

血小板機能に着目した糖尿病からアルツハイマー型認知症の発症に至る機序の解明  
(19-21)

主任研究者 徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 臨床検査部（部長）

研究要旨

糖尿病(DM)はアルツハイマー型認知症(AD)の危険因子としてよく知られているが、その機序は未だ判然としていない。本研究はDM患者由来の血小板を用いて、その機能におけるamyloid  $\beta$ -peptide ( $A\beta$ )の作用を検討し、詳細な臨床情報と統合的に解析することにより、DMからAD発症にいたる機序の一端を解明することを目的とした。55歳以上のDM患者より早朝空腹時に静脈血を採取し多血小板血漿を調整し、 $A\beta$ を作用させた後、トロンビン受容体を刺激し血小板凝集能を検討した。2022年3月末までに117例を検討した。 $A\beta$ の作用は事例によって相違しており、10%以上の減弱を示したもの(減弱群:I群)が55例、不変であったもの(不変群:II群)が43例、10%以上の増強を示したもの(増強群:III群)が19例であった。抗血小板薬使用例においても増強を示すものが5例認められた。MRI画像における大脳白質病変(WMH)の体積および脳萎縮をSNIPPER法により測定した。解析し得た105例では、WMH/ICは $0.588 \pm 0.813\%$ を、萎縮を示すPAR/ICは $79.2 \pm 5.2\%$ であった。3群間における海馬萎縮を反映するVSRAD値は、I群、 $0.902 \pm 0.493$ ; II群、 $0.892 \pm 0.466$ ; III群、 $0.663 \pm 0.303$ と、III群において有意な低値を認めたが、PAR/ICではこの傾向は明らかでなかった。そこで血小板の活性化に伴って分泌される血小板由来増殖因子(PDGF-AB)に着目し、 $A\beta$ 処置の有無におけるトロンビン刺激後のPDGF-AB濃度の比 $A\beta(+)/A\beta(-)$ をPN(Positive/Negative)比として事例毎に算出、解析した( $0.871 \pm 0.370$ ,  $n=96$ )。PDGF-AB PN比はWMH/ICとは何ら相関性を認めなかったが( $R=-0.009$ )、PAR/ICとの間には有意な正の相関関係( $R=0.228$ ,  $p=0.026$ )を認めた。一方、健常人由来の血小板を用いた検討では、 $A\beta$ はトロンビン刺激時の血小板凝集を80%以上抑制したが、コラーゲンおよびADP刺激時の血小板凝集には何ら影響しなかった。トロンビン刺激に伴って惹起されるPDGF-ABの分泌およびリン酸化された低分子量ストレス蛋白質HSP27の遊離は、 $A\beta$ により抑制された。トロンビン刺激によるJNKおよびp38 MAPキナーゼのリン酸化は $A\beta$ により抑制された。

以上より、健常人において $A\beta$ は、JNKおよびp38 MAPキナーゼの上流で作用し、トロンビン刺激による血小板活性化を強く抑制する一方、DM患者においてはその抑制作用が減弱あるいは反対に増強作用を示す事例が多く見られることが明らかとなった。この $A\beta$ による抑制作用の減弱は、DM患者における脳萎縮を保護する可能性が示唆された。

主任研究者

徳田 治彦 国立長寿医療研究センター 臨床検査部 (部長)

分担研究者

櫻井 孝 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター (センター長)

小澤 修 岐阜大学大学院医学系研究科 (教授)

研究期間 2019年4月1日～2022年3月31日

#### A. 研究目的

私共はこれまでに DM 患者における血小板機能を解析し、低用量 ADP 刺激時の血小板凝集亢進における P2Y<sub>12</sub> 受容体を介するシグナルの役割、コラーゲン刺激時の血小板凝集における p38 MAP キナーゼの役割、ADP 刺激時の低分子量ストレス蛋白質 HSP27 のリン酸化と凝集能亢進との関連性、コラーゲン刺激、トロンビン刺激およびリストセチン刺激による血小板由来細胞増殖因子(PDGF)分泌に共役したリン酸化 HSP27 の細胞外への遊離等の新しい知見を明らかとし、血小板凝集における ADP およびコラーゲンの ED<sub>50</sub> 値を抗血小板薬有効性の指標として確立した。また、睡眠時無呼吸症候群患者由来の血小板において、正常では見られない Akt 活性の亢進に伴うリン酸化 HSP27 の遊離が観察されるが、DM 患者よりそのレベルは低いことを示した。一方、AD の病態として、A $\beta$ の脳内での蓄積がよく知られているが、A $\beta$ の前駆物質である amyloid 前駆体タンパク質は血小板の $\alpha$  granule に豊富に含まれ、血液中の A $\beta$  の大部分が血小板由来であることから、血小板は AD における新たな治療戦略上の標的として注目されている(Inyushin et al., *BioMed Res. Int.* 2017;2017:3948360)。DM 患者は AD の発症頻度が高いことがよく知られているが、リスクに関与する機序については未だ解明されておらず、A $\beta$ の血小板活性化に対する修飾作用は DM における AD 発症リスクの一つである可能性がある。本研究では、これらの知見を踏まえ、DM 患者における血小板機能の A $\beta$ による修飾を解析し、MRI をはじめ詳細な臨床情報と統合的に分析する。また、もの忘れセンターからバイオバンクに登録された DM に併発する AD 由来の患者情報および臨床検体を収集し、加えて血小板からのリン酸化 HSP27 等の新しいバイオマーカーの遊離の変化を分析する。以上の詳細な解析により DM から AD に至る機序の一端を血小板機能から明らかとし、DM 患者における AD ハイリスク

群の選別方法の提示など、AD 発症予防に対する有効な検査法・治療法の開発の一助とすることを目的としている。本研究は、私共の知見を AD の危険因子としての DM という観点から発展させるものであり、極めて独創性が高い。これまでに A $\beta$  が血小板凝集能を修飾するとの報告はあるが、その臨床的意義に関する検討は十分ではなく、極めて有意義と考えられる。

## B. 研究方法

### (1) 血小板機能の解析

#### 1) 対象

55 歳以上の DM 患者を解析の対象とした。また、岐阜大学における血小板機能制御機構の解析では、健常成人を被験者とした。

#### 2) 血小板血漿の調整

被験者の肘静脈等より静脈血約 10 ml をクエン酸加条件に採取し、多血小板血漿 (platelet-rich plasma: PRP) および乏血小板血漿 (platelet-poor plasma: PPP) を分離調整した。

#### 3) 血小板凝集能の解析

PRP を A $\beta$ 1-40(A $\beta$ )にて前処置したのち、トロンビンで刺激し、レーザー光スキャタリング法(LS 法)に基づく測定装置 (PA-200:興和) を用いて血小板凝集能の変化を解析した。LS 法では透過光遮蔽率(Trans %)の他に、血小板凝集塊の大きさにより、微小凝集塊 (small, 25  $\mu$ m 未満)、中凝集塊 (medium, 25-50  $\mu$ m) および大凝集塊 (large, 50-75  $\mu$ m) が識別、表示できる。これらの刺激時 AUC を数量化し、解析に用いた。反応停止後の PRP を 20,000 $\times g$  にて 2 分間遠心分離し、沈査を細胞画分とし SDS にて可溶化するとともに、上清を-30 度で保管し、細胞レベルでの解析に供した。

#### 4) 臨床情報の収集

年齢、性別、身長、体重、血圧、DM 罹病期間、治療期間、治療内容、網膜症の有無および病期、認知機能(MMSE)、服用中の薬剤名、白血球数、赤血球数、血色素値、血小板数、総蛋白、アルブミン、AST、ALT、ALP、 $\gamma$ -GTP、総コレステロール、HDL-コレステロール、中性脂肪、尿素窒素、クレアチニン、eGFR、シスタチン C、血糖、HbA1c、尿蛋白、尿中アルブミン値、頭部 MRI 所見を収集した。

#### 5) 頭部 MRI 画像における大脳白質病変および脳萎縮の解析

2022 年 2 月までに脳 MRI を実施した DM 患者 117 名において、コンピューターによる容積分析(SNIPPER)を実施し、白質病変容積(WMH)/頭蓋内容積(IC)および脳実質容積(PAR)/IC を解析した。

#### 6) 血小板細胞レベルでの解析

可溶化した細胞画分中の機能性蛋白質のリン酸化をウェスタンブロット法にて解析した。

リン酸化レベルは image J ver. 1.32 を用いて数値化し解析した。反応上清中の PDGF-AB 濃度およびリン酸化 HSP27 濃度を ELISA 法にて測定し、これらの血小板刺激時の分泌・遊離につき検討した。PPP 中の A $\beta$  を ELISA 法にて測定した。

#### 7) 統計学的解析

統計学的解析には SPSS ver. 19.0 (IBM SPSS Statistic Inc.) を使用した。

#### (2) もの忘れセンター (バイオバンク) 試料の解析

もの忘れセンターからバイオバンクに登録された AD 患者のうち、年齢・性別を一致させた DM 合併例、非合併例をそれぞれ 60 例抽出し、血漿中のリン酸化 HSP27 を ELISA 法にて測定した。また、APOE 遺伝子型を確認し得たそれぞれ 34 例および 47 例について、遺伝子情報を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、「ヘルシンキ宣言」ならびに「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守するものとし、研究計画は国立長寿医療研究センター倫理審査委員会および岐阜大学医学系研究科医学研究等倫理審査委員会において承認を得た。検体収集に当たっては委員会で承認された説明文書、患者同意書の書式を用いて患者へのインフォームドコンセントを行い、患者の自由意思に基づく同意を得て血液試料を得るとともに、匿名化の上で解析に用いることとしており、供給された試料は倫理委員会による規定にそって、鍵のかかる冷凍庫に保管するなどの処置を適切に実施した。

### C. 研究結果

#### 1) 血小板機能と SNIPPER 法による解析

2022年1月末までに117例のDM患者(1型：10例；2型：107例)について、Laser Scattering法による血小板凝集解析を行った。ADP刺激時のED<sub>50</sub>値(註：健常者の範囲 1.534-2.022  $\mu$ M)より亢進とされたものは45例、抑制とされたものは51例、不変とされたものは18例であった(3件判定不能)。なお抗血小板薬の投与は32例で、うち23例が抑制を、不変が6例を示し、亢進例は3例であった。同じ症例において引き続き、A $\beta$ による前処置の後にトロンビンで刺激し血小板凝集に対するA $\beta$ の作用を検討した。その結果、トロンビン刺激時の血小板凝集に対するA $\beta$ の作用は事例により相違を示したため、A $\beta$ 処置がトロンビン刺激による透過光量(AUC)の増加分( $\Delta$ )に与えた変化を変化率： $\Delta A\beta(+)/\Delta A\beta(-) \times 100(\%)$ として半定量化し、<90%を減弱群(I群)、90~110%を不変群(II群)、>110%を増強群(III群)とした。I群が53例、II群が41例、III群が18例であった。ADP ED<sub>50</sub>値はそれぞれ  $2.263 \pm 1.955 \mu$ M、 $1.525 \pm 0.909 \mu$ M、 $1.386 \pm 0.819 \mu$ Mであった。群間の比較ではI群 vs II群,  $p=0.028$ ; I群 vs III群,  $p=0.086$ ; II群 vs III群,  $p=0.597$ とI群とII群の間に有意差を認めた。なお、

抗血小板薬投与例では減弱群17例、不変群9例、増強群5例であった。2021年11月15日より年齢を一致させた非DM患者よりサンプルを収集し、2022年3月31日までに15例の解析を行ったが、13件が抑制で2件が不変を呈した。

2022年1月末までに117例のMRI画像を、コンピューターを用いてSNIPPER法にて分析した。このうち12例は解析に不適切とされ、これらを除外した105例を検討対象とした。WMH/ICは $0.588 \pm 0.813\%$ 、PAR/ICは $79.2 \pm 5.2\%$ であった。

#### 2) トロンビン刺激に対するA $\beta$ の反応性の相違による層別化解析

2022年1月末までに収集した臨床情報を、トロンビン刺激時の血小板凝集に対するA $\beta$ の作用に基づく上記の3群に分類し、比較解析を行った。年齢はI群、 $76.3 \pm 7.0$ 歳；II群、 $75.4 \pm 6.3$ 歳；III群、 $73.0 \pm 8.1$ 歳と有意差を認めなかった。血糖コントロールの指標であるHbA1c値はI群、 $9.1 \pm 1.8\%$ ；II群、 $8.6 \pm 1.6\%$ ；III群、 $8.9 \pm 2.2\%$ であり、有意差を認めなかった。その他、血圧、血小板数、中性脂肪値、コレステロール値に有意差を認めなかった。一方、MRIにおける海馬萎縮の指標であるVSRAD値は、I群、 $0.902 \pm 0.493$ ；II群、 $0.892 \pm 0.466$ ；III群、 $0.663 \pm 0.303$ であった。群間の比較ではI群 vs II群、 $p=0.922$ ；I群 vs III群、 $p=0.061$ ；II群 vs III群、 $p=0.070$ であり、III群ではVSRAD値が高値である傾向を認めた。なお、SNIPPERによるWMH/ICはI群、 $0.565 \pm 0.747\%$ ；II群、 $0.708 \pm 1.004\%$ ；III群、 $0.503 \pm 0.765\%$ で各群間に有意差を認めなかった。PAR/ICはI群、 $79.6 \pm 5.1\%$ ；II群、 $79.1 \pm 5.1\%$ ；III群、 $80.2 \pm 3.8\%$ で各群間に有意差を認めなかった。

#### 3) トロンビン刺激時のPDGF-AB分泌に対するA $\beta$ の影響の検討

DM患者96例について、トロンビン刺激後の上清中のPDGF-AB濃度を測定し、血小板からのPDGF-AB分泌に対するA $\beta$ の影響を検討した。A $\beta$ 処置ありとA $\beta$ 処置なしにおけるトロンビン刺激後のPDGF-AB濃度の比A $\beta$ (+)/A $\beta$ (-)を事例毎に算出し、PN(Positive/Negative)比として解析した。PDGF-AB PN比は $0.871 \pm 0.370$ (最大値2.449、中央値0.914、最小値0.088)であった。PDGF-AB PN比は同様に算出したトロンビン刺激時の血小板凝集能AUCにおけるPN比との間に強い相関を認めた( $R=0.527$ ,  $P<0.001$ )。改めて、SNIPPERによる解析結果をPDGF-AB PN比を用いて解析したところ、WMH/ICとの間には何ら相関性を認めなかったが( $R=-0.009$ )、PAR/ICの間には有意な正の相関関係( $R=0.228$ ,  $p=0.026$ )を認めた。一方PPP中のA $\beta$ レベル( $71.8 \pm 18.4$  pg/ml)は、PDGF-AB PN比との間に何ら相関性を認めなかった( $R=-0.149$ ,  $p=0.146$ )。

#### 4) バイオバンク試料を用いた検討

HSP27レベルはDM群で $3,216 \pm 434.3$  pg/ml、非DM群で $2,670.1 \pm 407.9$  pg/ml といずれも著明な高値を示した。採血手技による血小板活性化の影響が強く、バイオバンク試料の解析は困難と考えられた。なおAPO E4を有するものはそれぞれ41.2%、36.2%と頻度の差異を認めなかった。

#### 5) 血小板機能の細胞レベルでの解析

健常者由来の血小板を用いて、 $A\beta$ の血小板凝集能および血小板活性化に対する作用を検討した。 $A\beta$ はトロンビン刺激時の血小板凝集を80%以上抑制したが、コラーゲンおよびADP刺激時の血小板凝集には何ら影響しなかった。 $A\beta$ は、**protease-activated receptor-1 (PAR-1)**のアゴニストであるSCP0237あるいは**PAR-4**のアゴニストであるA3227により惹起される血小板凝集を抑制した。トロンビン刺激に伴って惹起されるPDGF-ABの分泌およびリン酸化された低分子量ストレス蛋白質HSP27の遊離は、 $A\beta$ により抑制された。さらに細胞質画分のウェスタンブロット解析により、トロンビン刺激によるJNKおよびp38 MAPキナーゼのリン酸化は $A\beta$ により抑制された。

