

# 長寿医療研究委託事業

## 総括研究報告書

高齢者における生体防御機能低下の予防法と免疫老化レベルの標準化に関する研究

主任研究者 丸山 光生

国立長寿医療センター 研究所 部長

研究要旨： 加齢に伴う免疫応答機能は、リンパ球を中心とする免疫担当細胞の量的変化と質的変化の複雑に絡み合った結果、低下していくと考えられている。本研究班では、免疫担当細胞を中心に若年、成年層と比べて何が違うのかという比較を中心に生体防御系の機能低下に導く老化の分子機構を考察し、インフルエンザ等のウイルス感染に対する抵抗性の亢進、感染症の罹患後の合併症併発頻度の低下、予後の改善、認知症発症の予防等の臨床応用に直結した研究に発展させることを目指している。さらに、高齢者一人一人の免疫系における老化レベルを俯瞰できる指標の開発に関しては、栄養を鑑みた高齢者のインフルエンザワクチンに対する免疫学的反応性の検討ならびに高齢者生体防御機能に寄与する要因とそれに基づく治療戦略の策定に関する研究を推進している。昨年度に引き続き、こうした基盤的な加齢研究から得られる知見を健やかな高齢化社会の構築実現に向けた臨床研究に結びつけようという目的意識の極めて高い研究を手掛けている。

分担研究者	内村健治
	国立長寿医療センター 室長
	宮崎忠昭
	北海道大学 教授
	澤 洋文
	北海道大学 教授
	赤津裕康
	医療法人さわらび会
	福祉村病院 副院長
	中山勝敏
	東京慈恵会医科大学 准教授

### A. 研究目的

本研究は、免疫担当細胞を中心に若年、成年層と比べて何が違うのかという比較を中心に生体防御系の機能低下における老化機構を系統的に考察する。併せて感染に対する生体防御反応の加齢性低下のメカニズム解明については、インフルエンザ等のウイルス感染に対する抵抗性の亢進、感染症の罹患後の合併症併発頻度の低下、予後の改善、認知症発症の予防等の臨床応用に直結した研究に発展させるとともに、高齢者一人一人の免疫系における老化レベルを俯瞰できる指標の開発にも手掛けていくことを目的としている。

### B. 研究方法

本研究班は加齢に伴う免疫機能の変化について、遺伝子、細胞レベルを中心とした基盤研究、感染実験を中心としたマウス個体を用いたモデル動物研究、さらにはヒトを対象とした免疫レベルの変化を網羅的に解析する臨床研究とが互いに協調的に、しかし各々は独創的な方法で免疫系の老化について取り組んできた。基盤的研究としては老齢、若齢マウス由来の免疫担当細胞における発現動態の変化から免疫老化関連遺伝子として **Zizimin2** 遺伝子について注目し、単クローン抗体を樹立して **Zizimin2** 分子の細胞内動態と樹状細胞における機能について解析した。細胞レベルにおいては血行性に脳内に動員されるミクログリア細胞の接着に関わると考えられるセレクトリンリガンド踏査の発現を **FACS** 解析した。マウスを用いたインフルエンザウイルス感染モデル研究では、若齢マウスと老齢マウスにおいて、感染後にみられるサイトカインやケモカイン、あるいはそれらを制御するといわれるオステオポンチンに着目して、インフルエンザウイルス感染に関する臨床症状、あるいは重篤化と加齢軸との関連を考察した。高齢者における臨床研究としては承諾を得られた健常若年ボランティアと健常高齢ボランティアに加えて、経管栄養管理患者や中心静

脈栄養患者を対象に、インフルエンザワクチン接種時期に合わせた免疫能、抗体価の影響を栄養剤内容と免疫応答という観点から客観的に調査した。また、免疫老化レベルの標準化に関しては昨年に引き続き、高齢者総合的機能評価を施行し、ADL、細胞性免疫、栄養状態(BMI)等の各種要因の寄与をロジスティック解析、生存曲線Cox回帰解析を用いて検討した。

#### (倫理面への配慮)

血液検査を含め、赤津、中山の行なうすべての研究は所属病院倫理委員会で定められたインフォームドコンセントに基づいての審査、承認の後、研究目的、危険性、個人情報に関する配慮については詳細に説明し理解を得た上で書面にて本人、家族より承諾を得て行った。また研究目的の検査を含め、得られた全ての個人情報はカルテ内にまとめて病棟、あるいは個人情報管理室にて連結可能な形で管理とし、いずれの場合も個別に情報を抽出する場合は、匿名化の義務を設け、個人のプライバシーの保護には特段の配慮を行っている。研究等によって生ずる個人への不利益については穿刺時の痛み、血液の損失が挙げられるが、研究目的に沿った結果が得られ、高齢者における免疫機能の低下のメカニズムの一端が明らかになれば、その生体防御機能低下の予防法等の開発につながる可能性があり、医学上の発展は大いに期待できる。また、動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえ、的確に管理する。また使用、及び処分に関しても苦痛の軽減等、倫理上の問題はすべて、当該研究施設の倫理委員会で承認を受けた後に各研究機関が定めた動物実験ガイドラインに則って実施した。

