限と老化

大昔より老化を制御し、永遠の命を手に入れることが人間の叶わぬ夢であった。中国の秦の始皇帝は不老不死の薬を求め続けた。西洋でもギリシャ時代にも多数の不老不死神話が存在する。もちろん不老不死は叶わぬ夢であったが、近年、不老不死は無理ではあるが、ある程度寿命を延伸できる方策が科学的根拠をもって出始めてきている。

100年以上前に Osborne が<sup>1)</sup>、1930年代に McCay らのラットを使用した食事制限実験により寿命が延長することが報告されて以来<sup>2)</sup>、数多くの研究が報告されてきた。少なくとも酵母、線虫、ショウジョバエ、マウス、ラットでは栄養障害を引き起こさない程度のカロリー制限することにより、老化が遅延し最大寿命が延びることが知られる。例えば10～40%のカロリー制限により、30～50%程度寿命が延びる。齧歯類の検討ではこのカロリー制限は老化と関係があることが知られる悪性腫瘍や動脈硬化性疾患の発症も抑制される。

しかし、霊長類の研究ではカロリー制限の寿命さらには加齢に関する疾患発症への影響について、矛盾する報告が存在する。すなわち、アカゲザルを使用した二つの研究所の一つであるウイスコンシン大学からは老化に関する死亡がカロリー制限で抑制され、さらに悪性腫瘍、糖尿病や心血管病などの加齢に関連する疾病発症も抑制されたと報告された<sup>3)</sup>。一方、米国国立老化研究所(NIA)の報告ではカロリー制限の寿命への影響は認めないとの相反する報告がされた<sup>4)</sup>。その後ウイスコンシン大学からはNIAのコントロール群は自由摂取ではないため、ウイスコンシン大学ほどの十分な体重増加を認めず、コントロールと言えないのではないかと反論が出た<sup>5)</sup>。さらに両研究で使用された食事内容にも相違があり、ショ糖の量であるとかビタミンの量などにも違いがあった。これらの結果の解釈は難しいが、一般的にはカロリー制限には一定の寿命の延長効果のみならず、加齢とともに出現する疾病の抑制効果があるのではないかと、信じられている。しかし、ヒトに対する効果はなお不明である。

#### 2) 栄養素と老化

長らくこのカロリー制限は主要栄養素の含量とは無関係とされ、カロリー自体の重要性が指摘されていた<sup>6)</sup>。

すなわち栄養素とは関係なく、カロリーの摂取制限こそが重要であると信じられてきた。しかし、最近線虫や昆虫を用いた研究ではカロリーを固定して個々の栄養素の含有比率を変えてみたところ、タンパク質/炭水化物比が低いほど(タンパク質制限) 寿命延長が認められることが明らかになった。哺乳類研究のメタ解析でもカロリー制限自体よりもむしろタンパク制限の寿命への影響が大であると報告された<sup>7)</sup>。また、メチオニンやトリプトファンなどの特定のアミノ酸の寿命への影響が報告されている。最近のマウスを使用した研究ではあくまでも寿命だけをターゲットとするなら、オスとメスではそれぞれタンパク質:炭水化物の比が 1:13、1:11 (エネルギー比) が最適とされた<sup>8)</sup>。しかし、タンパク質比率を下げることにより、寿命は延びるものの生殖能力は低下する。

近年、肥満治療や糖尿病管理を目標に低炭水化物食が注目されている。実際に低炭水化物食や高タンパク食では体重減少に対して、また糖尿病管理に対して良好な結果が報告されている<sup>9,10)</sup>。しかし、これらはあくまでも短期的な効果であり長期的な体への影響に関しては別途考える必要がある。上記の結果より炭水化物を減らすことにより、タンパク質が相対的に増える食事の長期効果には慎重になる必要がある。実際に低炭水化物、高タンパク食の健康障害、生命予後への負の影響を報告するものが多数存在する。スウェーデンの 30 ~ 49 歳の女性 43,396 名を 15.7 年間観察した疫学研究では低炭水化物食、高タンパク食は虚血性心疾患、脳卒中などの心血管疾患のリスクであると報告されている<sup>11)</sup>。また別の二つのコホート研究(女性を 26 年間、男性を 20 年間観察)<sup>12)</sup>、ならびに 17 研究のメタ解析では低炭水化物食により、総死亡のリスクが上昇するとしている<sup>13)</sup>。また、最近アメリカのナショナルデータを使用した疫学研究においても中年時代(50 歳 ~ 65 歳)の高タンパク質(特に動物性タンパク質) は 18 年の観察で悪性腫瘍発症のリスクであると同時に生命予後のリスクであることが報告された<sup>14)</sup>。すなわち 50 ~ 65 歳の研究対象者を全摂取カロリーの内、タンパク質からの摂取が 10% 未満(低タンパク群)、10 ~ 20% 未満(中等度群)、20% 以上(高タンパク群)に分けると、低たんぱく質群に対して、中等度群、高タンパク質群では関連因子で調整後の 18 年間の観察中の全死亡の相対リスク(95% 信頼区間)はそれぞれ、1.34 (0.81-2.22)、1.74 (1.02-2.97)であった。一方驚くことに、65 歳以上の集団では 0.79 (0.62-0.99)、0.72 (0.55-0.94) とむしろ、高タンパク群で死亡リスクが低い結果であった(図 1)。興味深いことに 65 歳以上の高齢者では高タンパク質摂取では逆に悪性腫瘍のリスクも低下していた<sup>14)</sup>。この研究の結果は、タンパク質摂取量(割合)は成人と高齢者ではその健康に対する効果が異なる可能性を示唆する。

まだ結論付けるのは時期尚早で、今後さらなるデータの蓄積が必要ではあるが、成人時代に極端な低炭水化物食、高タンパク質食を安易に推進することは慎重にすべきかもしれない。

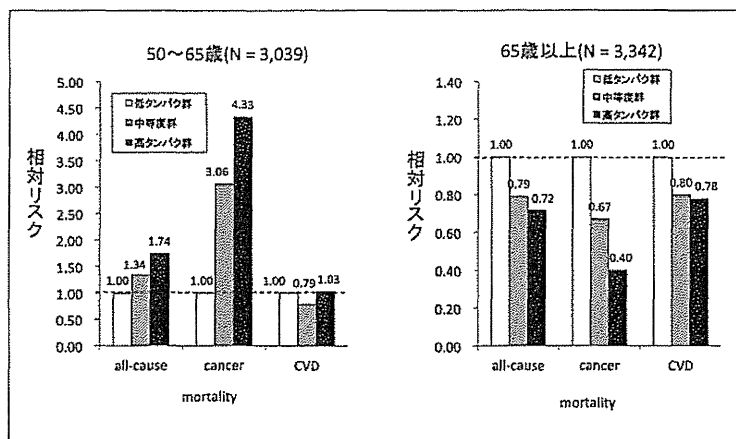


図 1 タンパク質摂取量と寿命。Levine ME, et al. Cell Metab. 2014;19:407-17. より作図。CVD: cardiovascular diseases.

### 3. 寿命にかかわる遺伝子変異と栄養関連シグナル

線虫の研究で、寿命が長い一群の線虫を通常の線虫と比較することにより、daf-2 遺伝子の変異が線虫

の寿命延長と関連があることが明らかとなった。この *daf-2* は哺乳類ではインスリン/インスリン様増殖因子-1 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1) 受容体に当たるものであることも分かった。この受容体の変異により、成長に係る insulin/IGF-1 のシグナルが十分に入らず、ショウジョバエやマウスにおいても寿命の延長が起こることが観察されている。この受容体は成長に関連する重要なシグナルを活性化し、AKT のリン酸化を経由して mammalian target of rapamycin (mTOR) をリン酸化し活性化し、さらにはフォークヘッド転写因子 (O-subclass of the forkhead family of transcription factors (FOXOs)) (線虫では *daf-16*) をリン酸化し、核から移動し非活性化する (図 2)。FOXO はリン酸化されないと細胞核内で転写因子として機能し、細胞のアポトーシス、増殖、分化など様々な細胞機能に重要な役割を果たす。この FOXO の脱リン酸化が寿命延長に関与しているらしい。実際に、線虫では *daf-2* 遺伝子変異の寿命延長効果は *daf-16* の遺伝子変異により消失することより、insulin/IGF-1 受容体からのシグナル抑制が FOXO 非活性化を介して寿命に関与することが報告されている。一方 mTOR はリン酸化により、その下流にあるリボソーム S6 キナーゼ (S6K) や eukaryotic initiation factor 4E 結合タンパク (eIF4E) のリン酸化を介してタンパク質合成を誘導する (図 2)。

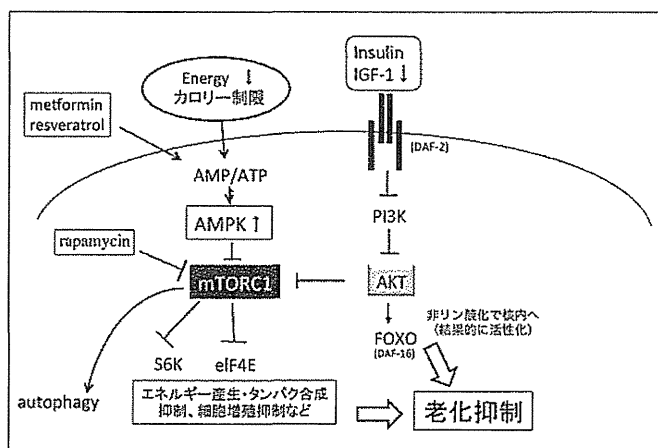


図 2 寿命延長シグナル. IGF-1:insulin-like growth factor-1; mTOR :mammalian target of rapamycin; FOXO forkhead transcription factor; PI3K: phosphoinositide 3-kinase; S6K: ribosomal protein S6 kinase; eIF4E : eukaryotic initiation factor 4E; AMPK: AMPactivated protein kinase.

カロリー制限 (タンパク質制限でも) により血中の IGF-1 濃度が低下することがわかっており、insulin/IGF-1 受容体からのシグナル抑制がかかる。またカロリー制限は ATP の量を減らすことによって Adenosine monophosphate (AMP) / adenosine triphosphate (ATP) 比が大きくなり、AMPactivated protein kinase (AMPK) を活性化させる。AMPK は mTOR シグナル伝達系を抑制する。糖尿病治療薬のメトフォルミンは AMP/ATP 比を増加させ、結果的に AMPK を活性化する。mTOR の抑制が寿命の延長に重要であることは、mTOR の阻害物質である rapamycin による寿命の延長が多くの研究で確認されている<sup>15)</sup>。

カロリー制限による寿命の延長と関連して着目される分子には Sirtuin タンパクがある。Sirtuin は NAD<sup>+</sup> 依存性のタンパク質脱アセチル化酵素であり、ヒストンを含む種々のタンパク質がそのターゲットとなる。カロリー制限下では AMPK の活性化を通じて、NAD<sup>+</sup>/NADH 比が高まり、Sirtuin の活性は促進される。Sirtuin は哺乳類では 7 つのファミリーが存在する。これらの活性化がどのように寿命にかかわっているのかは、ミトコンドリアの活性化、IGF-1 シグナルの抑制など様々な機能が報告されているが、まだ十分に解明されているわけではない。レスベラトロールはこの sirtuin を活性化できるとのことで、大変注目されたが、マウスにおいても高カロリー飼育マウスへの寿命延長はあるものの、通常食で飼育されているものへの寿命への効果は認められず、またヒトの疫学研究ではレスベラトロールと生命予後、悪性腫瘍発生との関連などは今のところ否定的である

16)

#### 4. 食事パターンと生命予後・老化

以前より食事パターンと疾病発症との関係についての疫学研究は多数存在する。例えばエスキモーの食事や日本人の食事、これらは魚の消費が多い食事として捕らえられており、魚の大量の摂取自体が心血管イベント低下と強い関連があると言われていた。しかし、後年魚の消費よりも、むしろ飽和脂肪酸の摂取が少ないこととの関与がより大きいことが報告された<sup>17)</sup>。また近年では野菜、果実、穀類、魚、オリーブオイル、ワインなどに特徴づけられる地中海食などが心血管病の発症を抑制し、長寿に関係しているとして注目されている。また、The American Healthy Eating Index は米国の食事ガイドラインをもとに作成されたもので何度か改訂されているが、全粒穀物、多価不飽和脂肪酸、ナッツ、長鎖オメガ 3 脂肪酸の摂取量が高く、赤身/加工肉、精製粉、甘味料入飲料の摂取量が低い食事を反映した健康食指数である。この指数が高い食事パターンの対象者は心血管死のみならず全死亡に関してもリスクが低いとの多数の報告がある<sup>18)</sup>。高血圧患者を対象にした Dietary Approach to Stop Hypertension (DASH) は肉や脂肪、塩分を減らしてできるだけ色の濃い野菜と果物の摂取を行うもので、心血管病や心不全、さらには 2 型糖尿病発症予防にも効果的であることが報告されている。他にも様々な地域の食事パターンと疾病予防の報告はあるが、これらの多くは疾病予防ならびに疾病と関連する生命予後に関してであり、純粋な意味での寿命の延長(老化の延長)にまで効果があるかは不明である。

#### 5. 抗酸化作用のある微量栄養素と生命予後・老化

老化のフリーラジカル仮説はなお、重要な老化仮説の中の一つとして位置づけられている。エネルギー代謝過程で発生する活性酸素が組織障害を誘導し、細胞老化、さらに固体老化を誘導するとの仮説である。微量栄養素、特に複数のビタミンには抗酸化作用を有する。したがって、これらの栄養素を摂取することによって老化が抑制できるのではないかと期待されてきた。今までに抗酸化作用のある栄養素(βカロチン、ビタミン A、ビタミン C、ビタミン E、セレンウム)などがヒトの生命予後にどのような効果があるかを検討した観察研究ならびに介入研究が複数存在している。結果的にはいずれの研究においても、ビタミンを含む抗酸化作用のある栄養素の生命予後に対するリスク低下作用に関しては否定的な結果である<sup>19,20)</sup>。むしろβカロチンやビタミン E の介入に関しては生命予後に対してリスクを高めている可能性が報告されている<sup>20)</sup>。しかし、これも老化そのものに対して影響があるかはなお不明ではある。

#### 6. 高齢者における栄養の問題

メタボリックシンドローム、糖尿病、肥満症、脂質異常症など成人時代の過栄養が下で出現する生活習慣病は、動脈硬化症のリスクとなり健康障害の原因となることは言うまでも無い。栄養の問題は年齢により大きく変化する。個々によってももちろん異なるが、総じてヒトでは老年期に入ると、徐々に体重が減少してくる。図 3 は平成 24 年度の国民健康・栄養調査のデータを図におとしたものであるが、男性、女性とも徐々に加齢とともに体重が減少してきているのがわかる(図 3A)。また、BMI<15kg/m<sup>2</sup> の所謂「やせ」の年齢階級別の割合をみると、若い年代と後期高齢者(75 歳以上)、特に 80 歳以上で増加する U シェイプを示している(図 3B)。ただし、このデータは横断データであるので、純粋の意味での加齢変化を見ているわけではないが、高齢期には体重の減少が起こりやすいのは事実である。したがって、高齢者では過栄養よりもむしろ、体重減少、やせの問題が重要

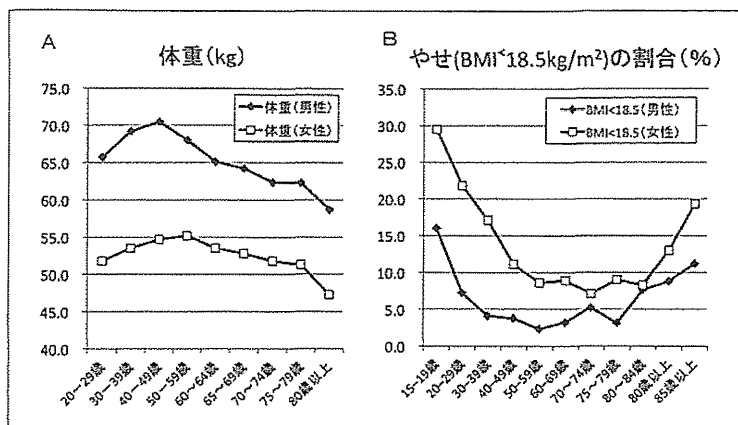


図3 年齢階級別体重、BMI 変化 (平成 24 年 国民健康・栄養調査より)

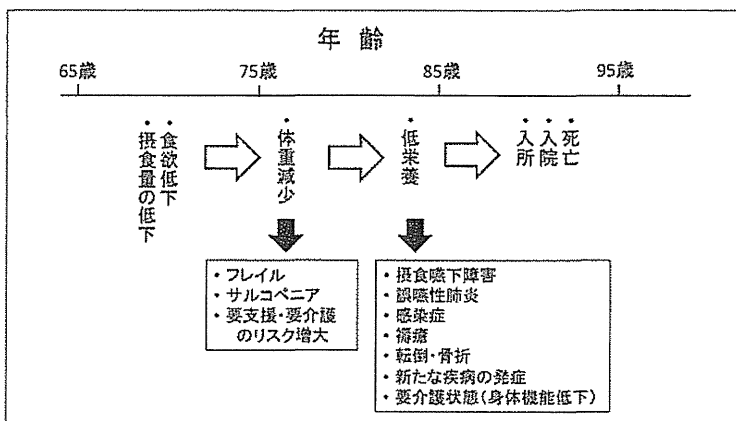


図4 加齢と栄養関連事項の時間経過 (葛谷作図)

表1 高齢者の低栄養要因と介入

要因	介入
<b>加齢の影響</b>	
食欲低下 (中枢神経が関与)	×
味覚・嗅覚機能障害	×
<b>社会的要因</b>	
独居	×
介護力不足	△
貧困	×
<b>疾患・障害要因</b>	
臓器不全	×
炎症性疾患・悪性腫瘍	×
口腔内疾患	○
摂食・嚥下障害	△
疼痛	△
ADL 低下	×
消化管の問題	△
認知症	×
うつ	△
<b>医療要因</b>	
多剤投与	○
薬剤副作用	○
<b>その他</b>	
食形態の問題	○
誤った食生活認識	○
誤った食事栄養指導	○

○: 十分介入できる可能性あり  
△: 介入できる場合もある  
×: 介入がしにくい、または介入期待できず

である。

図4に65歳からの典型的な栄養に関する流れを記載し、さらにはその結果誘導される様々な病態を落とし込んだ。もちろん、全ての高齢者がこのプロセスを経るわけではないが、多くの高齢者が時間差はあるにしろこのプロセスを経ているように思う。

一方、では栄養介入がこのプロセスを抑制 (予防) できるかどうか、様々である。高齢者の低栄養の要因のいくつかを表1に挙げた。この要因のなかでも全てが介入できるわけではない。介入可能な要因に関してはできるだけその要因を見逃さず、適切に介入することが重要である。この介入が成功すれば上記のプロセスを多少なりともゆっくりさせる、またはストップさせることができるかもしれない。これにより日本人高齢者の健康寿命の延伸に貢献できるはずである。

## 7. サルコペニアの問題

### 1) サルコペニアとは

加齢とともに過度に骨格筋量が減少し、筋力が低下することをサルコペニアという。近年、高齢者の転倒、ふらつき、さらに要介護状態の原因として大変注目されている病態である<sup>21)</sup>。

加齢とともに骨格筋は筋線維数の減少だけではなく、一つ一つの筋線維自体も萎縮する。主に減少する筋線維はタイプ II 筋線維で、速筋と言われるものである。また四肢骨格筋の加齢に伴う減少は上肢よりも下肢でより著しいと報告されている。このように加齢とともに骨格筋量が減少するのは生理的なものであるが、それが過度に減少するとサルコペニアと診断される。表2に示すように、サルコペニアの要因は種々提言されているが、おそらく単一の要因ではなく、複数の要因が複合的に関連合っているものと想定されている。以下にサルコペニアの要因について、特にタンパク質に関連する要因を中心に記載する。

2) タンパク質とサルコペニア

骨格筋の萎縮はタンパク質の合成と分解のインバランスによって引き起こされる。筋肉タンパクは様々な状況下で分解するため、筋肉量を維持するためには筋細胞内でのタンパク合成(同化)が必須である。筋肉タンパクの合成にはその原料となるアミノ酸が必須であり、さらにその上流にあるタンパク質の摂取が必須である。また必須アミノ酸、特にロイシンは直接筋肉細胞に働き、筋タンパク合成シグナルを促進させる作用があることも知られ、筋肉の維持には大変重要である。加齢とともに摂取したタンパク質が効率的に吸収されないのではないかと、との報告も以前は認められたが、現在では少なくとも多くの健康な高齢者では若年者と同様に摂取されたタンパク質は消化管で分解、吸収され加齢の影響は疾病を合併していない限りあまりないことが報告されている。また、加齢に伴って筋肉でのタンパク合成能が低下するのではないかとの見解もあり、実際、アミノ酸摂取に対しての筋肉のタンパク同化反応の感受性が低下しているとの報告がある<sup>22)</sup>。「日本人の食事摂取基準 2015 年度版」では、高齢者(70歳以上)のタンパク質推定平均必要量は0.85g/kg 体重/日と成人の0.72 g/kg 体重/日より高い値が設定されている<sup>23)</sup>。推定平均必要量から推奨量を導き出すには算定係数が存在し、高齢者の推奨量算定係数を成人と同様に1.25とすると、高齢者タンパク質推奨量は1.06g/kg 体重/日(0.85×1.25=1.06)となる。しかし、この量は健康な高齢者がその健康を維持するときに必要な最低限の量と考えるべきで、既にサルコペニアに陥っている高齢者や、代謝性ストレスがかかっている場合はさらに摂取量を増やす必要がある。

3) 筋肉タンパク合成経路

筋線維の萎縮は骨格筋タンパク質の合成と分解に依存している。すなわち分解が勝ればサルコペニアが誘導される。図5に筋タンパク質の合成経路を記載した。図2と見比べていただきたいが、寿命の延長のシグナルとは逆のシグナルが重要であることがわかる。すなわち筋肉でのタンパク合成を誘導し、分解を抑制するには insulin/IGF-1 受容体からの刺激が必要であり、またロイシンなどのアミノ酸や運動による mTOR のリン酸化を介してタンパク同化反応を刺激するシグナルが重要である。さらには insulin/IGF-1 受容体からの刺激は AKT の下流にある FOXO のリン酸化を介して、ユビキチン・リガーゼ系を抑制して筋タンパク分解の抑制が誘導される。実際にヒトでは加齢とともに血中の IGF-1 濃度は低下してくることが知られている。また高齢者で、十分なタンパク質の摂取や運動がされないとこれら一連のシグナルが抑制され、筋肉は萎縮する。

表2 サルコペニアの要因候補

身体活動度 ↓
栄養(タンパク質) ↓
筋たんぱく質同化抵抗性
骨格筋幹細胞(衛星細胞)の減少・活性化不全
神経・筋接合不全(シナプス不全)
運動ニューロンの喪失
酸化ストレス
炎症(TNF-α, IL-6 ↑)
ホルモン(GH, IGF-1, DHEA) ↓
インスリン抵抗性
ミトコンドリア機能 ↓
apoptosis
ビタミンD ↓, 副甲状腺ホルモン ↑
筋肉血流 ↓
TNF-α : tumor necrosis factor-α, IL-6:interleukin-6
GH: growth hormone
DHEAS: dehydroepiandrosterone sulfate
IGF-1, insulin-like growth factor-1

以上より、上記の寿命延長のシグナルと、筋肉でのタンパク合成系は真逆のシグナルに依存していることになる。食事からのタンパク質摂取の増加は血中の IGF-1 濃度を増加させるし、ロイシンなどのアミノ酸を介した mTOR の活性化を誘導する。理論的にはこれらのシグナルは寿命に対して負のシグナルであるはずである。これらのシグナルの重要性は年齢に依存するのかもしれない。実際に、上記の低、または高タンパク食の生命予後に対する影響は年齢に依存するとされた<sup>14)</sup>。すなわち、成人時代の高タンパク食の生命予後への悪影響は、65 歳以上の高齢者では逆に好ましいアウトカムに関連すると報告された。まだまだこれに関する栄養疫学のデータは蓄積が必要である。しかし、臨床的には高齢者に対しては寿命延長のシグナルを活性化させるよりも、現実的に筋細胞でのタンパク質合成を促進させるシグナルを活性化させることが重要である。

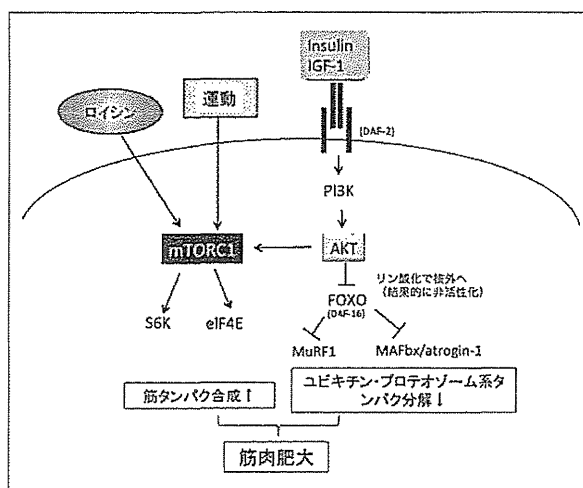


図5 筋タンパク同化シグナル。  
MuRF1: muscle RING-finger protein-1;

## 8. さいごに

このように老化を遅延するメカニズムと高齢期におこるサルコペニアに対して筋肉タンパク質の同化を促進するシグナルが真逆であることは大変興味深い。しかし、ヒトには長い時間軸が存在しており、例えば 75 歳の高齢者に寿命延長のシグナルを促進させたところで、老化が停止したり、または若返るわけではない。この時点で老化を抑制するシグナルを活性化させることは返って筋肉の萎縮を促進し、サルコペニアを誘発し、健康寿命の延伸を阻害するだけである。

おそらく、ヒトがここまで長生きをして、サルコペニアなどという問題が大きくクローズアップされてくるなどとは、生物体として考えられておらず、遺伝子情報にも組み込まれていなかったのではないかと。認知症の問題もわかりである。いずれにしろ、さらに後期高齢者は増え、寿命もさらに延びることを考えると、以前には考える必要が無かった生物学的な多数の問題が、今後も出現してくるような気がする。

## 引用文献

- 1) Osborne TB, Mendel LB, Ferry EL. The effect of retardation of growth upon the breeding period and duration of life of rats. *Science*. 1917;45:294-5.
- 2) McCay CM, Crowell MF, Maynard LS. The effect of retarded growth upon the length of the life span and upon the ultimate body size. *J Nutr* 1935; 79: S63-79.
- 3) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al. (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 2009; 325: 201-4.

- 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*. 2012;489:318-21.
- 5) Colman RJ, Beasley TM, Kemnitz JW, et al. Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys. *Nat Commun*. 2014 1;5:3557.
- 6) Masoro EJ. Caloric restriction and aging: controversial issues. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci*. 2006; 61:14-9.
- 7) Nakagawa S, Lagisz M, Hector KL, et al. Comparative and meta-analytic insights into life-extension via dietary restriction. *Aging Cell* 2012; 11 401-9.
- 8) Solon-Biet SM, Walters KA, Simanainen UK, et al. Macronutrient balance, reproductive function, and lifespan in aging mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:3481-6.
- 9) Johnston BC, Kanters S, Bandayrel K, et al. Comparison of weight loss among named diet programs in overweight and obese adults: a meta-analysis. *JAMA*. 2014;312:923-33.
- 10) Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2013;97:505-16.
- 11) Lagiou P, Sandin S, Lof M, et al. Low carbohydrate-high protein diet and incidence of cardiovascular diseases in Swedish women: prospective cohort study. *BMJ*. 2012 Jun 26;344:e4026.
- 12) Fung TT, van Dam RM, Hankinson SE, et al. Low-carbohydrate diets and all-cause and cause-specific mortality: two cohort studies. *Ann Intern Med*. 2010;153:289-98.
- 13) Noto H, Goto A, Tsujimoto T, et al. Low-carbohydrate diets and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *PLoS One*. 2013;8 (1) :e55030.
- 14) Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, et al. Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab*. 2014;19:407-17.
- 15) Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009;460:392-5.
- 16) Semba RD, Ferrucci L, Bartali B, et al. Resveratrol levels and all-cause mortality in older community-dwelling adults. *JAMA Intern Med*. 2014 174:1077-84.
- 17) Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol*. 1986 ;124:903-15.
- 18) Rathod AD, Bharadwaj AS, Badheka AO, et al. Healthy Eating Index and mortality in a nationally representative elderly cohort. *Arch Intern Med*. 2012 ;172:275-7.
- 19) Paganini-Hill A, Kawas CH, Corrada MM. Antioxidant vitamin intake and mortality: the Leisure World Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2015 ;181:120-6.



