老化制御シグナルを標的としたアンチエイジング物質開発の可能性

Development of Anti-aging Compounds that Target Potential Aging Control Signaling Pathways

王 梓

早稲田大学人間科学学術院
基礎老化学研究室
〒 359-1192
埼玉県所沢市三ヶ島 2-579-15

Zi WANG
Biomedical Gerontology Laboratory,
Faculty of Human Sciences, Waseda
University
2-579-15, Mikajima, Tokorozawa,
359-1192 Japan

千葉 卓哉

早稲田大学人間科学学術院
基礎老化学研究室
〒 359-1192
埼玉県所沢市三ヶ島 2-579-15

Takuya CHIBA
Biomedical Gerontology Laboratory,
Faculty of Human Sciences, Waseda
University
2-579-15, Mikajima, Tokorozawa,
359-1192 Japan

大畑 佳久

早稲田大学人間科学学術院
基礎老化学研究室
〒 359-1192
埼玉県所沢市三ヶ島 2-579-15

Yoshihisa OHATA
Biomedical Gerontology Laboratory,
Faculty of Human Sciences, Waseda
University
2-579-15, Mikajima, Tokorozawa,
359-1192 Japan

論文要旨：老化や寿命は、環境などに影響される確率的な要素が大きいと考えられていたため、遺伝学や分子生物学の研究対象として扱われるようになるのが発生学などと比べて遅れていた。しかし近年、モデル生物や高等生物をもちいた寿命研究が精力的に行われ、いくつかの老化制御シグナルが複数の生物種に共通して存在していることが明らかとなっていった。それらはインスリン／インスリン様成長因子-1 (insulin/insulin-like growth factor-1: IGF-1), sirtuin 1 (SIRT1), mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路などである。さらに、これらの細胞内シグナル伝達経路を標的として、実験動物の寿命を延長させる物質がいくつか報告されている。それらの物質は、カロリー制限による寿命延長効果を模倣する物質としても知られている。米国では、そのような物質の一つをもちいて抗老化薬としての大規模なヒト臨床試験が行われており、数年後にはその結果が報告されることになっている。本稿では、上記のこれまでに明らかになっている老化制御シグナル、およびその制御物質について概説するとともに、植物由来の機能性成分の中で老化制御因子として注目されている物質について紹介する。

Abstract: Aging and lifespan have long been considered “probabilistic events”. Therefore, it has taken longer for researchers to apply genetic and molecular biological approaches to aging than to other life science fields, such as developmental biology. However, several aging control signals have recently been reported, not only in lower organisms but also in higher organisms. These signals, which include insulin/insulin-like growth factor-1 (IGF-1), sirtuin 1 (SIRT1) and, mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathways, appear to be evolutionally conserved among these organisms. Moreover, several compounds have been reported to extend the lifespan of these experimental animals. Most of these compounds are calorie restriction mimetics, i.e. they mimic the anti-aging effects of calorie restriction without actual dietary restriction. In the United States, there is a large-scale human clinical trial in progress for one of those compounds, the results of which will be apparent over several years. In this report, we discuss the aforementioned aging control signals and anti-aging compounds that extend the lifespan of experimental animals. Further, we discuss how phytochemicals have the potential to act as anti-aging compounds by modulating the aging control signals.

Key words: longevity, aging control signal, anti-aging compounds, calorie restriction mimetics, functional foods

1 はじめに

老化は発生のように厳密にプログラムされた生命現象ではなく、確率的な事象として捉えられていたため、老化のメカニズムに関する分子レベルでの解析や検証は限定された条件で実施された研究が多かった。しかし、1990年代後半に入り、単一遺伝子の変異による実験動物の寿命の短縮、さらには寿命の延長が相次いで報告されるようになり、寿命や老化の制御が遺伝学的に可能であることが明らかとなってきた。一方で、実験動物に与える餌を30%程度制限する、カロリー制限 (calorie restriction: CR) によって寿命の延長や様々な加齢性疾患の発症が抑制されることは、1930年代からラットをもちいた研究によって報告されていた¹⁾。興味深いことに、線虫などの下等生物からマウスに至るまで、寿命を制御する遺伝子の発現を調節するシグナル伝達系は、CRによっても活性が制御されることが次々と報告されてきた²⁾。それらの経路は、3つのシグナル伝達経路、すなわちインスリン/インスリン様成長因子-1 (insulin/IGF-1) 経路、SIRT1 経路、mTOR 経路に集約され、酸化ストレス、オートファジー、細胞増殖などの制御に深く関与しているシグナルであることが明らかとなっている³⁾。

上記のシグナル伝達系に関わるタンパク質は、当初は老化とは直接関係の無い、成長や細胞増殖制御シグナルなどとして独自に解明が進んできたが、後に生物の老化制御シグナルとして重要な役割を持つことが明らかとなった。また、これらのシグナル伝達系に作用する化合物も、当初は糖尿病やがんなどの特定の疾患に対する治療薬などとして開発されてきたものであった。その後、そのような化合物の多くはCRによる寿命延長効果に関わるシグナル伝達系にも作用することが明らかとなり、

それらの化合物を投与することによって実験動物の老化を遅延し、寿命を延長させることが確認された。ヒトが長期間CRを実施することは困難であることから、実際に食事を制限すること無く、CRの抗老化効果を模倣する物質、すなわちカロリー制限模倣物の探索が現在世界中で精力的に研究されており、上述のシグナル系に作用する化合物はカロリー制限模倣物の有力な候補物質でもある。本稿では、これまでに明らかとなっている老化制御シグナル伝達系とその制御物質、および比較的身近な食品に含まれる抗老化物質の候補について概説する。

2 Insulin/IGF-1 経路

単一遺伝子の変異による寿命延長は、線虫における *age-1* 遺伝子の発見に始まり、その後も数多く報告されてきた。Insulin/IGF-1 シグナル経路は、高栄養状態で活性化されると、Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) が活性化され、その下流にある細胞周期、タンパク質合成、細胞修復、そしてアポトーシスなどの機能を制御する AKT シグナルが活性化される⁴⁾。AKT の活性化は、p21 や p27 などの細胞周期を停止させるタンパク質の機能を負に制御する。また、酸化ストレス防御に重要な役割を持つ転写因子 Forkhead box O (FOXO) ファミリータンパク質をリン酸化し、細胞外に移行させることでその活性を阻害する⁵⁾。

線虫における長寿変異体 *daf-2*, *age-1*, *daf-16* はそれぞれ哺乳類における insulin/IGF-1 受容体 (IR/IGF-1R), PI3K, FOXO に相当する遺伝子をコードしており、これらの分子は同じシグナル伝達経路に存在していることが明らかとなっている⁶⁾。寿命研究によくもちいられるモデル生物であるショウジョウバエにおいても、insulin/IGF-1 系のシグナル伝達は線虫やマウスと同源性が高く、進化的に保存された寿命制御シグナルが存在す

Fig. 1 寿命および老化研究にもちいられるモデル生物における寿命制御シグナルの共通性。
↓は活性化, ⊥は不活性化を表す。

ることが示唆された (Fig. 1)。FOXO はこれらの生物種において、ストレス応答や細胞増殖、糖および脂質代謝の制御などに関与している。我々は FOXO1 および FOXO3A が CR による寿命延長作用に重要な役割を持つことを、遺伝子改変マウスをもちいた研究で明らかにしてきた^{7, 8)}。細胞増殖制御などの基本的な生物学的メカニズムは、線虫から哺乳類に至るまで、進化的に高度に保存されている。複雑かつ確率的な事象に思える老化現象も、その基本的なメカニズムは insulin/IGF-1 シグナルを中心として進化させてきたとしても不思議ではない。

進化生物学的には、CR に対する生体の反応は飢餓時における生体の防御反応として進化してきたと考えられている⁹⁾。Holliday らは、個体の生存や生体の維持に重要な機能として、損傷を受けた細胞や DNA の除去と新生、タンパク質の正確な折りたたみと異常タンパク質の分解、活性酸素種の除去、解毒機構、体温の制御などをあげている。これらの生体調節機能には、insulin/IGF-1 系および CR によって制御される遺伝子の発現や機能調節が深く関与している¹⁰⁾。

このように、insulin/IGF-1 系は生物の寿命制御に非常に重要な働きを持っており、CR の抗老化効果とも関連が深い。しかし、CR 動物の寿命延長には insulin/IGF-1 系以外にも、別の重要なメカニズムが存在していることが示唆されている。それらのシグナル系は、以下に示す SIRT1 経路と mTOR 経路である。

3 SIRT1 経路

サーチュインの老化制御遺伝子としての研究は、酵母における *Sir2* 遺伝子の研究から始まり、*Sir2* の活性化と酵母の寿命には強い関連性があることが示されてきた。*Sir2* 遺伝子は真核生物において高度に保存されて

