

長寿医療研究開発費 2020年度 総括研究報告（総合報告）

高齢者ドライマウスの原因究明とその予防・克服に向けた基盤研究（30-14）

主任研究者 山越 貴水 国立長寿医療研究センター 室長

研究要旨

本研究課題では、高齢者においてドライマウス症状が発生するメカニズムを解明するため、老化過程における顎下腺のムチンとその糖鎖に着目した。25歳から69歳までの若中年齢者と85歳以上の高年齢者の顎下腺を用いて、免疫組織化学的解析、ヒト顎下腺を用いたムチンの多検体分析を実施する前段階としてマウス顎下腺をモデルとした多検体分析方法論の確立、分子マトリックス電気泳動法を用いたムチン分析及びヒト顎下腺試料におけるムチン遺伝子発現解析を実施した。その結果、以下のことが明らかになった。

- 1) マウスの顎下腺では、若齢時にのみ発現するムチンや老化に伴い発現するムチンが存在する
- 2) マウス顎下腺の各ムチンの糖鎖はシアリル T (NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc) を主としたものであるが、老化に伴い GlcNAc がさらに付加した構造が増加する
- 3) ヒトの顎下腺では、ムチン解析の手法により、老化によるムチン量の変化にばらつきがある
- 4) ヒト顎下腺では、通常、ムチンを産生する細胞以外の細胞において、老化により、主にムチンと考えられる酸性の粘液物質が新たに産生される可能性がある
- 5) ヒト顎下腺ムチンの糖鎖はマウスと同様、core-1 型の糖鎖にシアリ酸が α 2-3 結合で付加された構造を有することが示唆される

これらの知見は、高齢者の口腔乾燥症状の機序解明の新たな糸口となり、将来の治療に寄与することが期待された。

主任研究者

山越 貴水 国立長寿医療研究センター 室長

分担研究者

村山 繁雄 東京都健康長寿医療センター 特任研究員

亀山 昭彦 国立研究開発法人産業技術総合研究所 上級主任研究員

研究期間 2018年4月1日～2020年3月31日

A. 研究目的

高齢者の多くが罹患する口腔乾燥症状（ドライマウス）は、唾液粘性の亢進を伴い、高齢者のQOLを低下させるだけでなく高齢者の死亡原因の上位である肺炎の発症リスクを高める。このため、老化に伴い唾液粘性が亢進するメカニズムの解明が急務となっている。しかし、唾液の粘液成分は、高分子量のコア蛋白質に大量の糖鎖が高密度に結合した巨大分子であり、その取扱いの難しさから、一体何故、老化により唾液粘性が亢進するかについての研究は全く行われてこなかった。我々は最近、動物モデルを用いた研究から、高分子糖蛋白質を分離分析できる新たな技術（分子マトリクス電気泳動：SMME）を利用して、マウスでは老化により唾液腺の一つの顎下腺において唾液粘性物質の主成分であるムチンの糖鎖の末端構造や長さが増加する結果を得た（Iida et al., Arch. Oral Biol., 12(97), 52-58, 2019; Kameyama et al., Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteom., 1867(1), 76-81, 2019）ことから、老化により生じる糖鎖シグナル異常が粘性物質の糖鎖プロファイルを変化させることで唾液粘度を増加させる可能性を見出した。顎下腺は口腔内へ唾液を分泌する機能をもつことから、唾液粘性物質の糖鎖シグナルの解析は口腔乾燥症の発症機序を解明するうえで大変重要である。そこで、本研究では、主任研究者がこれまで行ってきた老齢マウスの顎下腺における粘性物質のムチンとその糖鎖プロファイルについての解析をマウスからヒトへ展開し、ヒト顎下腺を用いて粘液物質の分離と糖鎖構造解析を行い、ドライマウスの発症機序解明の新たな糸口を見出すことを目的とする。

B. 研究方法

（1）ヒト顎下腺の凍結試料採取

69歳までの若中年齢者（女性2名、男性7名）と85歳以上の高年齢者（女性5名、男性9名）のヒト顎下腺は、摘出後半割し、そのうちの一つをドライアイスパウダー法による迅速凍結標本の方法で凍結された。

（2）ヒト顎下腺のパラフィン包埋薄切切片試料の作製

69歳までの若中年齢者（女性2名、男性7名）と85歳以上の高年齢者（女性5名、男性9名）のヒト顎下腺は、摘出後半割し、そのうちの一つを4%パラフォルムアルデヒドにより固定した。固定した顎下腺はtwo overnight後、脱水、脱脂を行いパラフィンに包埋した。パラフィン包埋ブロックは、薄切装置（マイクロトーム）により、6 μ mの厚さに薄切された。69歳までの若中年齢者（女性2名、男性7名）と85歳以上の高年齢者（女性5名、男性9名）のヒト顎下腺は、各10切片、作製された。

(3) ヒト顎下腺試料の各種染色

若中年齢者（69歳まで）と高齢者（85歳以上）のヒト顎下腺ホルマリン固定パラフィン包埋薄切切片は東京都健康長寿医療センター・高齢者ブレインバンクから提供された。これらの試料を用いて、ヘマトキシリン&エオジン(HE)染色、酸性糖（カルボキシ基・硫酸基を含む糖）とイオン結合することで酸性の粘液多糖類を特異的に染めるアルシアンブルー（AB）染色（武藤化学 4085-2）、ABに加えて中性ムチンを同時に染めるAB-PAS染色、Muc5b免疫染色、Muc7免疫染色を行った。

(4) 顎下腺組織からの水溶性ムチンの抽出

顎下腺組織片をアセトン中でホモジナイズすることによりアセトンパウダーとし、PBSにて水溶性成分を抽出した。この水溶液に飽和酢酸カルシウム溶液を添加後、エタノールを加えて冷却し沈殿物を得た。これに2Mウレア溶液を加えて得られた溶液を別のチューブに移したのち、さらにエタノールを加えて冷却し沈殿物を得た。この沈殿物を8Mウレアに溶解し水溶性ムチン抽出液とした。

(5) 分子マトリックス電気泳動（SMME）によるムチンの分離

顎下腺組織から抽出した水溶性ムチン抽出液をSMMEにて電気泳動した。SMMEは0.1Mピリジン/ギ酸緩衝液（pH 4.0）を泳動緩衝液として、1 mA/cmの定電流にて30分間通電した。泳動後の膜をアルシアンブルーおよび各種レクチン類で染色することによりムチンを可視化した。

(6) アルシアンブルー染色

泳動分離後のSMME膜を30%酢酸-メタノール溶液に浸漬後、アルシアンブルー染色液（pH4.0）中で30分間、振盪した。その後、メタノールで脱色しムチンを可視化した。

(7) SMMEにより分離されたアルシアンブルー陽性バンドのデンストメトリー

アルシアンブルーで染色した膜を乾燥後、エチレングリコールに浸し透明化した。ポリプロピレンフィルムに挟み、イメージングシステム ChemiDoc（バイオラッド社）を用いて染色像を画像化した。得られた画像のアルシアンブルー陽性バンドをImage J(NIH)にてデンストメトリー解析した。

(8) SMMEにより分離されたムチンの糖鎖抽出および完全メチル化

SMME膜上のアルシアンブルー陽性バンドを切り取り、50 mM水酸化ナトリウムを含む0.5 M水素化ホウ素ナトリウム溶液に浸し、45°Cにて一晩放置した。氷冷後、少量の酢酸を添加し水素化ホウ素ナトリウムを分解した後、イオン交換樹脂Dowex C-50 (H⁺)を加えて攪拌後、固相抽出カートリッジ SepPak-C18に通じてろ液を回収した。遠心エバポ

レーターにてろ液を濃縮乾燥後、1%酢酸を含むメタノール溶液を加えて再度濃縮乾燥した。得られた残渣をヨードメタンと水酸化ナトリウムを用いて完全メチル化し、固相抽出カートリッジ SepPak-C18 に吸着後、50%アセトニトリル溶液にて溶出し、質量分析に供した。

(9) SMME により分離されたムチンの糖鎖解析

完全メチル化された糖鎖を MALDI-TOF 型質量分析計にて解析した。レーザーは窒素ガスレーザー、マトリックスは 2,5-ジヒドロキシ安息香酸(DHB)を使用し、リフレクターを用いた陽イオンモードにて測定した。また、詳細な構造解析のために MALDI-QIT-TOF 型質量分析計によるタンデム質量分析も行った。

(10) レクチン染色

泳動後の SMME 膜を 5%BSA にてブロッキング処理した後、ビオチン化 MAL-II 溶液またはビオチン化 ABA 溶液 (各 2 µg/mL) 中で 1 時間振盪した。洗浄後、HRP 標識したストレプトアビジン溶液 (4000 倍希釈) 中で 1 時間振盪し、洗浄後、化学発光試薬 ECL-plus(GE ヘルスケア社)を用いて可視化した。ポリプロピレンフィルムに挟み、イメージングシステム ChemiDoc (バイオラッド社)を用いて染色像を画像化した。

(11) ヒト顎下腺試料の Total RNA 抽出・精製

約 50mg のヒト顎下腺試料からホモジナイザー(IKA, T10 basic ULTRA-TURRAX)と TRI Reagent(Molecular Research Center, Inc. TR118)を用いて、acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction 法により、破碎した試料から Total RNA を抽出した。混入したゲノム DNA は、RNase-Free DNase Set(Qiagen, 79254)を用いて除去された。その後、Total RNA は RNeasy Mini Kit (Qiagen,74104)を用いて精製された。

(倫理面への配慮)

本研究計画の遂行にあたっては、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則り、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター 倫理・利益相反委員会、東京都健康長寿医療センター 倫理委員会及び国立研究開発法人産業技術総合研究所 倫理委員会の承認を得て、個人情報保護を徹底し行われる。

また、遺伝子組換え生物等の使用については、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター遺伝子組換え実験安全規程に従って行われ、適切な拡散防止措置が取られる。動物実験に際しては国立研究開発法人国立長寿医療研究センター動物実験規則に従い行う。

C. 研究結果

1. ヒト顎下腺の免疫組織学的観察

東京都健康長寿医療センターより提供されたパラフィン包埋薄切切片を用いて、HE 染色、アルシアンブルー (AB) 染色、AB-PAS 染色、Muc5b 抗体染色、Muc7 抗体染色を行い、組織構造及び酸性糖とムチンを含む粘液多糖類の大まかな量について可視化し、染色結果を陽性率と陽性度で示した。染色に用いたヒト顎下腺試料リソースの詳細を表 1 に示す。検体毎の各染色結果の陽性率と陽性度についてまとめ、その各染色結果における若中年齢者と高年齢者の比較を行った。

若中年齢者 (69歳以下)

症例番号	性別	年齢
Y-10006	M	25
Y-10013	F	48
Y-10066	M	50
Y-10047	F	59
Y-10004	M	62
Y-10077	M	63
Y-10073	M	68
Y-10074	M	69
Y-10062	M	69

高年齢者 (85歳以上)

症例番号	性別	年齢
Y-10009	M	85
Y-10043	M	86
Y-10025	F	86
Y-10070	M	87
Y-10038	F	87
Y-10011	F	87
Y-10064	M	88
Y-10078	F	89
Y-10001	M	92
Y-10081	M	93
Y-10049	M	93
Y-10090	F	94
Y-10056	M	98
Y-10097	M	90

表 1 ヒト顎下腺試料リソース

検体毎の各染色結果の陽性率と陽性度、及び各染色結果における若中年齢者と高年齢者の比較を行った結果から、以下のことが示唆された。

1) AB 染色において、高年齢者では陽性率・陽性度の両方で若・中年齢者よりも高くなった。従って、高年齢者の顎下腺では酸性の粘液物質が増加していることが示唆された。

2) 高年齢者では、Muc5b と Muc7 の陽性度が増加した。従って、AB 染色で観察された酸性粘液物質の増加は、Muc5b と Muc7 に由来している可能性が示唆された。

3) しかし、高年齢者における AB 陽性率の増加とは対照的に、Muc5b と Muc7 の陽性率は高年齢者において減少した。つまり、Muc5b 及び Muc7 陽性細胞以外の細胞において、酸性の粘液物質が産生されている可能性が示唆された。

4) AB-PAS は陽性率・陽性度ともに高齢者で減少した。従って、老化により中性の粘液物質は減少する可能性が示唆された。

2. マウス及びヒトにおける顎下腺ムチンの老化変化

2. 1 マウス顎下腺をモデルとしたムチンの多検体分析方法論の確立

ヒト顎下腺を用いたムチンの多検体分析を実施する前段階として、顎下腺からの水溶性ムチン抽出の手法およびマウス顎下腺をモデルとしたムチンの多検体分析を行った。まず、顎下腺からの水溶性ムチン抽出方法について、ブタ顎下腺を用い、多検体試料を処理するためにビーズ式破砕機を用いてアセトンパウダーを作製する方法と従来の方法の手動式ホモジナイザーを用いる方法を比較した。ビーズ式破砕機を用いた場合、手動式ホモジナイザーを用いた場合よりヒアルロン酸とプロテオグリカンは多く回収されるがムチンの回収量は低かった。

このことから、実験全体の操作性を考えると、ムチン分析を目的とする場合には、従来通り、手動式ホモジナイザーを用いる方法が適切と判断された。

2. 2 マウスにおける顎下腺ムチンの老化変化

2. 1 のムチン抽出法に従い、マウス顎下腺をモデルとしたムチンの多検体分析を行った。月齢の異なるマウス (3、6、12、18、24 ヶ月齢) を各 3 個体用いて、顎下腺からムチンを抽出し、SMME によるムチンの泳動分離を行った。いずれの月齢においても、全ての個体に共通して出現するバンド (バンドー1) が観察された。このバンド以外にも、3 ヶ月齢と 6 ヶ月齢のマウスにのみ検出されるバンド (バンドー2)、12 ヶ月齢以上のマウスに高頻度に検出されるバンド (バンドー3) が観察された。すなわち、老化により顎下腺ムチンに変化が生じることが示唆された。