- 20) Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 ;3:CD007176.
- 21) 葛谷雅文. 老年医学における Sarcopenia & Frailty の重要性. *日老医誌* 2009;46: 279-85
- 22) Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB, et al. The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4481-90.
- 23) 葛谷雅文. 高齢者 日本人の食事摂取基準 2015 年度版 373-396, 2014 第一出版

特集

高齢者の糖尿病ケア

—最近の話題と対応策

---

## 高齢者のサルコペニアの概説と糖尿病との関係

葛谷 雅文

---

名古屋大学大学院医学系研究科地域在宅医療学・老年科学



フジメディカル出版  
FUJI MEDICAL PUBLISHING

〒530-0035 大阪市北区同心 2-4-17 サンワビル  
TEL. 06-6351-0899 FAX. 06-6242-4480

名古屋大学大学院医学系研究科  
地域在宅医療学・老年科学

葛谷 雅文

*Masafumi Kuzuya*

# 高齢者のサルコペニアの概説と糖尿病との関係

高齢者は筋肉が萎縮してヨボヨボとなり、転びやすいことは知られていたが、以前はそれが大きな問題とはされてこなかった。しかし、超高齢社会に突入した現在、そのあたり前のことが医療的にも社会的にも大きな問題となり、クローズアップされている。今後、骨格筋研究は、色々な視点で注目され、重要なテーマになると思われる。本稿では、サルコペニアについて概説するとともに、糖尿病との関係について言及した。

## Keywords

- サルコペニア
- 骨格筋
- 蛋白質
- 糖尿病
- インスリン抵抗性

## はじめに

サルコペニアの話をする前に、現在の日本の医療の状況を知っていただく必要があると思う。ご存知のように、日本をはじめ、先進国に共通の社会的、そして医療上の問題の背景に、高齢者人口の増加、および患者の高齢化の問題がある。平成に入り日本では高齢者の数ならびに割合が急増し、現在では65歳以上の割合が総人口の1/4を占めるまでになるなど、大きな人口構造の変動が起きている。平成26年には高齢者人口は3,296万人、総人口に占める割合は25.9%に到達し、前年との比較においても0.8%上昇している。後期高齢者、すなわち75歳以上の高齢者の全人口に占める割合でみると、昭和25年には1.3%であったが、平成3年に5%、20年に10%を超え、26年には12.5%と初めて8人に1人が75歳以上となった。とくに、これまではマイノリティーであった75歳以上の後期高齢者層が、今後日本ではこの年代しか人口が増加しないという、超高齢社会に突入している。それにともない、医療のターゲットになる年齢層も上昇し、健康問題においても、生活習慣病予防だけではなく、寝たきり予防、健康寿命延長、自立した生活の維持、介護予防などの重要度が増してきている。

今後、高齢者がさらに増えることにより、医療費だけでなく介護費用が増大することも危惧されている。とくに介護保険で要介護認定を受ける対象者は、現時点での要支援者を含めると500万人以上存在しており、2000年に介護保険制度が導入された時と比較して、要介護認定者数は2倍以上に増加している。超高齢社会に突入しているわが国においては、今後要介護高齢者を増やさない対策、すなわち介護予防対策は喫緊の課題である。もちろん脳卒中を初めとする疾病予防の重要性は言うまでもないが、後期高齢者が要介護になる原因として無視できないのは、「認知症」「転倒」とならんで「高齢による衰弱(虚弱、フレイル)」であることがすでにわかっている。高齢者のフレイルと骨格筋の減少が密接に関連していることも認

識されており、このような背景もあって、最近種々の分野で骨格筋減少が注目されるに至っている。

## 1 サルコペニアとは

サルコペニアは「加齢ともなう筋力の低下、または老化ともなう筋肉量の減少」を指し、Rosenberg IHにより提唱された比較的新しい造語である<sup>1)</sup>。「sarco」はギリシャ語の「sarx」由来とされ、英語の「flesh」(肉、肉付き)を表し、「penia」は英語の「loss」(消失、欠如)を表す。一般的に70歳までに20歳台に比較すると骨格筋面積は25~30%、筋力は30~40%減少し、50歳以降毎年1~2%程度筋肉量は減少すると言われている<sup>2)</sup>。サルコペニアの存在は、高齢者では「ふらつき」「転倒」、さらには「虚弱(フレイル)」に密接に関連し、その先には要介護状態が待ち受けている<sup>2)</sup>。したがって、サルコペニアの原因を究明し、それに沿った介入法を開発、導入することは、超高齢社会に突入したわが国においては、介護予防など医療・介護政策上の観点からも、きわめて重要であることは先に述べた通りである。

サルコペニアの定義は色々報告されているが、一般的にはThe European Working Group on Sarcopenia in Older People(EWGSOP)により提唱されたものが使用されることが多い。すなわち、筋肉量の低下を必須項目として、それ以外に筋力または身体能力の低下のうちどちらかがあてはまればサルコペニアと診断し(表・1)<sup>3)</sup>、さらにサルコペニアを表・2のように3段階にステージ分類することも提案している。また、EWGSOPでは、図・1に示すようなサルコペニア診断のアルゴリズムも提唱している<sup>3)</sup>。

また同報告では、サルコペニアを原発性、二次性に分類し、原発性を加齢のみによるサルコペニアとし、二次性を「廃用」「疾患(臓器不全、悪性腫瘍、炎症性疾患など)」「低栄養」によるサルコペニ

表・1 サルコペニアの診断クライテリア

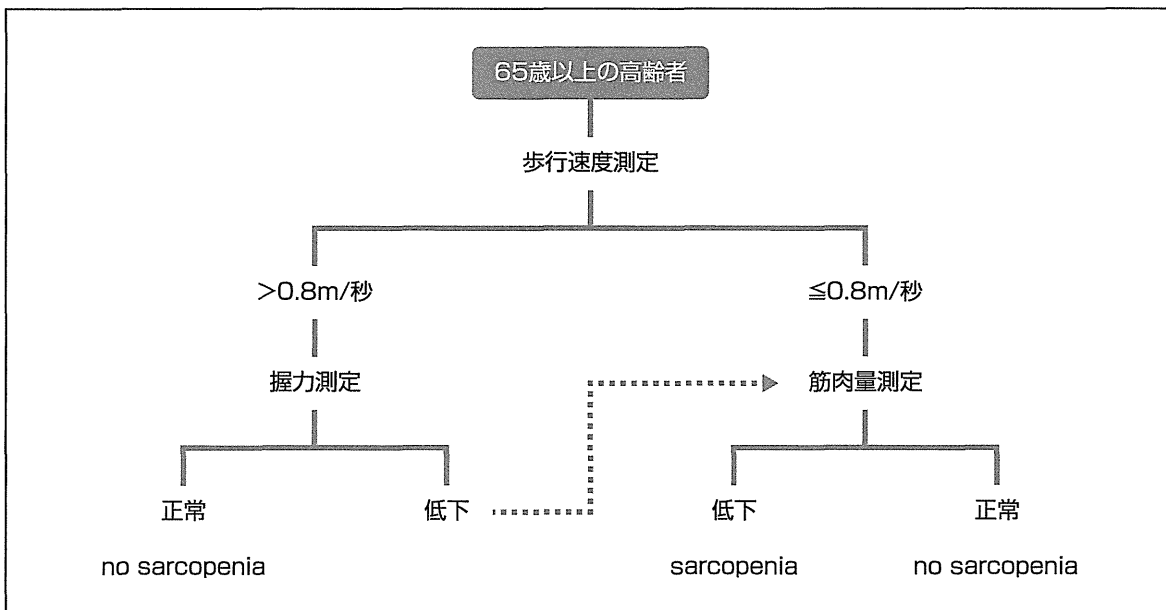
1. 筋肉量減少
2. 筋力低下
3. 身体能力の低下
診断は項目1に加え項目2または項目3をあわせ持つ場合。

(文献3より引用, 一部改変)

表・2 サルコペニアのステージ分類

ステージ	筋肉量	筋力	身体能力
プレサルコペニア	↓		
サルコペニア	↓	↓ or ↓	↓
高度サルコペニア	↓	↓	↓

(文献3より引用, 一部改変)



図・1 高齢者サルコペニア診断のアルゴリズム(EWGSOP)

(文献3より引用, 一部改変)

アとしている。このなかで「疾患」によるものは悪液質(cachexia)を指しており, 悪液質による筋肉萎縮もサルコペニアの一部であるとしている。

## 2

### サルコペニアの病態とアウトカム

骨格筋は, 加齢とともにその筋線維数が減少するだけでなく, 一つ一つの筋線維自体も萎縮する。おもに減少する筋線維はタイプII筋線維で, 速筋と言わ

れるものである。しかし、最近ではタイプIIだけでなく、80歳を超えるとタイプI筋線維も同様に減少してくるとする報告も多い。興味あることに、四肢骨格筋の加齢にともなう減少は、上肢よりも下肢でより著しいと報告されている。原発性のサルコペニアの病態については、なお不明な部分が多いが、表・3のような多数の因子が関わっている可能性が指摘されている。筋肉での蛋白質合成と分解のバランスは筋線維のサイズに影響するが、高齢者では蛋白同化反応が成人に比較して低下しているとされる<sup>4)</sup>。さらには、高齢者での蛋白質摂取不足が基盤に存在することも、サルコペニアの一要因であると考えられている<sup>4)</sup>。サルコペニアの存在が将来の身体機能障害、移動能力障害、さらには転倒の大きなリスクになっていることが、多数の報告により蓄積されている。

表・3 サルコペニアの要因候補

身体活動度の低下
栄養(蛋白質)不足
骨格筋幹細胞(衛星細胞)の減少
神経・筋接合不全
酸化ストレス
炎症(TNF- $\alpha$ , IL-6) $\uparrow$
ホルモン(GH, IGF-1, DHEA) $\downarrow$
インスリン抵抗性
ミトコンドリア機能低下
apoptosis
ビタミンD $\downarrow$ , 副甲状腺ホルモン $\uparrow$
筋肉血流 $\downarrow$

TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$   
 IL-6: interleukin-6  
 GH: growth hormone  
 IGF-1: insulin-like growth factor-1  
 DHEAS: dehydroepiandrosterone sulfate

3

## 糖代謝とサルコペニア

糖尿病、インスリン抵抗性とサルコペニアとの関係については、これまで多くの報告がなされてきた。たとえば、高齢糖尿病患者では、非糖尿病患者に比較し、身体機能障害を抱える確率が高いことが、多くの疫学調査から報告されている。糖尿病を持つ高齢患者では、非糖尿病患者に比較し、下肢筋肉量、筋力が有意に低下しており、種々の因子で調整しても歩行速度が遅い<sup>5)</sup>。さらに糖尿病罹患期間が長いほど筋肉量、筋力が低下していることが、多数の横断的な調査で報告されている。縦断的な調査でも、糖尿病患者、とくに高齢女性では、骨格筋量の減少が非糖尿病患者に比較して著しい<sup>6)</sup>。

インスリン抵抗性に関しては、横断的にもまた縦断的観察研究においてもインスリン抵抗性の存在と骨格筋量減少との関係が報告されている<sup>7)</sup>。さらに、糖尿病治療薬との関連の報告があり、65歳以上の高齢男性の3.5年間の観察研究では、糖尿病罹患患者では四肢骨格筋量の減少が大きいが、インスリン抵抗性の改善薬であるメトホルミンやチアゾリジン系薬剤の使用者は、むしろ非糖尿病男性よりも骨格筋量の減少が軽微であると報告されている<sup>8)</sup>。

インスリンは重要な筋蛋白の同化刺激作用を持ち、インスリン抵抗性の存在はインスリン受容体を介するシグナル伝達の抑制により、骨格筋蛋白質の合成に必須なAKT $\Rightarrow$ mTOR(mammalian target of rapamycin)経路を抑制する。これらの経路を介するシグナルは筋蛋白同化に必須であり、インスリン抵抗性の存在により蛋白合成系の抑制がかかることがその一因として考えられる。さらに、インスリン抵抗性ではユビキチン・プレテオゾーム系を介する筋肉蛋白質の分解も亢進しているとの報告がある。興味深いことにインスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジンにより、その分解は抑制される<sup>9)</sup>。またmTOR経路の活性はオートファジーを抑制し、リソゾームでの蛋白質や細

胞微細構造物の分解を抑制する。インスリン抵抗性の存在はこの抑制がはずれ、オートファジーを促進しているのかもしれない。それ以外に糖尿病患者の骨格筋のミトコンドリアは萎縮しており、十分なミトコンドリア活性を有していないとの報告があり、ミトコンドリア活性の低下した筋肉は代謝が減弱し萎縮につながる<sup>10)</sup>。

## おわりに

欧米ではサルコペニア肥満の存在が注目されており、単なるサルコペニアよりも身体機能障害、健康障害のリスクがより高いことが報告されている。すなわち、同じBMIであったとしてもその内容が重要で、骨格筋が萎縮し、それに置き換わるように脂肪が大量に蓄積することで重篤な健康障害の原因になるという。ただ、BMI $\geq$ 30kg/m<sup>2</sup>の全国民の割合が30%以上ある国と日本人とを同等に扱うことはできず、今後日本の高齢者での検討が必要である。

## 文献

- 1) Rosenberg IH: Summary comments. Am J Clin Nutr 50: 1231-1233, 1989
- 2) 葛谷雅文: 老年医学におけるSarcopenia & Frailtyの重要性. 日老医誌 46: 279-285, 2009
- 3) Cruz-Jentoft AJ et al: Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. Age Ageing 39(4): 412-423, 2010
- 4) 葛谷雅文: 高齢者. 日本人の食事摂取基準2015年度版. 菱田明, 佐々木敏監修. 東京, 第一出版, 2014, pp373-396
- 5) Volpato S et al: Role of muscle mass and muscle quality in the association between diabetes and gait speed. Diabetes Care 35(8): 1672-1679, 2012
- 6) Park SW et al: Health, Aging, and Body Composition Study. Excessive loss of skeletal muscle mass in older adults with type 2 diabetes. Diabetes Care. 32(11): 1993-1997, 2009
- 7) Alemán-Mateo H et al: Association between insulin resistance and low relative appendicular skeletal muscle mass: evidence from a cohort study in community-dwelling older men and women participants. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 69(7): 871-877, 2014
- 8) Lee CG et al(Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group): Insulin sensitizers may attenuate lean mass loss in older men with diabetes. Diabetes Care 34(11): 2381-2386, 2011
- 9) Wang X et al: Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. Endocrinology 147(2): 4160-4168, 2006
- 10) Kelley DE et al: Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. Diabetes 51(10): 2944-2950, 2002

## Profile

### 葛谷 雅文 くすや まさふみ

1989年名古屋大学大学院卒業, 1991年米国立老化研究所研究員, 1999年名古屋大学医学部老年科講師, 2002年助教授, 2011年名古屋大学大学院医学系研究科地域在宅医療学老年科学教授。2013年より名古屋大学予防早期医療創成センター教授(兼務), 2014年より名古屋大学未来社会創造機構教授。専門: 老年医学, 代謝, 栄養, 動脈硬化, 認知症など。

## 7 栄養から見たフレイルの病態生理

葛谷 雅文\*

### ポイント

- フレイルと栄養とは密接に関連している。
- カロリー、タンパク質、ならびに微量栄養素とフレイルの関係が報告されている。
- フレイルに対する栄養の介入研究はまだ乏しく、今後の研究が望まれる。



キーワード フレイル, 栄養, エネルギー, 微量栄養素

\*名古屋大学大学院医学系研究科 地域在宅医療学老年科学

### ●フレイルの診断における栄養の位置付け

フレイルの歴史は他項で述べられるので詳細は省くが、BuchnerとWagnerは1992年にフレイルを初めて「体の予備力が低下し、身体機能障害に陥りやすい状態」とし、障害のすでにある状態とは明確に区別し、activities of daily life (ADL) 障害の前段階として定義づけた<sup>1)</sup>。これらは身体的フレイルの概念として「加齢に伴う症候群として、多臓器にわたる生理的機能低下やホメオスターシス（恒常性）低下、身体活動性、健康状態

を維持するためのエネルギー予備能の欠乏を基盤として、種々のストレスに対して身体機能障害や健康障害を起こしやすい状態」が基盤に存在する。それ以降、種々のフレイルの診断基準が報告されてはいるが、基本的コンセプトとして、身体機能維持、健康状態を維持するための恒常性や「エネルギー予備能」の欠如が根底にある（図1）。1997年にCampbellとBuchnerはフレイルの評価として、①骨格筋機能、②持久力、③認知機能、④栄養状態評価、の4つの重要性を提案した<sup>2)</sup>。この時点で、すでに栄養状態とフレイルと

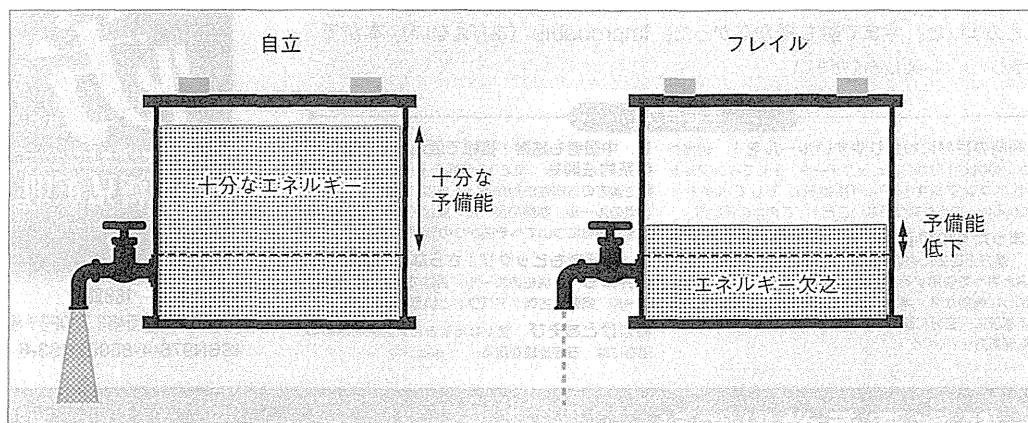


図1 フレイルとエネルギー不足



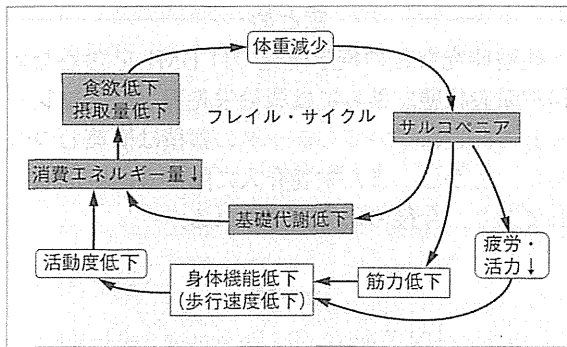


図 2 フレイルサイクル

(Xue QL, et al. : J Gerontol A Biol Sci Med Sci 63 : 984-990, 2008<sup>4)</sup>を改竄)

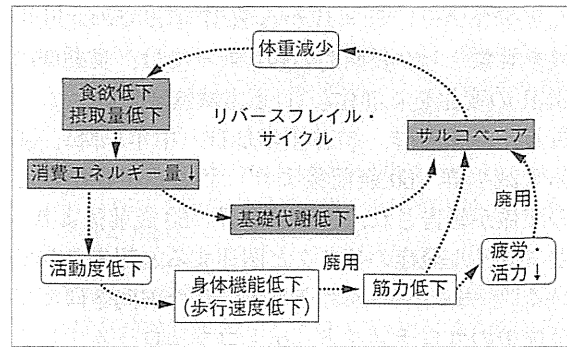


図 3 リバースフレイルサイクル

の関係がクローズアップされていた。「エネルギー」は必ずしも栄養状態自体を指しているわけではないが、「エネルギー」をヒトにとっての何らかの身体的動作、または生命維持に必要な「パワー」の源として捉えると、フレイルの概念の本質にヒトの栄養状態が存在すると考えられる。

その後 Fried らは身体的 frailty の定義として、① 体重減少、② 疲労感、③ 活動量低下、④ 緩慢さ（歩行速度低下）、⑤ 虚弱（握力低下）、の 5 項目を診断基準として、3 つ以上に当てはまる場合はフレイルとして診断し、1 つまたは 2 つ該当する場合はフレイル前段階とした<sup>3)</sup>。このフェノタイプは明らかに先の 3 年間に起こる転倒、移動障害、日常生活動作障害、入院、生命予後に関連していることが明らかにされた。Fried らはさらにこのフレイルをサルコペニア、予備力低下（恒常性低下）と関連させる理論を提示した<sup>4)</sup>。すなわち、図 2 に示すような、摂取量低下（食欲低下）が体重減少を起し、低栄養状態がサルコペニアを誘導、さらにはサルコペニアにより疲労度（活力低下）ならびに筋力低下が引き起こされ、その後身体機能低下、活動度の低下に連なるフレイル・サイクルを提唱した。またサルコペニア、すなわち骨格筋量低下により基礎代謝自体が低下し、それにより活動量の低下も加わり、消費エネルギー量の低下を伴い、さらに摂食量が低下するという悪循環のサイクルを報告している<sup>5)</sup>。このサイクルの提案から、フレイルは明らかに摂取カ

ロリーや、消費エネルギー量、基礎代謝などと密接にかかわり、栄養とは切り離せないものであることがわかる。

一方で、Fried らのオリジナルにはないが、このサイクルは右回りだけではなく、左回りに関連性を見出すこともできる（リバース・フレイル・サイクル）。摂取量の低下により体はエネルギー保持に働き活動度が低下することが報告されている<sup>5)</sup>。これは体重維持をするための恒常反応によるものと思われるが、活動度の低下によりサルコペニアに導かれる関係が見出される（図 3）。いずれにしろ、栄養とフレイルとが密接にかかわっていることを示唆している。

### ● 栄養状態、栄養素とフレイルの関係

栄養状態とフレイルとの横断的な報告は複数存在し、低 BMI ならびに低カロリー摂取はフレイルとの関連を認めている<sup>6-8)</sup>。例えば  $\leq 21$  kcal/kg 体重/日の摂取カロリーだと  $> 21$  kcal/kg 体重/日摂取している対照群に比較し 1.24 倍フレイルのリスクが高く、摂取エネルギーで調整しても、タンパク質摂取量、ビタミン D、E、C ならびに葉酸摂取量の低下は有意にフレイルと関連していた<sup>7)</sup>。日本からも高齢女性を対象とした横断調査が報告され、摂取タンパク質量が低いことがフレイルとの関連性を認めている<sup>9)</sup>。しかし、前向き研究で栄養とフレイルの関係を検討した報告は意

外と少ない。1970年代から2007年までの北欧男性を対象とした長期間の観察研究では、長期間のBMIの変化を4群化し①正常域無変化群、②一貫した過体重群、③体重増加群（中年以降）、④体重減少群（60歳前後より）とフレイル出現との関係が報告され、体重減少群（60歳前後より）がフレイル発症のリスクと関連すると報告されている<sup>10)</sup>。また、高齢者を対象にした前向き研究では血中のカロチノイド、 $\alpha$ トコフェロール、ビタミンD [25 (OH) D] などの欠乏がフレイルの出現と関連していることが報告されている<sup>11, 12)</sup>。表に横断研究、縦断研究を含めフレイルとの関係が指摘されている微量栄養素を提示した。

フレイルをターゲットとした栄養介入も限られており、サルコペニアに比較するとまだトライアル自体が少なく、十分なエビデンスの蓄積が構築されたとはまだ言えない。

一方で、肥満（BMI高値）とフレイルとの関連についても多くの報告があり、BMIとフレイルとの関連はU-shapeを呈するという報告が多い<sup>13, 14)</sup>。しかし、これらはすべて欧米からの報告であり、BMIも30 kg/m<sup>2</sup>、35 kg/m<sup>2</sup>以上の高度肥満群でフレイルとの関係が報告されている。またBMI $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>のフレイルと診断された要因はFriedの診断の体重減少以外の項目で診断されている。日本の高齢者ではなかなか遭遇しないような高度肥満であり、この肥満高齢者のフレイルとの関連が日本の高齢者にも通用するかどうかは疑問ではある。

観察研究などの疫学研究ではBMIを含めた体格や栄養状態、さらには微量栄養素などとフレイルとの関連についてのデータの蓄積は構築しつつある。しかし、また栄養介入に関する研究は限られており、今後の研究が待たれる。

文 献

- 1) Buchner DM, Wagner EH : Preventing frail health. Clin Geriatr Med 8 : 1-17, 1992
- 2) Campbell AJ, Buchner DM : Unstable disability and the fluctuations of frailty. Age Ageing 26 : 315-318, 1997
- 3) Fried LP, Tangen CM, Walston J, et al. : Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. Frailty in older adults : evidence for a phenotype. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 56 : M146-156, 2001
- 4) Xue QL, Bandeen-Roche K, Varadhan R, et al. : Initial manifestations of frailty criteria and the development of frailty phenotype in the Women's Health and Aging Study II. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 63 : 984-990, 2008
- 5) Martin CK, Das SK, Lindblad L, et al. : Effect of calorie restriction on the free-living physical activity levels of nonobese humans : results of three randomized trials. J Appl Physiol (1985) 110 : 956-963, 2011
- 6) Hubbard RE, Lang IA, Llewellyn DJ, et al. : Frailty, body mass index, and abdominal obesity in older people. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 65 : 377-381, 2010
- 7) Bartali B, Frongillo EA, Bandinelli S, et al. : Low nutrient intake is an essential component of frailty in older persons. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 61 : 589-593, 2006
- 8) Smit E, Winters-Stone KM, Loprinzi PD, et al. : Lower nutritional status and higher food insufficiency in frail older US adults. Br J Nutr 110 : 172-178, 2013
- 9) Kobayashi S, Asakura K, Suga H, et al. : High protein intake is associated with low prevalence of frailty among old Japanese women : a multicenter cross-sectional study. Nutr J 12 : 164, 2013
- 10) Strandberg TE, Stenholm S, Strandberg AY, et al. : The "obesity paradox," frailty, disability, and mortality in older men : a prospective, longitudinal cohort study. Am J Epidemiol 178 : 1452-1460, 2013
- 11) Semba RD, Bartali B, Zhou J, et al. : Low serum micronutrient concentrations predict frailty among older women living in the community. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 61 : 594-599, 2006
- 12) Wong YY, McCaul KA, Yeap BB, et al. : Low vitamin D status is an independent predictor of increased frailty and all-cause mortality in older men : the Health in Men Study. J Clin Endocrinol Metab 98(9) : 3821-3828, 2013
- 13) Blaum CS, Xue QL, Michelon E, et al. : The association

表 フレイルとの関係が報告されている微量栄養素

微量栄養素	文献番号
carotenoids	7), 11), 15)
$\alpha$ -tocopherol (Vitamin E)	7), 11), 15)
25-hydroxyvitamin D (Vitamin D)	7), 11), 12), 15), 16), 17), 19)
Vitamin B <sub>6</sub>	13)
Vitamin B <sub>12</sub>	18)

- between obesity and the frailty syndrome in older women : the Women's Health and Aging Studies. *J Am Geriatr Soc* 53 : 927-934, 2005
- 14) Hubbard RE, Lang IA, Llewellyn DJ, et al. : Frailty, body mass index, and abdominal obesity in older people. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65 : 377-381, 2010
- 15) Michelon E, Blaum C, Semba RD, et al. : Vitamin and carotenoid status in older women : associations with the frailty syndrome. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61 : 600-607, 2006
- 16) Ensrud KE, Ewing SK, Fredman L, et al. : Circulating 25-hydroxyvitamin D levels and frailty status in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 95 : 5266-5273, 2010
- 17) Shardell M, Hicks GE, Miller RR, et al. : Association of low vitamin D levels with the frailty syndrome in men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64 : 69-75, 2009
- 18) Matteini AM, Walston JD, Fallin MD, et al. : Markers of B-vitamin deficiency and frailty in older women. *J Nutr Health Aging* 12 : 303-308, 2008
- 19) Ensrud KE, Blackwell TL, Cauley JA, et al. : Circulating 25-hydroxyvitamin D levels and frailty in older men : the osteoporotic fractures in men study. *J Am Geriatr Soc* 59 : 101-106, 2011

RESEARCH ARTICLE

# Intermittent High Glucose Implements Stress-Induced Senescence in Human Vascular Endothelial Cells: Role of Superoxide Production by NADPH Oxidase

Morihiko Maeda<sup>1</sup>, Toshio Hayashi<sup>1\*</sup>, Natsumi Mizuno<sup>2</sup>, Yuichi Hattori<sup>2</sup>, Masafumi Kuzuya<sup>1</sup>

**1** Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466–8550, Japan, **2** Department of Molecular and Medical Pharmacology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Toyama 930–0194, Japan

\* hayashi@med.nagoya-u.ac.jp



OPEN ACCESS

**Citation:** Maeda M, Hayashi T, Mizuno N, Hattori Y, Kuzuya M (2015) Intermittent High Glucose Implements Stress-Induced Senescence in Human Vascular Endothelial Cells: Role of Superoxide Production by NADPH Oxidase. PLoS ONE 10(4): e0123169. doi:10.1371/journal.pone.0123169

**Academic Editor:** Gabriele Saretzki, University of Newcastle, UNITED KINGDOM

**Received:** September 10, 2014

**Accepted:** February 24, 2015

**Published:** April 16, 2015

**Copyright:** © 2015 Maeda et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper.

**Funding:** This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan No. 24590881. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

## Abstract

Impaired glucose tolerance characterized by postprandial hyperglycemia, which occurs frequently in elderly persons and represents an important preliminary step in diabetes mellitus, poses an independent risk factor for the development of atherosclerosis. Endothelial cellular senescence is reported to precede atherosclerosis. We reported that continuous high glucose stimulus causes endothelial senescence more markedly than hypertension or dyslipidemia stimulus. In the present study, we evaluated the effect of fluctuating glucose levels on human endothelial senescence. Constant high glucose increased senescence-associated- $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -gal) activity, a widely used marker for cellular senescence. Interestingly, in intermittent high glucose, this effect was more pronounced as well as increase of p21 and p16<sup>INK4a</sup>, senescence related proteins with DNA damage. However, telomerase was not activated and telomere length was not shortened, thus stress-induced senescence was shown. However, constant high glucose activated telomerase and shortened telomere length, which suggested replicative senescence. Intermittent but not constant high glucose strikingly up-regulated the expression of p22<sup>phox</sup>, an NADPH oxidase component, increasing superoxide. The small interfering RNA of p22<sup>phox</sup> undermined the increase in SA- $\beta$ -gal activity induced by intermittent high glucose. Conclusively, intermittent high glucose can promote vascular endothelial senescence more than constant high glucose, which is in partially dependent on superoxide overproduction.

## Introduction

Senescence of vascular endothelial cells is an important contributor to the pathogenesis of human atherosclerosis [1]. Numerous studies have shown that the senescent phenotype of endothelial cells can be transformed from anti-atherosclerotic to pro-atherosclerotic [2]. We have provided evidence that senescent endothelial cells are found in human atherosclerotic lesions