おり、哺乳類においては SIRT1 から SIRT7 まで 7 つのタンパク質ファミリーとして存在する。酵母の *Sir2* と相同性が高いのは SIRT1 であり、最も研究が進んでいる。

SIRT1 の活性化には、補酵素として働く NAD⁺ が関与しており、SIRT1 は NAD⁺ 依存性の脱アセチル化酵素として機能していることが明らかにされた¹¹⁾。サーチュインファミリーは食物不足時において脳の視床下部を介した適応応答を制御していることが明らかとなり、低栄養の条件では、AMP-activated protein kinase (AMPK) が活性化し、NAD⁺ 量が増加し、それに伴い SIRT1 経路が活性化されることが明らかにされている¹²⁾。このことは、SIRT1 が CR の抗老化作用にも関与していることを示唆している。

SIRT1 の発現上昇は、酸化ストレスを抑制する酵素である catalase, superoxide dismutase (SOD) などを活性化し、さらに過度の細胞増殖や遺伝子翻訳を抑制することで、老化関連疾患の発症を抑制や寿命延長作用を持つことが明らかとなった¹³⁾。さらに、SIRT1 による抗老化作用には、Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α) の活性化による脂肪酸酸化の亢進や¹⁴⁾、ミトコンドリア機能の亢進、FOXO1 を介した DNA 修復能の活性化¹⁵⁾、さらにオートファジーの活性化¹⁶⁾、などが関与していると示唆されている。

また最近、SIRT1 は時計遺伝子 *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput* (CLOCK) の標的タンパク質である BMAL1 を周期的に脱アセチル化し、概日リズムを制御していることが明らかとなり、さらにこのことは CR による寿命延長と深く関連していることが示された¹⁷⁾。これらの結果から、NAD⁺ の量を増加させる物質がカロリー制限模倣効果による抗老化物質として作用することが示唆され、そのような機能を持つ物質として nicotinamide mononucleotide (NMN) の研究開発が進められている¹⁸⁾。

4 mTOR 経路

mTOR 経路は、タンパク質合成、脂質合成、脂肪細胞分化、糖代謝、オートファジーなどを制御しており、老化制御にも重要な役割を有している¹⁹⁾。mTOR には mTOR Complex 1 (mTORC1), mTOR Complex 2 (mTORC2) の 2 つの複合体が存在する。mTORC1 は mTOR および regulatory-associated protein of mTOR (Raptor), mammalian lethal with Sec13 protein 8 (mLST8), prolinerich AKT substrate 40 kDa (PRAS40), DEP-domain-containing mTOR-interacting protein (Dep-

tor) から構成され, Raptor が複合体の活性を調節し, PRAS40 が AKT と mTORC1 の結合を阻害することによって mTORC1 の活性を抑制する。インスリンシグナル系が活性化されている状態では, AKT が活性化され, mTORC1 経路が亢進される²⁰⁾。一方, 低栄養状態では AMPK によって mTORC1 活性が抑制される。また, mTORC1 経路は免疫機能を抑制する抗がん剤であるラパマイシンの投与によっても不活性される²¹⁾。

mTORC1 が活性化された場合, タンパク質合成に重要な Ribosomal protein S6 kinase (S6K1) や脂質合成に重要な Sterol regulatory element-binding transcription factor 1 (SREBF1) が活性化され, タンパク質や脂質の合成が促進され, ミトコンドリアにおけるエネルギー生産が亢進する²²⁾。また, mTORC1 経路を介したオートファジーの阻害によっては損傷タンパク質の蓄積が亢進し, 発がんリスクが増加することが報告されている²³⁾。したがって, mTORC1 経路の活性化では無く, 抑制によって寿命の延長, 抗老化作用を発揮することが示唆され, 実際に mTORC1 経路の阻害により酵母, 線虫, ショウジョウバエ, そしてマウスの寿命を延長させることが報告されている²⁴⁾。

5 カロリー制限模倣物

これまでに述べた3つの主要な老化制御シグナル伝達系をコントロールすることによって, 生物種を超えて寿命延長作用が見られる化合物を Fig. 2 に示した (文献 25 より改変)。

5・1 レスベラトロール

レスベラトロールはブドウの皮などに含まれるポリフェノール的一种であるが, SIRT1 活性化剤として働き, 寿命制御シグナルを標的とした抗老化物質として注目された。線虫, ショウジョウバエではレスベラトロールの

投与によってそれぞれ 18%, 29% の寿命延長効果が見られた (Fig. 2)。また, 高カロリー食を投与されたマウスにレスベラトロールを同時に投与すると, 31% の寿命延長 (高カロリー食による寿命短縮の抑制) が見られた²⁶⁾。しかし, 通常食を与えているマウスにレスベラトロールを投与した場合は, CR と似た遺伝子発現パターンを示すことや, 血管の弾力性が維持され, 運動能の低下や白内障の発症が抑制されるなどの抗老化作用が見られたが, 寿命の延長は見られなかった²⁷⁾。

5・2 ラパマイシン

高カロリー食では無く, 通常食に添加してマウスの寿命をはじめて延長させた物質は, 免疫抑制剤のラパマイシンである²⁸⁾。線虫, ショウジョウバエに対するラパマイシンの投与では, それぞれ 19%, 26% の寿命延長作用が見られ, マウスに対しては, 20 ヶ月齢から投与を開始しても, 30% 近い寿命延長効果が見られた (Fig. 2)。ラパマイシンを投与されたマウスは, mTORC1 が抑制され, その下流に存在する S6K のリン酸化レベルが減少した。S6K のノックアウトマウスは加齢に伴う免疫機能の低下が抑制され, 寿命の延長も見られることが報告されている²⁹⁾。

ラパマイシンを投与されたマウスは, 心臓をはじめとして各種臓器の加齢変化が抑制されることが示された。しかし, インスリン抵抗性の出現や白内障の発症などの副作用も報告されている。インスリン抵抗性は mTORC2 の阻害によるものであることが示唆されており, mTORC1 に対してより選択性の高い mTOR 阻害剤の開発が進めば, 抗老化物質としてさらに注目される可能性がある。

5・3 メトホルミン

メトホルミンは, 欧米においては 2 型糖尿病に対する治療薬として広くもちいられてきた。メトホルミンは

Substance	Mechanism of action	<i>C.elegans</i>	<i>D. melanogaster</i>	<i>Mus musculus</i>

Resveratrol	Calorie restriction mimetics	18%	29%	31%*1
Rapamycin	Calorie restriction mimetics	19%	26%	26%
Metformin	Calorie restriction mimetics	36%	17%*2	38%
Spermidine	Autophagy induction	15%	30%	25%*3

Fig. 2 生物種を超えて寿命延長作用が見られた化合物 (文献 25 より改変)。

*1 高カロリー食投与による寿命の短縮を抑制した²⁶⁾。通常食では寿命延長作用は見られなかった²⁷⁾。

*2 4% amylose starch diet をもちいた研究において寿命の短縮を抑制した³⁰⁾。

*3 心機能保護作用による寿命延長作用が見られた³³⁾。

AMPKの活性化を介し、糖新生の抑制のみならず、中性脂肪、コレステロールの合成を抑制し、脂質代謝も改善する。メトホルミン投与によって線虫では36%寿命が延長し、ショウジョウバエでは、4% amylose starch diet をもちいた実験においては、17%の寿命延長効果が見られた³⁰⁾ (Fig. 2)。マウスに対しては、メトホルミンを含む飼料を投与すると、40%近い寿命延長効果が見られたことが報告されている³¹⁾。

メトホルミンを投与されたマウスは、インスリン感受性の増強や血中LDL-コレステロールの減少など、CRと類似した代謝の変化を示した。さらに、抗酸化活性の亢進により酸化傷害および慢性炎症反応の低下も認められた。現在、メトホルミンによる寿命延長効果について、大規模なヒト臨床試験が米国において行われている。2022年頃には、メトホルミン、ひいてはカロリー制限模倣物がヒトの寿命や老化の進行に対してどのような影響を与えるかについて明らかになると予想される。

5・4 スペルミジン

ポリアミンであるスペルミジンは、線虫、ショウジョウバエの寿命をそれぞれ15%、30%増加させることが報告されている (Fig. 2)。最近、マウスをもちいた研究においても、スペルミジンを経口投与することによって寿命が25%延長したと報告された³²⁾。このスペルミジ

ンによる寿命延長作用は、Atg5を介したオートファジー制御機構の活性化による心臓保護作用が関与していることが示唆されている。SIRT1およびmTORC1経路もオートファジー活性制御に関わることから、寿命制御におけるオートファジー活性の重要性が示唆される。このことはまた、スベルミジンも一部、カロリー制限模倣効果によって寿命延長作用を発揮することを示唆している。

6 抗老化物質の開発標的となる老化制御シグナル

これまで述べてきた老化制御シグナルである、insulin/IGF-1経路、SIRT1経路、mTORC1経路は、細胞内でシグナルのクロストークを行っており、CRもこれらのシグナルを制御して抗老化作用を発揮していると示唆される (Fig. 3)。

レスベラトロール、ラパマイシン、メトホルミンはそれぞれこれらのシグナル伝達系の分子に作用して実験動物の寿命延長に作用するものと示唆される。スベルミジンによる寿命延長作用とCRによる寿命延長作用との関連性はまだ不明な点が多いが、オートファジー不全の遺伝子改変マウスに対してはスベルミジンが抗老化作用を示さないことから、一部CRによって制御されるオートファジーの上流シグナルと関連している可能性がある。

レスベラトロールは機能性食品因子として知られてお

Fig. 3 抗老化物質の開発標的となる老化制御シグナル。

レスベラトロール、メトホルミン、ラパマイシンは、それぞれSIRT1、AMPK、mTORC1を主要な標的として寿命延長作用を発揮すると示唆されている。これらのタンパク質は、CRやinsulin/IGF-1シグナル系の下流因子としても機能しており、これらの3つの化合物がカロリー制限模倣物として機能していることが示唆される。スベルミジンはオートファジーの誘導に関与し、メトホルミンやラパマイシンと同様に、一部CRと類似した作用によって寿命延長をもたらすものと示唆される。レスベラトロールやスベルミジンは食品由来の機能性成分でもある。これまで多くの生理活性機能が報告されているクルクミンやスルフォラファンといった機能性成分も、これらの寿命制御シグナル系を介してカロリー制限模倣物として作用する可能性が示唆される。

り、またスベルミジンは納豆やチーズ、ヨーグルトなどの発酵食品に多く含まれている。ウコンに含まれるクルクミンやプロクコリーに含まれるスルフォラファンなども、その多彩な生理活性機能から、Fig. 3で示したシグナル系を制御することで抗老化作用を発揮する可能性がある^{33, 34)}。クルクミンは肝機能の維持について消費者庁から機能性表示が認められている。また、クルクミンやスルフォラファンには抗酸化作用も知られているが、現状では食品に対する機能性として抗酸化効果の表示は認められていない。今後さらに研究が進むことにより、広義の意味で老化を防止し、健康増進作用を有する新たな機能性として抗酸化、さらには抗老化作用についての機能性表示が可能となるかもしれない。クルクミンやスルフォラファン以外にも、mTORの抑制やNrf2の活性化に作用する食品因子がこれまでに多数報告されている^{33, 34)}。ラパマイシンやメトホルミンなどに代表される医薬品のみならず、抗老化物質としての食品因子の研究が、今後さらに発展していくものと考えられる。

7 おわりに

ここで論じたシグナル系だけでは、CRによる寿命延長効果を説明することはまだ十分ではない。我々はニューロペプチドYノックアウトマウスにCRを行っても寿命の延長や抗老化効果が見られないことを報告しており^{35, 36)}、レプチンなど神経内分泌系に影響を与える他の因子や、その下流のシグナル系に対しても今後さらに研究を行っていく必要がある。ヒトにおいて不老不死の実現は夢物語ではあるが、老化を遅らせ、健康寿命を延伸させる化合物は、ここで述べたように実験動物レベルでは複数報告されており、今後さらにそのような物質の発見が続くであろう。臨床研究によってヒトでの寿命延長効果も確認されれば、そのような抗老化物質の摂取や使用法についても議論を重ねて行くことが必要になると予測される。

文 献

- 1) C. M. McCay, M. F. Crowell, L. A. Maynard, *J. Nutr.* **10**, 63-79 (1935).
- 2) I. Shimokawa, T. Chiba, H. Yamaza, T. Komatsu, *Mol. Cells* **26**, 427-435 (2008).
- 3) R. de Cabo, D. Carmona-Gutierrez, M. Bernier, M. N. Hall, F. Madeo, *Cell* **157**, 1515-1526 (2014).
- 4) C. Rommel, S. C. Bodine, B. A. Clarke, R. Rossman, L. Nunez, *et al.*, *Nature Cell Biology* **3**, 1009-1013 (2001).
- 5) H. J. Jung, Y. Suh, *Frontiers in Genetics* **5**, 472 (2015).
- 6) V. D. Longo, C. E. Finch, *Science* **299**, 1342-1346 (2003).
- 7) H. Yamaza, T. Komatsu, S. Wakita, C. Kijogi, S. Park, *et al.*, *Aging Cell* **9**, 372-382 (2010).
- 8) I. Shimokawa, T. Komatsu, N. Hayashi, S. E. Kim, T. Kawata, *et al.*, *Aging Cell* **14**, 707-709 (2015).
- 9) R. Holliday, *Bioessays* **10**, 125-127 (1989).
- 10) T. Chiba, T. Tsuchiya, T. Komatsu, R. Mori, H. Hayashi, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **401**, 213-218 (2010).
- 11) S. Imai, C. M. Armstrong, M. Kaerberlein, L. Guarente, *Nature* **403**, 795-800 (2000).
- 12) S. J. Park, F. Ahmad, A. Philp, K. Baar, T. Williams, *et al.*, *Cell* **148**, 421-433 (2012).
- 13) S. I. Imai, *NPJ Syst. Biol. Appl.* **2**, 16018 (2016).
- 14) J. T. Rodgers, C. Lerin, W. Haas, S. P. Gygi, B. M. Spiegelman, *et al.*, *Nature* **434**, 113-118 (2005).
- 15) B. Martinez-Pastor, R. Mostoslavsky, *Frontiers in Pharmacology* **3**, 22 (2012).
- 16) B. Liu, B. Zhang, R. Guo, S. Li, Y. Xu, *Int. J. Mol. Med.* **33**, 523-533 (2014).
- 17) S. Sato, G. Solanas, F. O. Peixoto, L. Bee, A. Symeonidi, *et al.*, *Cell* **170**, 664-677 (2017).
- 18) K. F. Mills, S. Yoshida, L. R. Stein, A. Grozio, S. Kubota, *et al.*, *Cell Metab.* **24**, 795-806 (2016).
- 19) N. M. Templeman, C. T. Murphy, *J. Cell Biol.* pii: jcb.201707168 (2017).
- 20) M. Laplante, D. M. Sabatini, *Cell* **149**, 274-293 (2012).
- 21) C. H. Jung, S. H. Ro, J. Cao, N. M. Otto, D. H. Kim, *FEBS Lett.* **584**, 1287-1295 (2010).
- 22) M. Laplante, D. M. Sabatini, *J. Cell Sci.* **122** (Pt 20), 3589-3594 (2009).
- 23) S. Menon, J. L. Yecies, H. H. Zhang, J. J. Howell, J. Nicholatos, *et al.*, *Sci. Signal.* **5** (217), ra24 (2012).
- 24) A. Bartke, *NPJ Aging Mech. Dis.* **3**, 14 (2017).
- 25) A. M. Vaiserman, F. Marotta, *Trends Pharmacol. Sci.* **37**, 331-333 (2016).
- 26) J. A. Baur, K. J. Pearson, N. L. Price, H. A. Jamieson, C. Lerin, *et al.*, *Nature* **444**, 337-342 (2006).
- 27) K. J. Pearson, J. A. Baur, K. N. Lewis, L. Peshkin, N. L. Price, *et al.*, *Cell Metab.* **8**, 157-168 (2008).
- 28) D. E. Harrison, R. Strong, Z. D. Sharp, J. F. Nelson, C. M. Astle, *et al.*, *Nature* **460**, 392-395 (2009).
- 29) C. Selman, J. M. Tullet, D. Wieser, E. Irvine, S. J. Lingard, *et al.*, *Science* **326**, 140-144 (2009).
- 30) O. B. Abrat, J. M. Storey, K. B. Storey, V. I. Lushchak, *Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol.* **215**, 55-62 (2018).
- 31) A. Martin-Montalvo, E. M. Mercken, S. J. Mitchell, H. H. Palacios, P. L. Mote, *et al.*, *Nat. Commun.* **4**, 2192 (2013).
- 32) T. Eisenberg, M. Abdellatif, S. Schroeder, U. Primessnig, S. Stekovic, *et al.*, *Nat. Med.* **22**, 1428-1438 (2016).
- 33) A. B. Kunnumakkara, D. Bordoloi, G. Padmavathi, J. Monisha, N. K. Roy, *et al.*, *Br. J. Pharmacol.* **174**, 1325-1348 (2017).
- 34) C. A. Houghton, R. G. Fasset, J. S. Coombes, *Oxid. Med. Cell Longev.* 7857186 (2016).
- 35) T. Chiba, Y. Tamashiro, D. Park, T. Kusudo, R. Fujie, *et al.*, *Sci. Rep.* **4**, 4517 (2014).
- 36) S. Park, C. Fujishita, T. Komatsu, S. E. Kim, T. Chiba, *et al.*, *FASEB J.* **28**, 5337-5348 (2014).