また、本実験により分離されたアルシアンブルー陽性バンドのデンストメトリー解析を行い、老化との関連を調べた。バンド (バンドー1, 2, 3) の強度の合計の平均値の比較では、統計的な有意差は検出されなかったものの、6 ヶ月齢においてアルシアンブルー陽性バンドのシグナルが最も強くなり、その後、老化に伴って減弱した。

更に、ムチンの糖鎖種と老化との関連について調べるため、SMME により分離されたムチンの糖鎖抽出と誘導體化を行い、完全メチル化された糖鎖を質量分析計により測定した。バンドー1, 2, 3 のいずれも NeuAc-Gal-GalNAc の組成を有する糖鎖が主成分であったが、バンドー1 は老化とともに NeuAc-Gal-GalNAc が減少し、NeuAc-Gal-GlcNAc-GalNAc の組成を有する糖鎖が増加する傾向が観察された。この糖鎖はタンデム質量分析の結果から図 1 に示す構造であることが示唆された。また、全てのバンドに共通する主成分の NeuAc-Gal-GalNAc を詳細に解析すると、バンドー1 は Galβ1-3(NeuAcα2-6)GalNAc であり、バンドー3 は NeuAcα2-3Galβ1-3GalNAc、バンドー2 はそれらの混合物であることが明らかとなった。

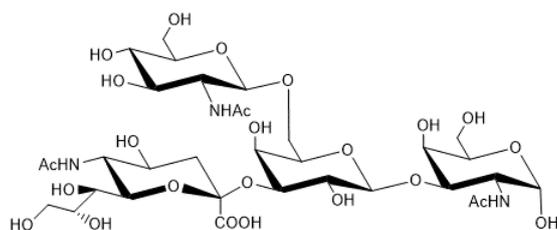


図1. 老化に伴い増加する糖鎖の推定構造

ムチン全体としては老化に伴い減少する傾向がある一方、若齢時にのみ発現するムチンや老化に伴い発現してくるムチンがあることが明らかとなった。また各ムチンの糖鎖は老化に伴い変化することが判った。ムチン遺伝子および糖鎖合成関連遺伝子がマウス顎下腺内において老化に伴い変化することが示唆された。

2. 3 ヒトにおける顎下腺ムチンの老化変化

若中年齢者（9例）と高齢者（14例）の顎下腺試料から抽出したムチンを SMME にて分離しアルシアンブルー染色した。市販ブタ胃ムチン（PGM）は泳動マーカーとして使用した。いずれもムチンの染色は薄くマウスの顎下腺に比較してムチン含量が少ないことが示唆された。同様に SMME にて分離したムチンをレクチンにて染色した。若中年齢者では、ほぼ同じ位置にムチンが染色されたが、高齢者ではバンドの位置が上方にあるものが散見された他、染色が非常に希薄な試料があった。また、MAL-II と ABA ではほぼ同様な染色像が得られたことから、これらのヒト顎下腺ムチンは core-1 型の糖鎖にシアル酸が α 2-3 結合で付加された構造を有することが示唆された。

3. ヒト顎下腺におけるムチン遺伝子発現解析

3. 1 ヒト顎下腺試料からの RNA 抽出・精製方法の検討

ヒト顎下腺試料から Total RNA を抽出する方法を確立するため、25 歳男性の顎下腺を用いて条件検討を行った。およそ 50mg の試料を TRI Reagent(Molecular Research Center, Inc. TR118)中でホモジナイザー(IKA, T10 basic ULTRA-TURRAX)により破碎し、acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction 法により破碎した試料から Total RNA を抽出した。抽出した Total RNA からゲノム DNA を除去するための反応条件を検討するため、Total RNA を RNase-Free DNase で 3 分間、5 分間、10 分間処理した。その後、RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74104)を用いて Total RNA を精製し、1%アガロースゲルによる電気泳動を行うことで、混入ゲノム DNA の挙動を観察した。3 分間、5 分間、10 分間、全ての反応条件において、RNase-Free DNase で処理することによりゲノム DNA は観察されなくなった。このことから、3 分間の RNase-Free DNase 処理によりゲノム DNA は十分分解されることが示唆された。

3. 2 ヒト顎下腺におけるムチン遺伝子発現解析

3. 1のRNA抽出法により、若中年齢者（9例）と高年齢者（14例）の顎下腺試料におけるムチン遺伝子発現を解析した。これまでにヒト膜結合型ムチンとして報告された13のムチン遺伝子（Muc1, Muc3A, Muc3B, Muc4, Muc12, Muc13, EMCN/Muc14, Muc16, Muc17, MCAM/Muc18, Muc20, Muc21, Muc22）及びヒト分泌型ムチンとして報告された8つのムチン遺伝子（Muc2, Muc5AC, Muc5B, Muc6, Muc7, Muc8, Ovgp1/Muc9, Muc19）の発現を調べた。その結果、以下のことが分かった。

- 1) 若・中年齢者と高年齢者を比較して、有意な差のあるムチン遺伝子はない
- 2) 分泌型ムチンのMuc5bとMuc19と、膜結合型ムチンのMuc1とMCAM/Muc18は、ヒト顎下腺において発現が高い
- 3) 分泌型ムチンに関して、Muc8の発現は若・中年齢者において比較的高いが高年齢者で低下し、Muc7の発現は高年齢者において高くなる傾向がある
- 4) 膜結合型ムチンに関して、MCAM/Muc18の発現は若・中年齢者に比べ高年齢者において高くなる傾向がある
- 5) 分泌型ムチンのMuc2, Muc5AC, Muc6, Muc9及び膜結合型ムチンのMuc3A, Muc3B, Muc12, Muc13, Muc17, Muc21, Muc22の発現はヒト顎下腺において非常に低い

D. 考察と結論

免疫組織化学的解析から、老化により、Muc5b及びMuc7がヒト顎下腺において増加する傾向のあることが示唆された。しかしながら、SMMEによってムチン成分の組成を調べたところ、ムチン全体としては老化に伴い減少する傾向があることやムチン遺伝子発現解析からMuc7の発現は若・中年齢者に比べ高年齢者において高くなる傾向があるが有意差はないことも明らかになった。3つの手法を用いたムチン解析により、老化によるムチン量の変化について異なる結果が得られたため、今後、ムチンの定量実験を行っていく予定である。また、これらのムチンは粘液性細胞において産生されると考えられるが、興味深いことに、Muc5b及びMuc7を産生する細胞以外の細胞において、主にムチンと考えられる酸性の粘液物質が老化により新たに産生される可能性が示唆された。このため、今後、ムチンを新たに発現するようになる細胞種の特定制を行っていく予定である。

更に、SMME解析から、マウスにおいて、若齢時にのみ発現するムチンや老化に伴い発現してくるムチンがあることが明らかとなった。各ムチンの糖鎖はシアリルT (NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc)を主としたものだったが老化に伴いGlcNAcがさらに付加した構造が増加することが判った。このことから、ムチン遺伝子および糖鎖合成関連遺伝子はマウス顎下腺内において老化に伴い変化することが示唆された。ヒトにおいても同様に老化に伴うムチン量の低下や糖鎖の変化があることが示唆されたが、用いた試料は全体としてマウスに比べムチン含量が少なく詳細な解析はできなかった。レクチンによる解析では、マ

ウス顎下腺ムチンの糖鎖は core-1 型の糖鎖にシアル酸が結合しており、ヒト顎下腺ムチンもこれと同様の糖鎖を有することが明らかとなった。マウスでは老化に伴いムチンに結合する糖鎖のシアル酸結合様式が Gal β 1-3(NeuAc α 2-6)GalNAc から NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc に変化していた。今後、老化に伴い変動するムチンとムチン糖鎖の合成に関わる糖鎖合成関連遺伝子について解析を進めていくと同時に、ヒト顎下腺のムチンに結合する糖鎖についても構造の詳細を明らかに老化に伴う構造変化を明らかにしていく予定である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

2018年度

- 1) Iida, M., Matsuno, YK., Watanabe, A., Maruyama, M., Kameyama, A., Yamakoshi, K.
A sialo-oligosaccharide-rich mucin-like molecule specifically detected in the submandibular glands of aged mice.
Arch. Oral Biol., 12(97), 52-58, (2019)
- 2) Kameyama, A., Yamakoshi, K., Watanabe, A.
A rapid separation and characterization of mucins from mouse submandibular glands by supported molecular matrix electrophoresis
Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom., 1867(1), 76-81, (2019)
- 3) Sano K, Atarashi R, Satoh K, Ishibashi D, Nakagaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Murayama S, Mishima K, Nishida N : Prion-Like Seeding of Misfolded alpha-Synuclein in the Brains of Dementia with Lewy Body Patients in RT-QUIC. Mol Neurobiol. 2018. 55(5): 3916-3930.
- 4) Ren Q, Ma M, Yang J, Nonaka R, Yamaguchi A, Ishikawa KI, Kobayashi KS, Murayama S. Hwang H, Saiki S, Akamatsu W, Hattori N, Hammock BD, Hashimoto K: Soluble epoxide hydrolase plays a key role in the pathogenesis of Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018. 115(25): E5815-E5823.

2019年度

- 1) 亀山 昭彦, 松野 裕樹, 飯田 真由, 丸山 光生, 渡邊 淳, 山越 貴水
分子マトリックス電気泳動で解明する唾液腺ムチンの老化に伴う変化
電気泳動, Vol.63, No.2, 55-61 (2019)
- 2) Ishiura H, Shibata S, Yoshimura J, Suzuki Y, Qu W, Doi K, Almansour MA, Kikuchi JK,

Taira M, Mitsui J, Takahashi Y, Ichikawa Y, Mano T, Iwata A, Harigaya Y, Matsukawa MK, Matsukawa T, Tanaka M, Shirota Y, Ohtomo R, Kowa H, Date H, Mitsue A, Hatsuta H, Morimoto S, Murayama S, Shiio Y, Saito Y, Mitsutake A, Kawai M, Sasaki T, Sugiyama Y, Hamada M, Ohtomo G, Terao Y, Nakazato Y, Takeda A, Sakiyama Y, Umeda-Kameyama Y, Shinmi J, Ogata K, Kohno Y, Lim SY, Tan AH, Shimizu J, Goto J, Nishino I, Toda T, Morishita S, Tsuji S: Noncoding CGG repeat expansions in neuronal intranuclear inclusion disease, oculopharyngodistal myopathy and an overlapping disease. *Nat Genet* 2019, 51:1222-32.

- 3) Matsubara T, Oda M, Takahashi T, Watanabe C, Tachiyama Y, Morino H, Kawakami H, Kaji R, Maruyama H, Murayama S, Izumi Y: Amyotrophic lateral sclerosis of long clinical course clinically presenting with progressive muscular atrophy. *Neuropathology*. 2019; 39: 47-53
- 4) Matsubara T, Oda M, Takahashi T, Watanabe C, Tachiyama Y, Morino H, Kawakami H, Kaji R, Maruyama H, Murayama S, Izumi Y: Amyotrophic lateral sclerosis of long clinical course clinically presenting with progressive muscular atrophy. *Neuropathology*. 2019 Feb;39(1):47-53. doi: 10.1111/neup.12523. Epub 2018 Dec 3.
- 5) Tanaka H, Homma H, Fujita K, Kondo K, Yamada S, Jin X, Waragai M, Ohtomo G, Iwata A, Tagawa K, Atsuta N, Katsuno M, Tomita N, Furukawa K, Saito Y, Saito T, Ichise A, Shibata S, Arai H, Saido T, Sudol M, Muramatsu SI, Okano H, Mufson EJ, Sobue G, Murayama S, Okazawa H: YAP-dependent necrosis occurring in early stages regulates Alzheimer's-like pathology in mice. *Nature Comm*. 2020 Jan 24;11(1):507. doi: 10.1038/s41467-020-14353-6.

2020年度

- 1) Kameyama, A., Nishijima, R., Yamakoshi, K. Bmi-1 regulates mucin levels and mucin O-glycosylation in the submandibular gland of mice. *PLoS One*, (2021), 16(1): e0245607. doi: 10.1371/journal.pone.0245607. eCollection 2021. PMID: 33465144
- 2) Kameyama, A., Thet Tin, WW., Nishijima, R., Yamakoshi, K. Alteration of mucins in the submandibular gland during aging in mice. *Arch. Oral Biol.*, (2021), 121:104967. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104967.
- 3) N, Low SK, Okada Y, Terao C, Amariuta T, Gazal S, Kochi Y, Horikoshi M, Suzuki K, Ito K, Koyama S, Ozaki K, Niida S, Sakata Y, Sakata Y, Kohno T, Shiraishi K, Momozawa Y, Hirata M, Matsuda K, Ikeda M, Iwata N, Ikegawa S, Kou I, Tanaka T, Nakagawa H, Suzuki A, Hirota T, Tamari M, Chayama K, Miki D, Mori M, Nagayama S, Daigo Y, Miki Y, Katagiri T, Ogawa O, Obara W, Ito H, Yoshida T, Imoto I, Takahashi T, Tanikawa C, Suzuki T, Sinozaki N, Minami S, Yamaguchi H, Asai S, Takahashi Y, Yamaji K, Takahashi K, Fujioka T, Takata R, Yanai H, Masumoto A, Koretsune Y, Kutsumi H, Higashiyama M, Murayama S, Minegishi N, Suzuki K, Tanno K, Shimizu A, Yamaji T, Iwasaki M, Sawada

- N, Uemura H, Tanaka K, Naito M, Sasaki M, Wakai K, Tsugane S, Yamamoto M, Yamamoto K, Murakami Y, Nakamura Y, Raychaudhuri S, Inazawa J, Yamauchi T, Kadowaki T, Kubo M, Kamatani Y: Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases. *Nat Genet* 2020, 52:669-79.
- 4) Schweighauser M, Shi Y, Tarutani A, Kametani F, Murzin AG, Ghetti B, Matsubara T, Tomita T, Ando T, Hasegawa K, Murayama S, Yoshida M, Hasegawa M, Scheres SHW, Goedert M: Structures of alpha-synuclein filaments from multiple system atrophy. *Nature* 2020.
- 5) Zhang W, Tarutani A, Newell KL, Murzin AG, Matsubara T, Falcon B, Vidal R, Garringer HJ, Shi Y, Ikeuchi T, Murayama S, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres SHW: Novel tau filament fold in corticobasal degeneration. *Nature* 2020, 580:283-7.
- 6) Tanei Z, Saito Y, Ito S, Matsubara T, Motoda A, Yamazaki M, Sakashita Y, Kawakami I, Ikemura M, Tanaka S, Sengoku R, Arai T, Murayama S: Lewy pathology of the esophagus correlates with the progression of Lewy body disease: a Japanese cohort study of autopsy cases. *Acta Neuropathologica*, 2020. 11.05 on line

2. 学会発表

2018年度

- 1) Murayama S, Sengoku R, Saito Y. The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. 2019 Alzheimer's & Parkinson's Congress. March 26- 31, Lisbon
- 2) 村山繁雄 (教育講演) : オールジャパンプレインバンクネットワークに基づく動的・分子・疫学神経病理. 第9回日本神経病理学会中国・四国地方会, 高知, 2018.11.4
- 3) 鎌田正紀, 松原知康, 土居智和, 川北梨愛, 青江真吾, 野中和香子, 國土曜平, 高田忠幸, 久米広大, 串田吉生, 村山繁雄. 地方にて生前高齢者ブレインバンクに登録していた前頭側頭型認知症の1例. 第9回日本神経病理学会中国・四国地方会, 高知, 2018.11.4
- 4) 森島真帆, 柿田明美, 吉田真理, 矢部博興, 國井泰人, 入谷修司, 寺田整司, 横田 修, 大島健一, 田中紀子, 井上悠輔, 村山繁雄, 齊藤祐子. 日本ブレインバンク (JBBN) の構築とその運用. 第37回日本認知症学会学術集会, 札幌, 2018.10.12-14
- 5) 亀山昭彦, 松野裕樹, 飯田真由, 丸山光夫, 渡邊淳, 山越貴水, 分子マトリックス電気泳動を用いたマウス顎下腺ムチンの加齢変化解析, 第37回日本糖質学会年會, 2018年8月30日, 仙台国際センター
- 6) 亀山昭彦, 松野裕樹, 飯田真由, 丸山光夫, 渡邊淳, 山越貴水, 分子マトリックス電気泳動で解明する唾液腺ムチンの加齢変化, 第68回日本電気泳動学会総会シンポジウム, 2018年8月9日, 北里大学相模原キャンパス

- 7) Murayama S, Saito Y, Sengoku R. Annual Report of the Brain Bank for Aging Research Project: Tokyo, Japan. Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2018), Chicago, USA, 2018.7.22-26
 - 8) Yamakoshi K, Iida M, Nishijima R, Kameyama A, Maruyama M. Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2. International Cell Senescence Association, July 10, 2018, Canada.
 - 9) 村山繁雄 : (教育講演) . α シヌクレインの伝播を止めればパーキンソン病を根治できるか. 第 12 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres, 京都, 2018.7.5-7
 - 1 0) 村山繁雄, 齊藤祐子. α シヌクレインの伝播を止めればパーキンソン病を根治できるか-YES. 第 12 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres抄録集 Page50 ディベート. 2018.07 京都
 - 1 1) Iida M, Matsuno Y, Watanabe A, Maruyama M, Kameyama A, Yamakoshi K. A sialo-oligosaccharides rich mucin-like molecule is specifically detected in the submandibular glands of aged mice. 第 41 回日本基礎老化学会大会, 2018 年 6 月 2 日, (東京)
 - 1 2) 坂下泰浩, 新井富生, 仙石鍊平, 齊藤祐子, 村山繁雄. Lewy 小体病生検診断における顎下腺の有用性の検討. 第 59 回日本神経学会学術大会, 札幌, 2018.5.23-26
 - 1 3) 村山繁雄. オールジャパンプレインバンクネットワーク構築に向けて. 第 17 回都立病院神経内科合同症例検討会. 東京, 2018.4.18
- 2 0 1 9 年度
- 1) 山越貴水, 亀山昭彦, 西島里咲, 飯田万由, 丸山光生. ポリコームタンパク質 Bmi-1 による顎下腺ムチン糖鎖構造の制御 第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 8 日, (仙台)
 - 2) 山越貴水, 亀山昭彦, 西島里咲, 飯田万由, 丸山光生. ポリコーム蛋白質 Bmi-1 による顎下腺ムチン糖鎖構造の制御 第 13 回日本エピジェネティクス研究会, 2019 年 5 月 28 日, (横浜)
 - 3) Takata T, Suely M, Izumi Y, Saito Y, Murayama S: Limbic TDP 43 proteinopathy, clinically mimicking Alzheimer disease. 95th ANNUAL MEETING American Association of Neuropathologists, Atlanta, Georgia, 2019.6.6-9
 - 4) Matsubara T, Izumi Y, Miyamoto R, Oda M, Nodera H, Higashihara M, Sengoku R, Oki R, Fujita K, Kawarai T, Watanabe C, Saito Y, Kaji R, Murayama S: Validation study of clinical diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: the Brain Bank for Aging Research (BBAR) Project. 30th International Symposium on ALS/MND, Australia, 2019.12.4-6
 - 5) 村山繁雄 (特別講演) : 認知症の動的神経病理. 第 22 回中・四国老年期認知症研究会, 岡山, 2019.4.13
 - 6) 村山繁雄, 松原知康, 仙石鍊平, 齊藤祐子 : 2019 Annual Report, the Brain Bank

- for Aging Research, Tokyo, Japan. 第 60 回日本神経病理学会総会学術研究会, 名古屋, 2019.7.14-16
- 7) 村山繁雄, 松原知康, 仙石鍊平, 齊藤祐子: レビー小体病理伝搬仮説の検証. 第 13 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres. 東京, 2019.7.25-27
 - 8) 村山繁雄: (Dementia CPC)非流暢性失語で発症した経過 13 年の 77 歳女性剖検例. 第 38 回日本認知症学会学術集会, 東京, 2019.11.7-9
 - 9) 村山繁雄: 高齢者タウオパチー. 第 38 回日本認知症学会学術集会, 東京, 2019.11.7-9
 - 10) 村山繁雄: 老化に伴う TDP43 蛋白蓄積症. 第 38 回日本認知症学会学術集会, 東京, 2019.11.7-9
 - 11) 亀山昭彦, Analysis of viscous glycoprotein mucins: SMME and a breakthrough of glycan analysis, 第 69 回日本電気泳動学会総会シンポジウム, 2019 年 7 月 26 日、宮崎フェニックスシーガイアリゾート
- 2020 年度
- 1) Yamakoshi K, Kameyama A, Nishijima R, Maruyama M. Analyses of mucins in submandibular gland during aging in mic. 第 71 回日本電気泳動学会総会, シンポジウム, 2020 年 11 月 12 日, オンライン開催
 - 2) Yamakoshi K, Kameyama A, Nishijima R, Maruyama M. Analyses of mucins in submandibular gland during aging in mice. 第 43 回日本基礎老化学会大会, 2020 年 5 月 27-28 日, (長崎), 誌面開催
 - 3) Murayama S, Saito Y: Annual Report of Brain Bank for Aging Research 2020. 2020 Alzheimer Association International Conference, on line, 2020.27-31
 - 4) 村山繁雄: 神経病理へのいざない—神経病理学会理事長の立場から. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山, 2020.8.31-9.2
 - 5) 村山繁雄, 齊藤祐子: オールジャパンプレインバンクネットワークの構築に向けて. 第 61 回日本神経病理学会総会学術研究会, 金沢, 2020.10.12-14

3. 総説

2020 年度

- 1) 村山繁雄, 齊藤祐子: 【神経変性疾患の治療開発の現状-新たな戦略構築の基盤をめざして】治療開発のバックアップシステム ブレインバンク. 医学のあゆみ. 273 (1): 100-104, 2020.04
- 2) 村山繁雄, 齊藤祐子: (編集) 貫名信行. 神経変性疾患の治療開発の現状—新たな戦略構築の基盤をめざして【ブレインバンク】. 別冊・医学のあゆみ. 100-104, 2021. 02

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし