

老齢 SARS-CoV-2 感染モデルマウスの確立と獲得免疫系による重篤化の解析 (21-42)

主任研究者 丸山 光生 国立長寿医療研究センター ジェロサイエンス研究センター長

研究要旨

本研究の「研究の対象範囲」は長寿医療研究開発費取扱規程第2条に示された「二. 加齢に伴う疾患のメカニズムの解明に関する研究」に属する。2019年11月に中華人民共和国湖北省武漢で最初の感染症例が見つかったとされる新型コロナウイルス感染症(Coronavirus Disease 2019: Covid-19)は翌2020年3月にはWHO によりパンデミック宣言が為されるほど世界的に大流行し、わが国でも特に基礎疾患を有する成人とともに高齢者の罹患後の重篤化が重大な問題となり、感染を制御すべき免疫系の加齢に伴う機能低下との関連が注目されている。SARS-CoV-2ウイルス感染は、若齢者では無症状であることが多いが、高齢者において重篤化することが知られている。Covid-19の最大のリスク因子は加齢であり、加齢によって低下する生体防御機能とともに高齢者はSARS-CoV-2に感染しやすく、かつ重篤化しやすいと考えられる。しかし、老化の進行度は個人差が大きいことも知られており、このような年齢に応じた病態の差異を生ずるメカニズムを解明するには、マウスなどの実験動物による解析が不可欠であるが、これまでにSARS-CoV-2ウイルスが感染に必要な細胞膜に発現する宿主側スパイク分子アンジオテンシン変換酵素2 (human angiotensin-converting enzyme:ACE2) がヒトとマウスで異なる為、マウスはヒトと同様な反応を示さない事 (Frieman et al., 2012)、ヒトACE2を発現させるとマウスでもヒトと同様の症状を呈する事が報告されている (Jiang et al., 2020)。本研究では丸山ら(主任研究者)が2種類のSARS-CoV-2感染モデルマウスを用いて、SARS-CoV-2感染による免疫系の変化を考察するとともに、免疫機能や細胞老化に関わる因子を解析することで感染後の重篤化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。本研究に関わる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適切に管理してきた。さらに機能的老化モデルマウス、あるいはMEF細胞等(初代培養細胞株)への一部のウイルス株や肺炎球菌株を用いた感染実験においては国立長寿医療研究センター感染実験安全委員会、動物実験倫理委員会に加えて遺伝子組換え実験委員会による承認を受けた後、適切に実施できた。

主任研究者

丸山 光生 国立長寿医療研究センター ジェロサイエンス研究センター長

分担研究者

錦見 昭彦	国立長寿医療研究センター バイオセーフティ管理室(室長)
高岡 晃教	北海道大学遺伝子病制御研究所 分子生体防御分野(教授)
赤津 裕康	名古屋市立大学大学院医学研究科地域医療教育学(教授)

A. 研究目的

2019 年 11 月に中華人民共和国湖北省武漢で最初の感染症例が見つかったとされる新型コロナウイルス感染症(Coronavirus Disease 2019:Covid-19)は翌 2020 年 3 月には WHO によりパンデミック宣言が為されるほど世界的に大流行し、わが国でも特に基礎疾患を有する成人とともに高齢者の罹患後の重篤化が重大な問題となり、感染を制御すべき免疫系の加齢に伴う機能低下との関連が注目されている。本研究の最終目標としては Covid-19 感染症の高齢者に対する重篤化のメカニズムの解明を分子レベルで臨床研究に繋げていくことで現在、断続的に報告の続く変異ウイルス株に対する感染力や病原性、既に世界中で接種されている mRNA ワクチンの効果やその結果として液性免疫系を中心としたウイルスに対する抗体価の評価、さらには細胞性免疫においても重要な記憶 T, B 細胞の維持される機構についても重要な知見を積み上げることに他ならない。SARS-CoV-2 ウイルス感染は、若齢者では無症状であることが多いが、高齢者において重篤化することが知られている。Covid-19 の最大のリスク因子は加齢であり、加齢によって低下する生体防御機能とともに高齢者は SARS-CoV-2 に感染しやすく、かつ重篤化しやすいと考えられる。しかし、老化の進行度は個人差が大きいことも知られており、このような年齢に応じた病態の差異を生ずるメカニズムを正確に解明するには、マウスなどの実験動物による解析が不可欠である。これまでに SARS-CoV-2 ウイルスが感染に必要な細胞膜に発現する宿主側スパイク分子アンジオテンシン変換酵素 2 (human angiotensin-converting enzyme : ACE2)がヒトとマウスで異なる為、マウスはヒトと同様な反応を示さない事(Frieman et al., 2012)、ヒト ACE2 を発現させるとマウスでもヒトと同様の症状を呈する事が報告されている(Jiang et al., 2020)。そこで本研究では主任研究者の丸山らが 2 種類の SARS-CoV-2 感染モデルマウスを用いて、SARS-CoV-2 感染による免疫系の変化を考察するとともに、免疫機能や細胞老化に関わる因子を解析することで感染後の重篤化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

一方、高岡は病原体由来核酸の認識に着目して SARS-CoV-2 感染を含むウイルス感染時の自然免疫系核酸センサーを介したシグナル研究ならびに、自然免疫系核酸センサーによる抗ウイルス能に関する研究において分担研究者に加わっていただき、SARS-CoV-2 感染モデルマウスの自然免疫系による重篤化の解析を中心に推進した。同時に丸山らで樹立した老化細胞可視化除去マウスモデル由来のマウス初代線維芽細胞(MEFs)を使用して、継代培養を重ねていくことで、内在性の老化マーカーである p16INK4a の発現量と自然免疫系センサー分子の発現、そのシグナル、抗ウイルス応答関連遺伝子の変化と相関の検討も進めた。こうした老化に関わる現象が病原体の生体防御の機能低下とどのように関連するのか、Covid-19 感染症に焦点を当てた研究を進めた。これまでにすでに数多くの研究成果として論文化されているヒト ACE2 を発現させたマウスをモデルとして老化個体まで加齢育成し、SARS-CoV-2 感染を通して、免疫系、炎症に関わる分子の解析を行っている。

さらにヒトを対象とする臨床研究につなげる橋渡し研究として、同じく分担研究者の赤津とはヒト(SARS-CoV-2 感染者およびワクチン接種者、特に高齢者)サンプルへのアクセスが可能な環境にあることから主任研究者の丸山らの老齢 SARS-CoV-2 感染モデルマウスを用いて得られた知見との連動を図りながら研究展開を行った。

B. 研究方法

本研究では主任研究者の丸山らのグループが2種類のSARS-CoV-2感染モデルマウスを用いて、SARS-CoV-2感染による免疫系の変化を考察するとともに、免疫機能や細胞老化に関わる因子を解析することで感染後の重篤化のメカニズムを明らかにすることを目指した。併せて丸山らが樹立した老化細胞可視化除去マウス由来のMEFを用いて、分担研究者の高岡は病原体由来核酸の認識に着目してSARS-CoV-2感染を含むウイルス感染時の自然免疫系核酸センサーを介したシグナル研究ならびに、自然免疫系核酸センサーによる抗ウイルス能に関する研究を中心にSARS-CoV-2感染モデルマウスの自然免疫系による重篤化の解析を分担する。また、ヒトを対象とする臨床研究との相関、橋渡し研究として、ヒト(SARS-CoV-2感染者およびワクチン接種者、特に高齢者)サンプルへのアクセスが可能な環境にある分担研究者、赤津とは一定の間隔でCovid-19患者から感染に対する免疫応答の情報、知見を丸山らの老齢SARS-CoV-2感染モデルマウスを用いて得られる知見との連動を図りながら研究展開を行ってきた。以下に2020年度の下半期半年あまりを含め、2021年度1年間の研究を主任研究者の行った研究の内容を方法、成果を中心に進捗状況を報告する。

①hACE2導入マウスの確立とSARS-CoV-2感染老齢個体における病態の解析

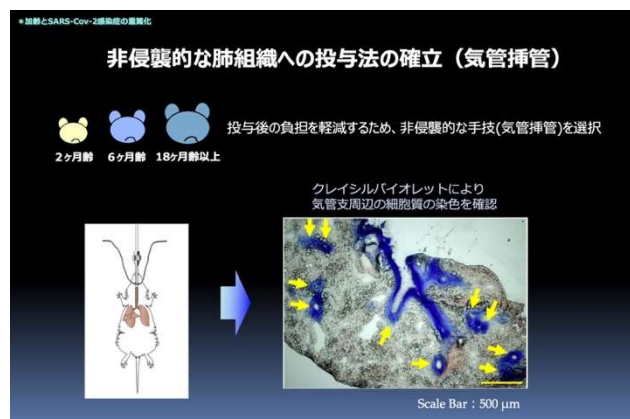
＜準備期間 ～2021年3月＞

- * hACE2遺伝子組換え実験、(大臣確認実験)、SARS-CoV-2ウイルス感染実験申請～承認
- * NCGG実験動物施設棟内P3A感染実験室の運用に向けた整備、稼働後の維持、運営
- * AAV9hACE2ベクターを用いたマウスモデルの構築準備
- * SARS-CoV-2感染モデル法の確立に向けた予備実験

具体的には、

- * 国立長寿医療研究センター内の実験動物施設棟の飼育マウスにおいてACE2, TMPRSS2の加齢変化を4ヶ月齢と22ヶ月齢のC57BL/6Jマウス由来の肺と脾臓における遺伝子発現を定量PCRによって解析した。
- * 当施設の加齢育成動物(C57BL/6J-Ageマウス)を用いて、アデノ随伴ウイルスベクターによるhACE2の遺伝子導入により、SARS-CoV-2の老齢マウス感染モデルの作成に手掛けた。来年度のモデルの作成までに、AAVベクターを用いる実験の予備検討として、気管挿管の手技についてもクレシルバイオレット溶液等を用いた染色法により確認した(上図)。

＜2021年4月～＞



(図)C57BL/6J4ヶ月齢の凍結切片(20μm)、50μmのクレシルバイオレットを気管挿管し、気管周囲の細胞質の染色を確認した(矢印)。

*** AAV9hACE2 ベクターを用いたマウスモデルの構築準備**

野生型 C57BL/6J マウス(4 ヶ月齢と 8 ヶ月齢)に AAV-hACE2 を気管挿管し、2 ヶ月後に SARS-CoV-2 ウイルス 10⁶PFU/ml 経鼻投与し、感染 4 日後のマウスから肺を摘出し、AAV ベクター系にて遺伝子導入された hACE2 遺伝子と hACE を介した SARS-CoV-2 感染後のウイルス遺伝子についてリアルタイム PCR にて、それぞれ確認する。

*** hACE2KI/KI モデルマウス系の SARS-CoV-2 感染の加齢変化と重篤化の構築準備**

AAV ベクター由来の hACE2 モデルでの予備実験を考察して、モデル動物作成の個体差が大きいことを考慮し、遺伝子組換え大臣申請を出して、hACE2 ノックインマウスを購入し、2021 年度より、飼育開始した。hACE2 ノックインモデルマウスが 8 ヶ月齢になるのを持って、まずは細胞老化マーカー ink4A の発現と肺における ink4A の発現ならびに肺における hACE2 遺伝子、TMPRSS2 遺伝子の発現に性差はないことを確認する。

② SARS-CoV-2 感染老齢個体における病態解析と重篤化に関する免疫応答の解析：

AAV ベクター由来の hACE2 モデルと hACE2 ノックインマウスモデル系を用いて、SARS-CoV-2 ウイルス感染実験を行い、若齢と老齢個体を用いて病態解析、重篤化に関わるサイトカインや老化に伴う SASP をはじめとする免疫応答の解析を行う。具体的には AAV ベクター由来の hACE2 モデルマウスを用いたプロトコルでは hACE 発現後 2 ヶ月経って SARS-CoV-2 ウイルス感染を行い、体重変化を確認しながら 2 回目のウイルス感染を行う。hACE2 の発現の安定しているノックインマウスの方は 5 ヶ月齢になる個体でのウイルス感染、ならびに HE 染色による病理変化を解析する。

(倫理面への配慮)

主任研究者の属する施設(NCGG)ではヒト試料を対象とする研究は実施しなかった。すべての研究に関わる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当該研究施設の動物実験倫理委員会で承認を受けた後に動物実験ガイドラインに則って適切に管理、実施した。実験上必要とされる遺伝子サンプル、動物の取り扱いは「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物多様性の確保に関する法律」を遵守した。研究遂行に必要な hACE2 遺伝子組み換えマウスの作出に絡む遺伝子組換え実験申請においては文部科学省の大臣申請の手続きも 2021 年度までに終了した。さらに機能的老化モデルマウス（免疫老化関連遺伝子欠損マウス）、あるいは MEF 細胞等（初代培養細胞株）への一部のウイルス株（インフルエンザウイルス株など）を用いた感染実験においては国立長寿医療研究センター 感染実験安全委員会、動物実験倫理委員会に加えて遺伝子組換え実験委員会による承認を受けた後、適切に実施した。

C. 研究結果

① hACE2 導入マウスの確立と SARS-CoV-2 感染老齢個体における病態の解析

＜AAV9hACE2 ベクターを用いたマウスモデルの構築＞

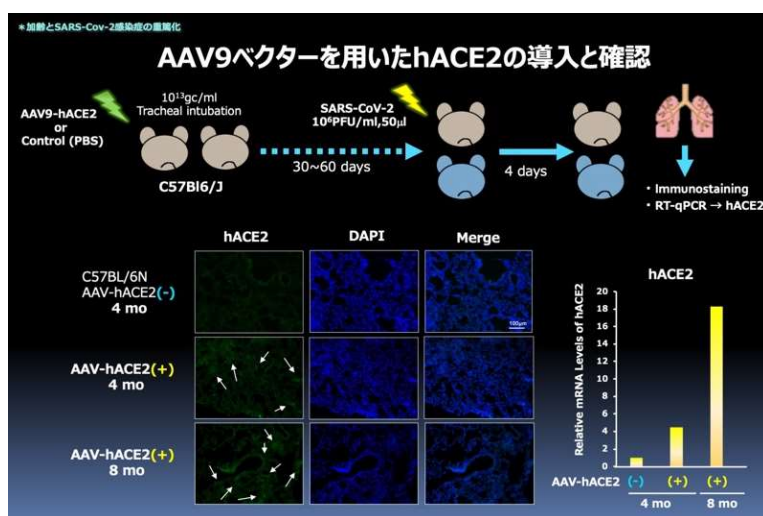
- * クレシルバイオレットを用いた肺組織への非侵襲的な投与方法（気管挿管）の手技を習得。
- * 若齢マウスを中心に気管挿管を行い、肺における発現を確認するためにホタルルシフェラーゼを導入したアデノ随伴ウイルスベクター（AAV9-Luc）の肺における Luc の発現効率を解析し、実験系の有効性を確認した。

AAV ベクターを用いた hACE2 の導入と SARS-CoV-2 の感染実験を開始した。野生型 C57BL/6J マウス(4 ヶ月齢と 8 ヶ月齢)に AAV-hACE2 を気管挿管し、2 ヶ月後に SARS-CoV-2 ウイルス 10^6 PFU/ml 経鼻

投与し、感染 4 日後のマウスから肺を摘出し、AAV ベクター系にて遺伝子導入された hACE2 遺伝子と hACE を介した SARS-CoV-2 感染後のウイルス遺伝子についてリアルタイム PCR にて、それぞれ確認することができた(右図)。

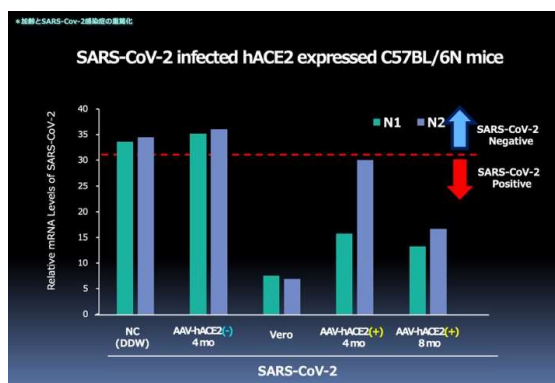
また同時に免疫染色実験を行い、遺伝子レベルで発現を確認した AAV ベクター由来の hACE2 タンパクも気管支上皮細胞などで

の発現が確認された。さらに、SARS-CoV-2 感染後の肺組織における SARS-CoV-2 ウイルス遺伝子については感染 4 日後の個体で、4 ヶ月齢、8 ヶ月齢ともに PCR 陽性の結果を確認することができた(左図) 一方で感染後の SARS-CoV-2 ウイルスもウイルス抗体を用いた免疫染色で、hACE2 受容体に依存して発現が確認できた。

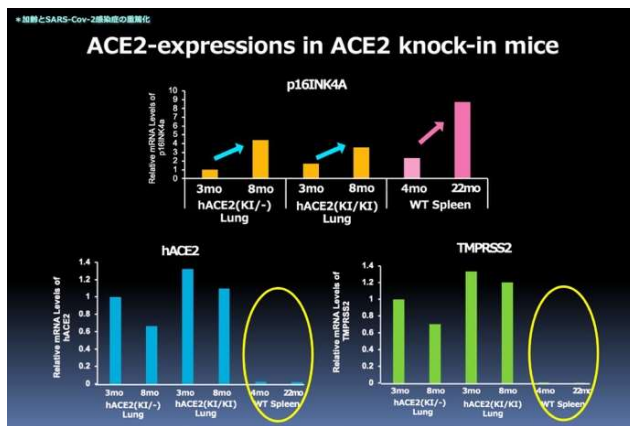


(図) 肺組織における AAV9 hACE2 由来の hACE 発現

定量 PCR による遺伝子発現と免疫染色解析により、導入後 60 日後にウイルス感染させ、さらに 4 日後(導入後 64 日)の hACE2 タンパクの発現を確認した(矢印)。



(図) SARS-CoV-2 ウイルス遺伝子の N1, N2 のいずれかの Cq 値が基準値よりも低い場合がウイルス遺伝子陽性と判定する。

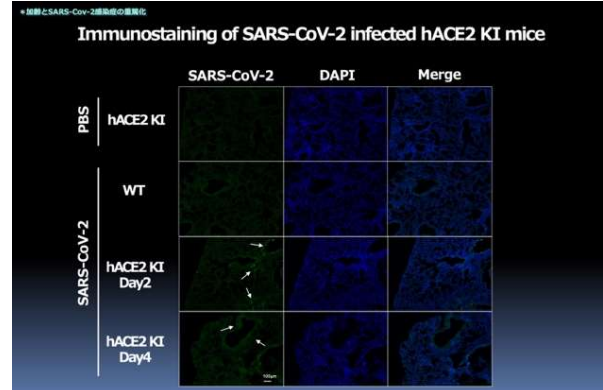
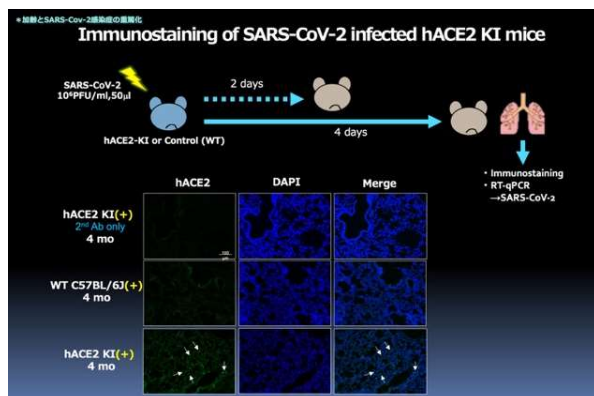


<hACE2^{KI/KI}モデルマウス系の SARS-CoV-2 感染の加齢変化と重篤化の構築

> AAV ベクター由来の hACE2 モデルでの予備実験を進める上で、モデル動物作成の個体差が大きいことを考慮し、hACE2 遺伝子座にノックインする hACE2^{KI/KI} マウスを SARS-CoV-2 ウイルス導入と同様、遺伝子組換え大臣申請を出して、別途同種のノックインマウスを導入し、2021 年度より、飼育開始した。

hACE2 ノックインモデルマウスが 8 ヶ月齢個体になるのを持って、まずは細胞老化マーカー ink4A の発現と肺における ink4A の発現ならびに肺における hACE2 遺伝子、TMPRSS2 遺伝子の発現に性差はないことを確認した (左図)。

並行して SARS-CoV-2 ウイルス感染の予備実験を 4 ヶ月齢の個体を用いて、hACE2 の発現 (下左図)に加えて、ウイルス感染 2 日後、4 日後の肺の免疫染色を行い、2 日後から感染した SARS-CoV-2 ウイルス (下右図)を検出することができた。



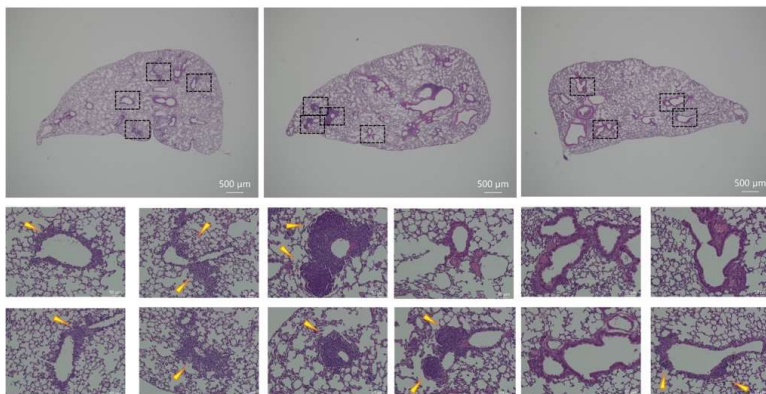
SARS-CoV-2 感染老齢個体における病態解析と重篤化に関する免疫応答の解析 :

AAV-hACE2導入マウスへのSARS-CoV-2ウイルス感染 (HE染色)

SARS-CoV-2 2回感染
#1-48-1, 5ヶ月齢

SARS-CoV-2 2回感染
#2-55-1, 20ヶ月齢

SARS-CoV-2+PBS
#1-48-3, 19ヶ月齢



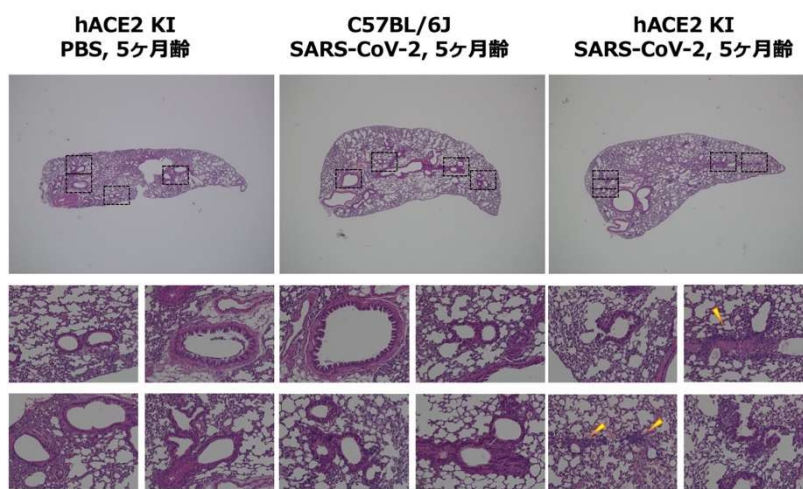
→ 炎症細胞の浸潤

上述、これらの 2 つのモデル系を用いて、SARS-CoV-2 ウイルス感染実験を行い、実際の病態解析、重篤化に関わるサイトカインや老化に伴う SASP をはじめとする免疫応答の解析系においても若齢と老齢個体を用いた予備実験を行った。まず、AAV ベクター由来の hACE2 モデルマウスを用いた系で hACE 発現後 2 ヶ月経って SARS-CoV-2 ウイ

ルス感染を行い、HE 染色においてもリンパ球系の炎症細胞の浸潤を解析した(左図)。

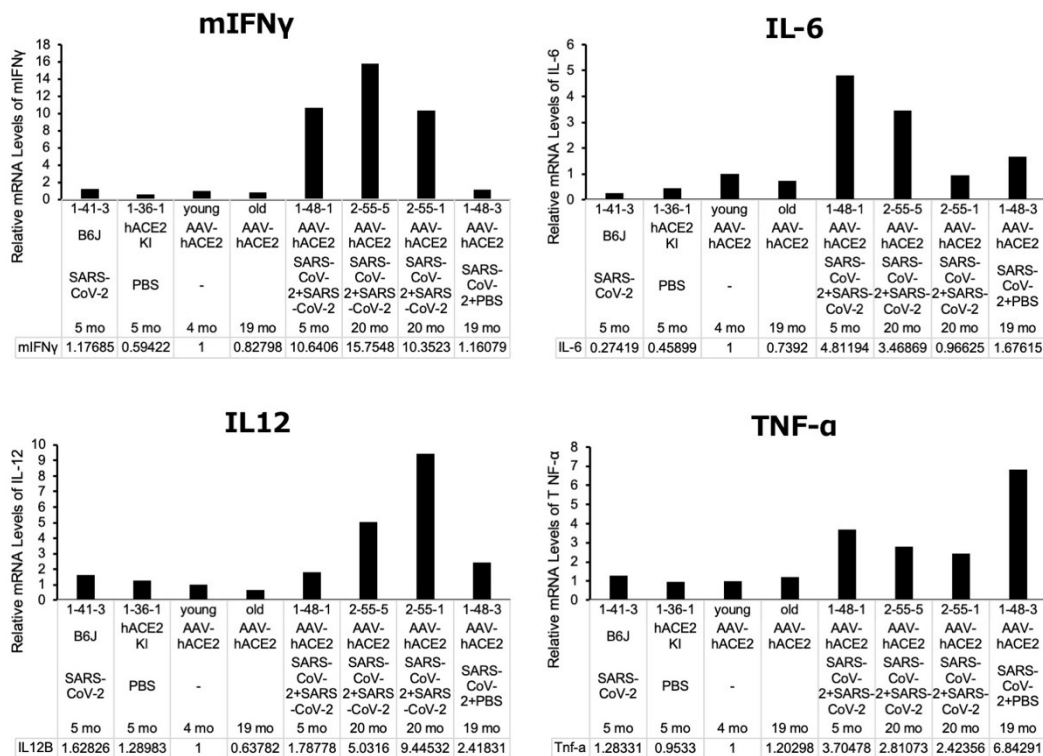
一方、hACE2 の発現の安定しているノックインマウスの方はまだ、加齢個体が十分に飼育できておらず、現在 5 ヶ月齢になる個体でのウイルス感染、ならびに HE 染色による病理変化を解析した(左図)。体重変化も感染後の減少は加齢個体ではないことで、目立つものはないかったが、HE 染色においてはノックインマウスのウイルス感染個体のみで炎症細胞の浸潤が確認された(右図)。

hACE2ノックインマウスへのSARS-CoV-2ウイルス感染 (HE染色)



炎症細胞の浸潤

Covid-19 で重症化する特定の人の重篤度に関与するものとして免疫応答の調節不全、過敏な防御反応としてのサイトカイン放出症候群、サイトカインストームが挙げられるが、メカニズムとしての免疫機能障害について、あるいはそのうちのどの程度が免疫老化、つまり高齢



(図) AAV9 由来 hACE2 導入マウスへの SARS-CoV2 ウイルス感染後の血中とカイン測定

者特異的な老化を伴う素因になるのかについてはまだ正確には分かっていない。こうした重篤度に関する文献情報や Covid-19 患者で高齢者施設入所者や名市大頭部医療センターに入院した患者の経過に関してのデータを収集している分担研究者の赤津との定期的な情報交換において、Covid-19 患者で炎症を促進するサイトカインのいくつかに注目し、それらのマウスモデルでの変化を検証してみた。

まずは血中に存在して炎症を促進するとされる TNF- α や IFN- γ 、IFN- α は直接、重症度とは関連せず、むしろ、体内(鼻腔)に存在するウイルス量に比例するということで、AAV ベクター由来の hACE2 モデルマウスでの SARS-CoV-2 ウイルス感染実験後のこれらの動きを解析した。結果は上図で示したが、ここで解析した IFN γ 、IL-6、IL-12、TNF- α は全て炎症に関与する炎症性サイトカインとして知られるもので、SARS-CoV-2 ウイルス感染が見られる個体での産生が確認された。しかし、まだ解析個体数が少ないので、個体差がこれらサイトカインの産生量の比較に影響しており、これが実験的個体差（AAV ウイルスの気管挿管の差）なのか生物学的個体差なのかは現段階では議論は難しい。

以下 2021 年度の研究結果をまとめると、

hACE2 導入マウスの確立と SARS-CoV-2 感染老齢個体における病態の解析：

- * AAV9hACE2 ベクターを用いたマウスモデルの SARS-CoV-2 感染の加齢変化と重篤化の相関解析の準備を進めた。
- * hACE2KI/KI モデルマウス系の SARS-CoV-2 感染の加齢変化と重篤化の相関解析準備を行った。上記いずれの実験系でも有効性をそれぞれ確認した。

SARS-CoV-2 感染老齢個体における病態解析と重篤化に関する免疫応答の解析：

- * SARS-CoV-2 ウイルス感染実験を行い、実際の炎症を中心とした病態解析、重篤化に関わるサイトカインや老化に伴う SASP をはじめとする免疫応答の解析系においても若齢と老齢個体を用いた予備実験を行った。
- * 高齢者の Covid-19 重症化メカニズムにおける老化細胞の関与の有無を調べるため、老化細胞可視化除去マウスを用いて老化細胞除去の予備実験を行った。

D. 考察と結論

総括研究報告として 2021 年度は研究課題の再編を経ての研究開始の一年目とする新規研究課題とした位置づけであったが、世界的大流行(パンデミック)感染を引き起こしている SARS-CoV-2 感染に対しては 2021 年度より mRNA ワクチンを含め、ワクチン接種が可能になり、その有効性が検討され始め、高齢者の重篤化の予防や軽減につながる知見も共有が格段に改善された。とはいえ、治療薬の開発や年齢層に応じた重症度の違い、基礎疾患や免疫機能との相関のメカニズムについては今後の課題として、国内外の多くの研究者が取り組んでいるが、本評価委員会から本研究課題については準備期間を含めての 3 年計画と言う認識と研究班の構成についても指導が入り、2 年計画の一年目の報告となり、次年度で最終年度になると合わせて、非常に残念ではあるが分担研究者の赤津の参画を解除することになった。

いずれにせよ、本研究課題の成果は介護負担を含めた医療費全般の軽減につながるだけでなく、特に基礎疾患や高齢、加齢による免疫機能に脆弱性が見られる感染者の感染早期に対する治療法を確立していく上でも不可欠な研究として位置づけられる。また世界においても未曾有のスピードで進むわが国におけるワクチン接種に対しても期待と並行して完全に排除することのできないワクチン効果に対する不安やADEなどのリスクを軽減していく事は重要である。高齢者に特異的な免疫機能の低下を老化やそれに伴う炎症に結びつけるメカニズムの一端を明らかにすることで Covid-19 感染症をはじめとする様々な感染症に対しても予防あるいは罹患後の抵抗力のある高齢者を増やす社会の実現にも一翼を担うものと考ええる。

ようやく研究所内の各部署の協力を得、センター内で SAS-CoV-2 を取り扱う環境が整ったため、マウスにこのウイルスを投与するなどの実験が可能になり、感染モデルマウスを使用した実験を開始することができる。今後、Covid-19 の病態を *in vivo* で解析することができるようになったことで加齢個体において重症化するメカニズムの解明につながると確信している。また、分担研究者の高岡との共同研究を精力的に発展させ、本研究で注目する因子とウイルスセンサーRIG-I シグナルの変動並びに SASP 誘導の関連性についても解析を進める。マウス感染モデルで、老化に伴った、肺組織における RIG-I の発現や RIG-I を介したシグナル伝達の変化を解明し、それを補強させる方法を実現できれば、高齢者の重篤化の予防や軽減といった臨床応用につながるものと考えられる。

以下に今年度の研究課題の成果を整理して、今後につながるものを考察する。主任研究者として、丸山は①クレシルバイオレットを用いた**肺組織への非侵襲的な投与法（気管挿管）の手技**を習得した。②ルシフェラーゼを導入した**アデノ随伴ウイルスベクター（AAV-Luc）の肺における感染効率を解析**し、実験系の有効性を確認した。③AAV-hACE2 を用いて肺に **hACE2 を発現させ、SARS-CoV-2 感染モデルを構築**した。④高齢者の Covid-19 重症化メカニズムにおける老化細胞の関与の有無を調べるため、**老化細胞可視化除去マウスを用いて老化細胞除去の予備実験**を行った。これらに加えて、今後、細胞老化レベルでのウイルス感染細胞と非感染細胞の選別を通して高齢者の Covid-19 重症化メカニズムにおける老化細胞の関与の有無を調べるため、**Arf-DTR 老化細胞可視化除去マウスを用いて老化細胞除去**を可能にするため hACE2 ノックインモデルとの交配、さらには加齢個体の維持を開始した。錦見は分担研究者として①遺伝子組換え実験（大臣確認実験）を申請し、承認された。P3A 実験室運用にあたっての設備や規程を整備した。②P3A 実験室内における SARS-CoV-2 感染実験の運用を開始した。新規実験を立ち上げる際の研究支援については必須であり、今後、感染実験を継続していく上で、実験環境を維持する事も引き続き不可欠な協力を恒常的に受けている。また、一部には前述したが、高岡とは①老化マーカー p16INK4a の発現量と自然免疫系センサー分子の発現並びに、シグナル、抗ウイルス応答関連遺伝子の変化の検討を行った。②老化マウス肺組織における RIG-I の発現量低下を免疫組織化学染色による検討を開始した。最後にヒト研究との橋渡しとして必須と今でも確新している赤津とはこれまでにヒトへの臨床応用への標的の詳細を議論する上で特に獲得免疫、T 細胞系の加齢による機能低下について定期的に議論を積み上げた。これまでの我々の成果としては腸内細菌への介入で獲得免疫系を賦活できる可能性があるため腸内細菌叢解析の検討を始めたことである。さらに、SARS-CoV-2 感染は血栓形成も大きな問題となっている。炎症と凝固・線溶系を結ぶ因子として自然免

疫の中の補体系に着目してその動態解析を進めたいと考察した。また具体的にはワクチン接種者の摂取後抗体価の変遷に関して年齢や基礎疾患に着目、データベース、既報から SARS-CoV-2 感染における補体活性の中でも重要な因子の割り出しも開始した。その他、今後マウスモデルでの検証が必要なサイトカインとしてはヒトではどのような Covid-19 患者にも発現が見られる IFN- α 、IL-1 β 、IL-1 α 、IL-17 などのコアとされるサイトカインや逆にヒトでは中等症より重症 Covid-19 患者で大きく上昇する IFN- λ や IL-21、IL-23、IL-33 などのサイトカインは今後順次、モデルマウスでもデータを蓄積していきたい。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morita Y, Jounai K, Tomita Y, Maruyama M.
Long-term intake of *Lactobacillus paracasei* KW3110 prevents age-related circadian locomotor activity and changes in gut metabolism in physiologically aged mice.
Exp Gerontol. 2021 Oct 1; 153:111477.
- 2) Sugiyama Y, Fujiwara M, Sakamoto A, Tsushima H, Nishikimi A, Maruyama M
The immunosenescence-related factor DOCK11 is involved in secondary immune responses of B cells. *Immunity & Ageing*. 2022 Jan 3;19(1):
- 3) 杉山悠真、丸山光生
細胞老化と肺がん発生
医学のあゆみ, 277 巻 2 号 医歯薬出版 2021
- 4) 渡辺憲史, 亀井優香, 木村郁夫, 丸山光生
加齢変化における水溶性大豆イソフラボン Soyaf flavone HG の抗炎症効果と腸内細菌叢との関連 大豆たん白質研究, vol.23 (41) ; 1-9, 2021
- 5) 丸山光生
第 44 回日本基礎老化学会大会が残すもの～基礎老化研究と学術集会を再考した集い～
基礎老化研究, vol.45 (3) ; 45-46, 2021
- 6) 丸山光生
健康長寿につながるフードスタイルとジェロサイエンス研究
Food style leading to healthy longevity and Geroscience research
FOOD STYLE 21 2022 年新春号 特別企画 p29

2. 学会発表

- 1) Sugiyama Y, Nishikimi A, Maruyama M
Diversity of p16INK4a-associated chronological senescence in MEF culture.
第 44 回日本基礎老化学会大会, 大府, 2021 年 6 月 12 日
- 2) Goto A, Hashimoto M, Endo Y, Yokogawa S, Maruyama M, Yamashita H

CREG1 enhances muscle function in mice.

第 44 回日本基礎老化学会大会, 大府, 2021 年 6 月 12 日

3) 丸山光生

基礎老化研究から見た免疫系の加齢変化

第 21 回日本抗加齢医学会総会 専門医 指導士共通プログラム,
京都, 2021 年 6 月 27 日

4) 丸山光生

炎症抑制につながる栄養介入と個体老化

第 43 回日本臨床栄養学会総会・第 42 回日本臨床栄養協会総会、シンポジウム
Web 開催、2021 年 10 月 3 日

5) Maruyama M, Sugiyama Y, Tsushima H, Nishikimi A

生体防御系の加齢変化と個体老化

第 94 回日本生化学会大会、シンポジウム「老化と生体防御システム」
Web 開催、2021 年 11 月 5 日

6) 丸山光生

知っておきたい高齢者の免疫と栄養の関係～健康長寿への道～

日本基礎老化学会第 2 回市民フォーラム 「人生 100 年時代の健康意識
in 山陽小野田」山陽小野田市民館、山口 2021 年 11 月 27 日

7) Maruyama M

Inflammaging, taking lessons from history

Workshop Organizer and Closing Remarks, The 44th Annual Meeting of the Molecular
Biology Society of Japan, Yokohama, Dec 2nd, 2021

8) 杉山悠真、津島博道、錦見昭彦、丸山光生

細胞老化における p16INK4a の発現に付随した CC ケモカインクラスター遺伝子
発現様式 ワークショップ：炎症老化"inflammaging"の深化と展開

第 44 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2021 年 12 月 3 日

9) 丸山光生

加齢に伴う炎症抑制を考える食と免疫

脳心血管抗加齢研究会第 17 回学術大会・日本抗加齢協会第 5 回学術フォーラム、
シンポジウム「食と免疫」 大阪、2021 年 12 月 17 日

10) 丸山光生

慢性炎症と免疫老化のメカニズム

日本抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催講習会、ハイブリット開催
2022 年 2 月 20 日、大阪

11) 津島博道、丸山光生

老齡 SARS-CoV-2 感染モデルマウスを用いた Covid-19 高齢者重篤化に関する研究
第 6 回 NCGG サマリーサーチセミナー 大府 2021 年 11 月 24 日

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