#### D. 考察と結論

本研究により、DM患者由来の血小板におけるトロンビン刺激時の血小板凝集能に対する $A\beta$ の影響には、増強、不変および減弱のいずれも見られることが示された。一方、健常人において $A\beta$ はトロンビン刺激時の血小板活性化に対して顕著な抑制作用を示すことが明らかとなった。昨年度に引き続き、さらに症例数を重ねて血小板凝集能に対する作用により層別化し、海馬萎縮の指標であるVSRAD値が、亢進群において不変または減弱群より低値を呈することが示唆された。しかしながら、SNIPER法による分析結果からは有意な知見が得られなかった。そこで、血小板の活性化の指標としてPDGF-AB分泌に着目し、 $A\beta$ 作用のPN比を解析した。PDGF-AB PN比は血小板凝集能AUCにおけるPN比と良好な相関関係を示したことから、血小板活性化の変化指標として妥当かつより定量的であると考えられた。PDGF-AB PN比の平均値は健常人におけるトロンビン刺激時の血小板凝集に対する $A\beta$ の抑制率(80%以上抑制)より明らかに高値であることから、DM患者にみられたPN比の増加は、DMに特徴的な病態変化である可能性が示唆された。本研究において、DM患者におけるPDGF-AB PN比はWMH/ICとの間には何ら相関性を認めなかったがPAR/ICとの間には正の相関関係が認められたことから、今回検討し得たDM症例において、 $A\beta$ の抑制作用は大脳白質病変には影響しないが、一方で $A\beta$ による抑制作用の減弱が脳萎縮を保護する可能性が示唆された。この結果は、層別化解析におけるVSRAD値が減弱群で低値を呈した結果と矛盾しないものと考えられる。

健常者由来の血小板において、 $A\beta$ は、**protease-activated receptor-1 (PAR-1)**のアゴニストであるSCP0237あるいは**PAR-4**のアゴニストであるA3227により惹起される血小板凝集を抑制したことから、 $A\beta$ はトロンビン受容体の下流においてその抑制作用を発揮すると考えられた。また、トロンビン刺激に伴って惹起されるPDGF-ABの分泌およびリン酸化された低分子量ストレス蛋白質HSP27の遊離が

A $\beta$ により抑制されることおよび、トロンビン刺激によるJNKおよびp38 MAPキナーゼのリン酸化がA $\beta$ により抑制されることが明らかとなった。既に私共はトロンビン刺激による $\alpha$ 顆粒からのPDGF-AB分泌にはp38 MAPキナーゼとJNKの双方の活性化が関与すること、p38 MAPキナーゼによりリン酸化されたHSP27が細胞外に遊離することを明らかとしていることから、A $\beta$ はJNKおよびp38 MAPキナーゼの上流において、PAR-1およびPAR-4を介したトロンビンによる血小板の活性化を抑制していることが示唆された。一方、分担研究において明らかとなったコラーゲン刺激時における血小板からのリン酸化HSP27遊離のオリーブポリフェノールによる抑制作用は、これらの新たな抗動脈硬化・抗炎症作用機序として、低用量CXCL12と低用量コラーゲンの同時刺激によるPDGF-AB分泌、sCD40L遊離、リン酸化HSP27遊離の相乗的促進作用は、糖尿病をはじめとする高齢期の慢性炎症における新たな病態として、低用量トロンボポエチンと低用量コラーゲンの同時刺激による血小板凝集促進作用は、血小板減少時の出血に対する新たな治療戦略の一助として重要な新知見であると考えられた。

以上より、健常人においてA $\beta$ は、JNKおよびp38 MAPキナーゼの上流においてトロンビン刺激による血小板活性化を強く抑制する一方、DM患者においてはその抑制作用が減弱あるいは反対に増強作用を示す事例が多く見られることが明らかとなった。このA $\beta$ による抑制作用の減弱は、DM患者における脳萎縮を保護する可能性が示唆された。

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

2019 年度

- 1) Tokuda H, Kusunose M, Senda K, Kojima K, Onuma T, Kojima A, Mizutani D, Enomoto Y, Iwama T, Iida H, Kozawa O. The release of phosphorylated-HSP27 from activated platelets of obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patients. *Respir. Investig.* 2020; 58(2):117-127.
- 2) Mizutani D, Onuma T, Tanabe K, Kojima A, Uematsu K, Nakashima D, Doi T, Enomoto Y, Matsushima-Nishiwaki R, Tokuda H, Ogura S, Iida H, Kozawa O, Iwama T. Olive polyphenol reduces the collagen-elicited release of

- phosphorylated HSP27 from human platelets. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2020; 84(3):536-543.
- 3) Ogama N, Sakurai T, Kawashima S, Tanikawa T, Tokuda H, Satake S, Miura H, Shimizu A, Kokubo M, Niida S, Toba K, Umegaki H, Kuzuya M. Association of glucose fluctuations with sarcopenia in older adults with Type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Med.* 2019;8:pii: E319. doi: 10.3390/jcm8030319.
  - 4) Kim W, Tokuda H, Kawabata T, Fujita K, Sakai G, Nakashima D, Tachi J, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Tanabe K, Otsuka T, Iida H and Kozawa O. Enhancement by HSP90 inhibitor of PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction in osteoblasts: suppression of SAPK/JNK and p38 MAP kinase. *Prostag. Oth. Lipid M.* 2019;143:106327.
  - 5) Fujita K, Otsuka T, Kawabata T, Sakai G, Kim W, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. Wnt3a downregulates thyroid hormone-induced osteocalcin expression in osteoblasts. *Exp. Ther. Med.* 2019;18(3):1921-1927.
  - 6) Kawabata T, Tokuda H, Fujita K, Matsushima-Nishiwaki R, Sakai G, Tachi J, Hioki T, Kim W, Iida H, Otsuka T, Kozawa O. HSP90 inhibitors diminish PDGF-BB-induced migration of osteoblasts via suppression of p44/p42 MAP kinase. *Biomed. Res.* 2019;40(4): 169-178.
  - 7) Kito Y, Iida M, Tanabe K, Onuma T, Tsujimoto M, Nagase K, Tokuda H, Iwama T, Kozawa O, Iida H. Smoking cessation affects human platelet activation induced by collagen. *Exp Ther. Med.* 2019;18(5):3809-3816.
  - 8) Kawabata T, Tokuda H, Kuroyanagi G, Fujita K, Sakai G, Kim W, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Yata K, Wang S, Mizoguchi A, Otsuka T, Kozawa O. Incretin accelerates platelet-derived growth factor-BB-induced osteoblast migration via protein kinase A: The upregulation of p38 MAP kinase. *Sci Rep.* 2020;10(11):2341.

#### 2020 年度

- 1) Onuma T, Iida M, Kito Y, Tanabe K, Kojima A, Nagase K, Uematsu K, Enomoto Y, Doi T, Tokuda H, Ogura S, Iwama T, Kozawa O, Iida H. Cigarette smoking cessation temporarily enhances the release of phosphorylated-HSP27 from human platelets. *Intern. Med.* 2020;59(15):1841-1847.
- 2) Nakashima D, Onuma T, Tanabe K, Kito Y, Uematsu K, Mizutani D, Enomoto Y, Tsujimoto M, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Tokuda H, Ogura S, Iwama T, Kozawa O, Iida H. Synergistic effect of collagen and CXCL12 in the low doses on

- human platelet activation. *PLoS One*. 2020;15(10):e0241139.
- 3) Hioki T, Kawabata T, Sakai G, Fujita K, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Kim W, Otsuka T, Iida H, Tokuda H, Kozawa O. Resveratrol suppresses insulin-like growth factor I-induced osteoblast migration: Attenuation of the p44/p42 MAP kinase pathway. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2020;84(12):2428-2439.
  - 4) Kim W, Tanabe K, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Fujita K, Kawabata T, Sakai G, Tachi J, Hioki T, Nakashima D, Yamaguchi S, Otsuka T, Tokuda H, Kozawa O, Iida H. Tramadol enhances PGF<sub>2α</sub>-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. *Heliyon*. 2020;6(8):e04779.
  - 5) Tachi J, Tokuda H, Onuma T, Yamaguchi S, Kim W, Hioki T, Matsushima-Nishiwaki R, Tanabe K, Kozawa O, Iida H. Duloxetine strengthens osteoblast activation by prostaglandin E<sub>1</sub>: Upregulation of p38 MAP kinase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2020;151:106481.
  - 6) Hioki T, Tokuda H, Nakashima D, Fujita K, Kawabata T, Sakai G, Kim W, Tachi J, Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Otsuka T, Iida H, Kozawa O. HSP90 inhibitors strengthen extracellular ATP-stimulated synthesis of interleukin-6 in osteoblasts: Amplification of p38 MAP kinase. *Cell Biochem. Funct.* 2021;39(1):88-97.
  - 7) Kuroyanagi G, Sakai G, Otsuka T, Yamamoto N, Fujita K, Kawabata T, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Tokuda H. HSP22 (HSPB8) positively regulates PGF<sub>2α</sub>-induced synthesis of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in osteoblasts. *J. Orthop. Surg. Res.* 2021;16(1):72.

#### 2021 年度

- 1) Mizutani D, Tokuda H, Onuma T, Uematsu K, Nakashima D, Ueda K, Doi T, Enomoto Y, Matsushima-Nishiwaki R, Ogura S, Iida H, Kozawa O, Iwama T. Amyloid β protein negatively regulates human platelet activation induced by thrombin receptor-activating protein. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2022;86(2):185-198.
- 2) Sugimoto T, Araki A, Fujita H, Honda K, Inagaki N, Ishida T, Kato J, Kishi M, Kobayashi K, Kouyama K, Noma H, Ohishi M, Satoh-Asahara N, Shimada H, Sugimoto K, Suzuki S, Takeya Y, Tamura Y, Tokuda H, Umegaki H, Watada H, Yamada Y, Sakurai T. The multi-domain intervention trial in older adults with diabetes mellitus for prevention of dementia in Japan: Study protocol for a

- multi-center, randomized, 18-month controlled trial. *Front. Aging. Neurosci.* 2021;13:680341.
- 3) Tachi J, Onuma T, Yamaguchi S, Kim W, Hioki T, Matsushima-Nishiwaki R, Tanabe K, Tokuda H, Kozawa O, Iida H. Duloxetine suppresses BMP-4-induced release of osteoprotegerin via inhibition of the SMAD signaling pathway in osteoblasts. *Biochem. Cell. Biol.* 2021;99(5):578-586.
  - 4) Kim W, Tokuda H, Tanabe K, Yamaguchi S, Hioki T, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Acetaminophen reduces osteoprotegerin synthesis stimulated by PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2α</sub> in osteoblasts: Attenuation of SAPK/JNK but not p38 MAPK or p44/p42 MAPK. *Biomed. Res.* 2021;42(2):77-84.
  - 5) Hioki T, Tokuda H, Kuroyanagi G, Kim W, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O. Olive polyphenols attenuate TNF-α-stimulated M-CSF and IL-6 synthesis in osteoblasts: Suppression of Akt and p44/p42 MAP kinase signaling pathways. *Biomed. Pharmacother.* 2021;141:111816.
  - 6) Hioki T, Tokuda H, Tanabe K, Kim W, Tachi J, Yamaguchi S, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Amplification by tramadol of PGD<sub>2</sub>-induced osteoprotegerin synthesis in osteoblasts: Involvement of μ-opioid receptor and 5-HT transporter. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2021;172:102323.
  - 7) Hioki T, Kuroyanagi G, Fujita K, Sakai G, Kawabata T, Kim W, Tachi J, Matsushima-Nishiwaki R, Iida H, Kozawa O, Tokuda H. Incretins Enhance PGF<sub>2α</sub>-Induced Synthesis of IL-6 and Osteoprotegerin in Osteoblasts. *Horm. Metab. Res.* 2022;54(1):42-49.
  - 8) Kuroyanagi G, Kawabata T, Tokuda H, Fujita K, Matsushima-Nishiwaki R, Sakai G, Tachi J, Hioki T, Kim W, Iida H, Otsuka T, Kozawa O. Attenuation by HSP90 inhibitors of EGF-elicited migration of osteoblasts: Involvement of p44/p42 MAP kinase. *Connect. Tissue. Res.* 2021;8:1-11.
  - 9) Sable-Morita S, Okura M, Tanikawa T, Kawashima S, Tokuda H, Arai H. Associations between diabetes-related foot disease, diabetes, and age-related complications in older patients. *Eur. Geriatr. Med.* 2021;12(5):1003-1009.
  - 10) Sable-Morita S, Tanikawa T, Satake S, Okura M, Tokuda H, Arai H. Microvascular complications and frailty can predict adverse outcomes in older patients with diabetes. *Geriatr. Gerontol. Int.* 2021;21(4):359-363.
  - 11) Sable-Morita S, Arai Y, Takanashi S, Aimoto K, Okura M, Tanikawa T, Maeda K, Tokuda H, Arai H. Development and testing of the foot care scale for older

- Japanese diabetic patients. *Int. J. Low. Extrem. Wounds*. 2021:15347346211045033. Online ahead of print.
- 12) Mizutani D, Tokuda H, Kojima K, Onuma T, Enomoto Y, Doi T, Matsushima-Nishiwaki R, Ueda K, Nakashima D, Tachi J, Ogura S, Iida H, Sakurai T, Kozawa O, Iwama T. Inverse correlation of Akt activity in platelets with hippocampal atrophy: a pilot study in diabetes mellitus patients. *J. Diabetes Res.* submitting.

## 2. 学会発表

### 2019 年度

- 1) 真野滯、谷川隆久、川嶋修司、徳田治彦、荒井秀典。  
高齢者糖尿病における DASC-8 を使用したカテゴリー分類別の使用薬剤調査。  
第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会、仙台、2019 年 5 月 23 日。
- 2) 大釜典子、櫻井孝、川嶋修司、谷川隆久、徳田治彦、佐竹昭介、三浦久幸、清水敦哉、小久保学、新飯田俊平、鳥羽研二、梅垣宏行、葛谷雅文。  
高齢者糖尿病における血糖コントロールとサルコペニアの関連。  
第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会、仙台、2019 年 5 月 23 日。
- 3) 徳田治彦、藤田和彦、新飯田俊平、小澤修。  
骨芽細胞においてストレス蛋白質(HSP)90 はトロンビンによるインターロイキン (IL)-6 産生を制御する-p38 mitogen-activated protein kinase(MAPK)の関与-。  
第 61 回日本老年医学会学術集会、仙台、2019 年 6 月 7 日。
- 4) サブレ森田さゆり、谷川隆久、川嶋修司、徳田治彦、荒井秀典。  
高齢者糖尿病患者の足病変とサルコペニアおよびダイナペニアの検討。  
第 61 回日本老年医学会学術集会、仙台、2019 年 6 月 7 日。

### 2020 年度

- 1) 徳田治彦、川端哲、新飯田俊平、小澤修。  
ストレス蛋白質 (HSP)90 は骨芽細胞において血小板由来増殖因子 (PDGF-BB) により惹起される細胞遊走を促進的に制御する-p44/p42 mitogen-activated protein kinase(MAPK)経路の関与-。  
第 62 回日本老年医学会学術集会、2020 年 8 月 4-6 日、誌上发表。

### 2021 年度

なし

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