#### C. 研究結果と考察

獲得免疫応答の活性化の指標とされるの脾臓胚中心で高発現する遺伝子として見いだした免疫老化関連遺伝子として、zizimin2のC末CZH2ドメイン部分に対する単クローン抗体(MZ2)を樹立した。MZ2抗体を用いてZizimin2遺伝子の機能を強制発現系において検討し、フィロポディアの形成ならびに細胞

膜、細胞質局在を明らかにした。また、樹状細胞を用いた活性化実験ではTLR4やFcγRの下流でzizimin2が機能することが判明した。今後はZizimin2遺伝子欠失マウスの作成の完成を待って、マウス個体レベルにおける加齢変化と免疫機能について考察を続けていく。また脳移行性細胞集団を用いての脳実質内への血行性移入に関する研究においては、ミクログリア細胞を蛍光標識後末梢投与し、生体内ビデオ蛍光顕微鏡法により解析し、アルツハイマーモデルマウス脳血管内では、投与した細胞が野生型に比べてより強固に接着する傾向を見いだした。ウイルス感染を刺激とした生体防御反応の加齢性低下のメカニズムということではインフルエンザウイルスH1N1型を接種して体重、死亡率、鼻腔ぬぐい液中のIgA、血中IgGや肺でのウイルスtiter等を測定した。現在、感染実験を進めているところで最終的な結果はまだ出ていないが、老齢マウス群の法が臨床症状、サイトカイン応答も高度であるように思われる。さらに、OPNを指標にした研究ではこれまでにOPNそのものがウイルス感染後の病態形成と生存率に関与していること、あるいは感染後生体防御に働くNK細胞数の制御に関与していることも見いだした。高齢者におけるインフルエンザワクチン抗体価と免疫応答に関する臨床研究においては、現在、血液検査結果が集積しつつある状況であり、これまでに経管栄養、中心静脈栄養管理の入院構成者に比べて、健常高齢ボランティアのツベルクリン反応陽性率は高い傾向を示したことが判明した。免疫老化レベルの標準化に関する研究としては非BCG接種歴でツベルクリン反応陽性者である高齢者集団を2年間フォローし、呼吸器感染症や入院の事象に対する関連を検討すべく、データを集計し、今年度はBMI要因追加、生存曲線解析施行が新たに加わった。これまでにロジスティック解析における死亡・入院、cox回帰解析における死亡でツ反陰性化が有意な要因になったこと、さらには高齢者において、細胞性免疫の低下はウイルス感染の発症頻度ではなく、感染の重篤化、二次性半陰院発症や死亡に影響を与える可能性が示唆された。

#### D. 結論

高齢者における免疫機能低下のメカニズムを

分子的な質的变化や量的変化のレベルで解明することでそれらの予防法を臨床応用につなげるとともに健常高齢者の生体防御能の評価を感染症に対する機能に特化した形で介入試験を含めたデータをもとに免疫老化レベルの標準化に関する研究が予定通り進んできたと考えている。研究班全体としては最終年度の来年に向けたそれぞれの方向性がしっかりと確認できたことが成果としては最も大きく、基盤的な加齢研究から得られる知見が健やかな高齢化社会の構築実現に向けた臨床に対する目的意識の極めて高い研究班を目指し、今後も引き続き活動を続けていくと同時に、次年度には3年間のまとめとして全ての研究が臨床研究につながる成果を上げられるように一層の努力を続けていく

#### E. 健康危険情報

該当なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kawagishi H, Wakoh T, Uno H, Maruyama M, Moriya A, Morikawa S, Okano H, Sherr C, Takagi M and Sugimoto M Hzf regulates adipogenesis through translational control of C/EBP  $\alpha$ . *EMBO J*, 27:pp1481-1490, 2008 (Fat Cells gain in Translation, *Cell* 133(4), 557, 2008)

Wakoh T, Uekawa N, Terauchi K, Sugimoto M, Ishigami A, Shimada J and Maruyama M Implication of p53-dependent cellular senescence related gene, TARSH in tumor suppression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 380: pp807-812, 2009

Muramatsu T and Uchimura K : Sulfotransferases. In Experimental Glycoscience. (N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. Narimatsu, T. Kawasaki and S. Hase, editors). Springer, Tokyo. 386-388. 2008

Uchimura K and Muramatsu T: N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferases. In Experimental Glycoscience (N. Taniguchi, A.

Suzuki, Y. Ito, H. Narimatsu, T. Kawasaki and S. Hase, editors). Springer, Tokyo. 83-86. 2008

Matoba T, Orba Y, Suzuki T, Makino Y, Shichinohe H, Kuroda S, Ochiya T, Itoh H, Tanaka S, Nagashima K, Sawa H: An siRNA against JC virus (JCV) agnoprotein inhibits JCV infection in JCV-producing cells inoculated in nude mice. *Neuropathology* 2008, 28: 286-294

Hayashi Y, Kimura A, Kato S, Koumura A, Sakurai T, Tanaka Y, Hozumi I, Sunden Y, Orba Y, Sawa H, Takahashi H, Inuzuka T: Progressive multifocal leukoencephalopathy and CD4+ T-lymphocytopenia in a patient with Sjögren syndrome. *J Neurol Sci*, 2008, 268: (1-2):195-198

Hirano M, Rakwal R, Shibato J, Sawa H, Nagashima K, Ogawa Y, Yoshida Y, Iwahashi H, Niki E, Masuo Y: Proteomics- and transcriptomics-based screening of differentially expressed proteins and genes in brain of Wig rat: A model for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) research. *J Proteome Res* 2008, 7(6): 2471-2489

Liu Y, Mimuro M, Yoshida M, Hashizume Y, Niwa H, Miyao S, Ujihira N, Akatsu H: Inclusion-positive cell types in adult-onset intranuclear inclusion body disease: implications for clinical diagnosis. *Acta Neuropathol.* 2008, 116(6), 615-623.

Aidaraliev NJ, Kamino K, Kimura R, Yamamoto M, Morihara T, Kazui H, Hashimoto R, Tanaka T, Kudo T, Kida T, Okuda J, Uema T, Yamagata H, Miki T, Akatsu H, Kosaka K, Takeda M. Dynamin 2 gene is a novel susceptibility gene for late-onset Alzheimer disease in non-APOE-epsilon4 carriers. *J Hum Genet.* 2008; 53(4):296-302.

Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushita H, Arima K, Yuyama N, Yamaya M, Nakayama K, Kubo H, Watanabe M, Sagara H, Sugiyama K, Tanaka H, Toda S, Hayashi H, Inoue H, Hoshino T, Nakajima A, Inoue M, Suzuki K, Aizawa H, Okinami S, Nagai H, Hasegawa M,

Fukuda T, Green ED, Izuhara K.  
Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol* 180: 6262-9, 2008.

Kuwano, Nakayama K, Araya J. Epithelial cell fate following ling injury. *Expert Rev Resp Med* 2: 573-582, 2008.

## 2. 学会発表

Wakoh T, Uekawa N, Terauchi K, Shimada N, Sugimoto M, Ishigami A, Shimada J and Maruyama M Implication of cellular senescence related gene, TARSH on tumor suppression The 8th Korea-Japan Gerontologist joint meeting, May 15, 2008, Daegu, Korea

浅井あづさ、若生 武、丸山光生: Zizimin2 (Dock11)のモノクローナル抗体の樹立と樹状細胞における機能解析/ Functional analysis of zizimin2 in dendritic cells by established anti-zizimin2 monoclonal antibodies, 第38回日本免疫学会総会, 2008年12月3日, 京都

Hosono T, Hossain M, Britschgi M, Michikawa M, Jenniskens G.J, Wyss-Coray T and Uchimura K: Cerebral Accumulation of Highly Sulfated Domains of Heparan Sulfate in Mouse Models of Alzheimer's Disease, Annual meeting of Glycobiology 2008, Fort Worth, USA, Nov 13, 2008

Sato K, Morimoto J, Takada A, Kida H, Uede T and Miyazaki T: Significance of osteopontin in mortality by influenza A virus infection 第39回日本免疫学会総会・学術総会 京都国際会議場 2008.12.1-3

Sawa H: Cellular factors exploited by neurotropic virus. The 9th International Symposium Hamamatsu University School of Medicine COE Program Medical Photonics "Viruses Shed Light on Neuroscience", February 9th, 2008, Congress Center, Act City Hamamatsu, Japan (invited speaker)

Ohtake N, Niikura K, Suzuki T, Nagakawa K, Sawa H, Ijiro K: Protein-enclosed nano

capsules based on the self-assembly of viral proteins. The 2008 Asian Conference on Nanoscience and Nanotechnology (AsiaNANO2008), November 2008, Biopolis, Singapore

Taniguchi M, Okayama Y, Hashimoto Y, Kitaura M, Jimbo D, Wakutani Y, Wada-Isoe K, Nakashima K, Akatsu H, Furukawa K, Arai H, Urakami K.: Sugar chains of cerebrospinal fluid transferrin as a new biological marker of Alzheimer's disease.

*Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008, 26(2), 117-122

Nakayama K, Asamura T, Sasaki T, Yoshida M, Yasuda H, Asada M, Ohru T, Kuwano K, Yamaya M. An inhibitor of HMG-CoA reductase, pitavastatin, inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *American Thoracic Society 2008 International Conference.* Toronto. May 16-21, 2008.

Sasaki T, Nakayama K, Yasuda H, Yoshida M, Inoue D, Yamaya M. A proton pump inhibitor, lansoprazole, reduces frequency of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *American Thoracic Society 2008 International Conference.* Toronto. May 16-21, 2008.

.G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし