

## アルツハイマー病研究部

### (1) 構成員

部長 道川 誠

室長

病因遺伝子研究室 鄭且均

発症機序解析研究室 内村健治

流動研究員

巖 景玉、山内玲奈

外来研究員(リサーチレジデント)

細野 崇、細野友美、西辻和親

研究補助員・事務補助員

日高潤子、高之瀬邦子、荒田えり

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

部長研究グループは、ABCA1 のプロモーター活性を指標としたスクリーニング系を立ち上げ、10,000 種類の化合物ライブラリーならびに 118 種の天然化合物を用いてスクリーニングした。一次、二次スクリーニングによって ABCA1 蛋白発現を増加させたものを 3 種類を同定した。また、アラキドン酸含有食餌の経口摂取によって、マウスモデルの脳内 A $\beta$  沈着減少と認知障害発症予防が認められた(前臨床試験終了)。その分子機構として、脂肪酸摂取によって脳内膜脂質組成の変化が起き、その結果 A $\beta$  産生が低下して脳内 A $\beta$  沈着が抑制されると考えられた。更に、脳内脂質代謝に焦点を当てた研究から、新規 A $\beta$  結合分子(リパーゼ)を発見した。この酵素は A $\beta$  と結合し、その取り込みを促進させることで、脳内 A $\beta$  の除去・分解に貢献していると考えられた。AD 治療薬開発のために、この酵素の発現・活性上昇薬の探索を開始した。本研究に関連して特許出願 1 件を行った。ApoE と

部長研究グループ：道川 誠、細野 崇、西辻和親、山内玲奈  
脳内脂質代謝調節によるアルツハイマー病の予防・治療法開発

血液脳関門に関する研究では、ApoE4 ノックインマウスでは ApoE3 ノックインマウスに比べて BBB のバリアー機能が低下していた。ApoE4 発現アストロサイトを用いた系は ApoE3 発現アストロサイトを用いた系に比べて BBB のバリアー機能が低下しており、tight junction 形成に関与する分子のリン酸化の程度に違いがあった。これらの違いは、アストロサイトから分泌される ApoE-HDL に起因すると考えられた。

発症機序解析研究室では、ATBF1 分子上の APP 結合ドメインを決定するため 3 種類の ATBF1 ドメインの強制発現ベクター (① aa 1-892、② aa 893-3288、③ aa 3289-3703) を作成し、HEK293T 細胞に APP と共に過剰発現させると、893-3288 ドメインを持つ ATBF1 (ATF1 893-3288)のみが A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 の産生を促進した。その理由は、ATBF1 893-3288 が APP と結合し、APP を安定化させるためと考えられた。また、導入された ATBF1 893-3288 は核に局在するが、APP を過剰発現させると ATBF1 893-3288 は核に行かずに細胞質に留まっていることが分かった。しかし、1-892 と 3289-3703 ドメインを持つ ATBF1 は A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 の産生には影響しなかった。

発症機序解析研究室では、AD 病理を減弱または回復させる遺伝子を脳移行性細胞に発現させ、脳内搬送体として利用するシステム確立を目指した研究を行った。

## 研究目的

超高齢社会に突入した我が国では、高齢で発症率が増加する代表的な認知症疾患であるアルツハイマー病の予防・治療法開発が急務となっている。本研究は、アルツハイマー病発症機構を説明する仮説である「アミロイドカスケード」における複数の標的を攻略することで、真に有効なアルツハイマー病の予防・治療薬を開発することを目的とする。この目的達成のために、分担研究課題として、(1) HDL の産生増加を促進する薬剤探索を通じた治療薬開発、(2) 脂肪酸の経口摂取による A $\beta$  沈着、認知機能障害予防の検討を通じた予防法確立、(3) 新たに発見した A $\beta$  結合蛋白の機能解析 (A $\beta$  分解除去機能) を行い、治療標的として確立すること、(4) ApoE-HDL が、血液脳関門(BBB)形成に重要な役割を果たすこと、その作用に ApoE アイソフォーム依存性があるかどうかの検討を行った。

## 結果と考察

1) ABCA1 のプロモーター活性を指標としたスクリーニング系を立ち上げ、10,000 種類の化合物ライブラリーならびに 118 種の天然化合物を用いてスクリーニングした。一次、二次スクリーニングによって ABCA1 蛋白発現を増加させたものを 3 種類を同定した。今後、これらの候補化合物の構造機能解析を行い、リード化合物を決定する。またモデル動物への投与によるアルツハイマー病病理への作用や認

知機能障害の改善効果を検証し、臨床試験へ向けたデータの集積を行う。2) アラキドン酸含有食餌の経口摂取によって、マウスモデルの脳内 A $\beta$  沈着減少と認知障害発症予防が認められた (前臨床試験終了)。その分子機構として、脂肪酸摂取によって脳内膜脂質組成の変化が起き、その結果 A $\beta$  産生が低下して脳内 A $\beta$  沈着が抑制されると考えられた。今後は、臨床応用に向け、長期縦断疫研究との共同研究を行い、ヒトにおける認知症予防効果を検証する。3) 脳内脂質代謝に焦点を当てた研究から、新規 A $\beta$  結合分子 (リーパーゼ) を発見した。この酵素は A $\beta$  と結合し、その取り込みを促進させることで、脳内 A $\beta$  の除去・分解に貢献していると考えられた。AD 治療薬開発のために、この酵素の発現・活性上昇薬の探索を開始した。本研究に関連して特許出願 1 件を行った。

4) ApoE4 ノックインマウスでは ApoE3 ノックインマウスに比べて BBB のバリアー機能が低下していた。(ii) ApoE4 発現アストロサイトを用いた系は ApoE3 発現アストロサイトを用いた系に比べて BBB のバリアー機能が低下しており、tight junction 形成に関与する分子のリン酸化の程度に違いがあった。これらの違いは、アストロサイトから分泌される ApoE-HDL に起因すると考えられた。

上記研究は、当該施設の実験動物倫理委員会および倫理委員会の承認を受けて行われた。

病因遺伝子研究室： 鄭 且均、巖 景玉

## APP 代謝及び A $\beta$ 産生機構におけるホメオティック因子 ATBF1 の機能解析および脳内コレステロール代謝を司る ABCA1 遺伝子発現を増加させる分子の同定

プロジェクト 1) APP 代謝及び A $\beta$  産生機構におけるホメオティック因子 ATBF1 の機能解析: アルツハイマー病 (AD) 病態を促進させる鍵分子であるアミロイド  $\beta$  蛋白 (A $\beta$ ) はアミロイド前駆体タンパク質 (APP) から 2 つのプロテアーゼ ( $\beta$  及び  $\gamma$  セクレターゼ) で順次切断されることにより産生され、細胞外に蓄積し、引き続き、神経原繊維変化を引き起こすことで神経細胞死や認知機能障害が起こると考えられている。従って、神経細胞内で APP の代謝機構を明らかにすることは AD の発症原因解明に重要である。前年度は APP 代謝および A $\beta$  産生における ATBF1 の機能解析のため実験を行った結果、細胞株に ATBF1 と APP を過剰発現させると ATBF1 が APP と結合し、APP を安定化させることにより A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 の産生が促進されることが分かった。本年度は ATBF1 分子上の APP 結合ドメインを決定するため 3 種類の ATBF1 ドメインの強制発現ベクター (① aa 1-892、② aa 893-3288、③ aa 3289-3703) を作成し、HEK293T 細胞に APP と共に過剰発現させると、893-3288 ドメインを持つ ATBF1 (ATF1 893-3288) のみが A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 の産生を促進した。その理由は、ATBF1 893-3288 が APP と結合し、APP を安定化させるためと考えられた。また、導入された ATBF1 893-3288 は

核に局在するが、APP を過剰発現させると ATBF1 893-3288 は核に行かずに細胞質に留まっていることが分かった。しかし、1-892 と 3289-3703 ドメインを持つ ATBF1 は A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 の産生には影響しなかった。今後、より詳しい ATBF1 分子上の APP 結合ドメインを決定する必要があると考えられる。AD 脳の神経細胞の細胞質で ATBF1 と APP は共局在していることから、ATBF1 と APP は細胞質で結合し、A $\beta$  産生や転写活性に相互に影響を与えていると考えられ、ATBF1 は AD 治療法の標的分子になり得ると考えられた。また、ATBF1 発現が AD 脳の細胞質で上昇することで APP が安定化され、A $\beta$  の産生が促進されていると考えられる。プロジェクト 2) 脳内コレステロール代謝を司る ABCA1 遺伝子発現を増加させる分子の同定: 脳内 HDL 産生に ABCA1 が重要な役割を果たしていることから、脳内 ABCA1 発現増加によって A $\beta$  沈着を抑制する化合物の同定するため、10,000 種の合成化合物を用いて薬剤スクリーニングを行った結果、5 種の合成化合物が ABCA1 の mRNA および蛋白の発現を増加させることを見いだした。今後、この合成化合物をマウスに経口投与し、脳内の ABCA1 発現を調べる。効果があるものに関しては AD モデルマウスに投与し、脳内の A $\beta$  沈着量を調べる。

## 脳実質内細胞動員のアルツハイマー病治療への応用およびその発症に伴う糖鎖生物機能に関する研究

アルツハイマー病態において骨髄単球由来ミクログリアが血行性に脳内へ動員されアミロイド沈着体の貪食作用に積極的に関わる事がアルツハイマー病モデルマウスの使用により明らかとなっている。我々はこの脳内細胞浸潤分子メカニズムをセレクチン分子に注目し解析を行っている。マウスミクログリア細胞 BV2 が E-セレクチンのリガンド糖鎖であるシアリルルイス X を発現し、また、アルツハイマー病モデルマウス脳血管で E-セレクチンが発現される事を確認した。さらに、生体内ビデオ蛍光顕微鏡法により解析した結果、末梢投与 BV2 細胞の血管内ローリングがアルツハイマー病モデルマウス脳内では顕著に観察された。これらの結果からマウスミクログリア細胞表面のシアリルルイス X 糖鎖と新たに血管内皮細胞で発現される E-セレクチンとの間の分子相互作用により、組織内浸潤の最初のステップである細胞ローリングが起こるのではないかと強く示唆された。脳

移行性細胞にアルツハイマー病理変化を減弱または回復させるような遺伝子を脳内搬送体として利用する細胞医薬の確立を見据えて、私たちはマウスミクログリア細胞に効率良く外来遺伝子を発現させるシステムの構築を行った。レンチウイルスを使った外来遺伝子発現システムを GFP 遺伝子およびフローサイトメーターアッセイにより確立した。アルツハイマー病アミロイド斑沈着部位にはヘパラン硫酸糖鎖多硫酸化ドメインが特異的に発現することを我々はいままでに発見している。この特殊な糖鎖ドメインは A $\beta$  重合に関わっている。当該糖鎖ドメインを分解する細胞外スルファターゼは神経毒性の原因と予想される重合 A $\beta$  の形成を減弱/阻止する可能性が高い。細胞外スルファターゼの遺伝子を BV2 脳移行性細胞に発現させるシステムをレンチウイルスの使用により確立した。脳内 A $\beta$  沈着を減少させる細胞医薬の開発基盤につながる成果が得られた。

## 研究業績（アルツハイマー病研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

##### 1. 論文発表

Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T, Sun H, Abe K, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E. Extracellular and intraneuronal HMW-A $\beta$  oligomers represent a molecular basis of memory loss in Alzheimer's disease model mouse. **Mol. Neurodegener.**, 6: 20, 2011.

Takamura A, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Murayama S, Ihara Y, Abe K, Shoji M, Michikawa M, Matsubara E. The dissociation of A $\beta$  from lipoprotein in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease accelerates A $\beta$ 42 assembly. **J Neurosci Res**, in press, 2011.

Nishitsuji K, Hosono T, Uchimura K, and Michikawa M. Lipoprotein lipase is a novel A $\beta$ -binding protein that promotes glycosaminoglycan-dependent cellular uptake of A $\beta$  in astrocytes. **J. Biol. Chem.**, 286: 6393-6401, 2011.

Akatsu H, Ogawa N, Kanetsaka T, Hori A, Yamamoto T, Matsukawa N, Michikawa M. Higher activity of peripheral blood angiotensin-converting enzyme is associated with later-onset of Alzheimer's disease. **J. Neurol. Sci.** 300: 67-73, 2011.

Minagawa H, Watanabe A, Akatsu H, Adachi K, Ohtsuka C, Terayama Y, Hosono T, Takahashi S, Wakita H, Jung C-G, Komano H, and Michikawa M. Homocysteine, another risk factor for Alzheimer's disease, impairs apolipoprotein E3 function. **J. Biol. Chem.**, 285:38382-38388, 2010.

Kim TS, Kawaguchi M, Suzuki M, Jung CG, Asai K, Shibamoto Y, Lavin MF, Khanna KK, Miura Y. The ZFH3 (ATBF1) transcription factor induces PDGFRB, which activates ATM in the cytoplasm to protect cerebellar neurons from oxidative stress. **Dis Model Mech.**, 3(11-12): 752-62, 2010.

Takamatsu Y, Ishida A, Hamakawa M, Tamakoshi K, Jung CG, Ishida K. Treadmill running improves motor function and alters dendritic morphology in the striatum after collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. **Brain Res.**, 8(1355); 165-73, 2010.

道川 誠 アポリポ蛋白 E とアルツハイマー病 *Clinical Neuroscience* (月刊臨床

神経科学) , 28: 992-995, 2010

道川 誠 アルツハイマー病分子病態とアポリポ蛋白 E 医療の広場、第 50 巻 (10号):4-5, 2010

道川 誠  
アポリポ蛋白 E とアルツハイマー病  
Clinical Neuroscience, 28(9): 992-995, 2010

ゾウケン、道川 誠、駒野宏人（アルツハイマー病研究部）  
アンジオテンシン変換酵素の新しい顔：A $\beta$  変換酵素  
ミニレビュー 生化学 82 巻、1120-1124, 2010

## 2. 学会発表：

Uhm KO, Horike H, Miura Y, Akatsu H, Michikawa M, Jung CG ATBF1 interacts with amyloid precursor protein and enhances amyloid  $\beta$ -protein production. The First International Conference on Neural Cell Culture (ICNCC 2010), June 25, 2010, Seoul, Korea.

Michikawa M. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease  
Hallym University, The 12th Ilsong International Symposium, Hallym-Nagoya Academic Joint Meeting  
June 24, 2010. Anyang, Gyeonggi-do, Korea

Kazuchika N, Hosono T, Nakamura T, and Michikawa M. Effect of apolipoprotein E isoform on formation and maintenance of blood-brain-barrier function. June 7, 2010. Washington University, St. Louis, USA

Zou K, Liu S, Liu J, Tanabe C, Maeda T, Michikawa M, Komano H.  
Potent inhibition of ACE leads to Alzheimer-like pathology in APP transgenic mouse brain.  
International Conference on Alzheimer's Disease (ICAD), July 11, 2010, Honolulu, Hawaii

道川 誠  
アルツハイマー病  
名古屋市立大学大学院医学研究科講義、2010年5月24日、名古屋

道川 誠  
アルツハイマー病の臨床、分子病態と治療戦略 名古屋市立大学大学院薬学研究科講義、2010年5月27日、名古屋

道川 誠  
アルツハイマー病とスタチン  
脳を護るー認知症を防ぐー興和創薬・名古屋医師会共催シンポジウム

2010年6月17日,名古屋

西辻和親、細野 崇、中村俊行、道川 誠  
血液脳関門機能に対するアポリポタンパク質Eアイソフォームの影響  
Neuro2010, 2010年9月4日、神戸

鄭 且均、巖 景玉、三浦 裕、赤津裕康、道川 誠  
APP代謝及びAb産生機構におけるホメオティック因子ATBF1の機能解析  
Neuro2010, 2010年9月3日、神戸

ゾウクン、劉 俊俊、劉 しゅ余、田邊千晶、前田智司、道川 誠、駒野宏人  
ACE阻害によるアルツハイマー病モデルマウス脳内変化の解析  
Neuro2010, 2010年9月2日、神戸

道川 誠  
炎症とアルツハイマー病  
日本歯周病学会シンポジウム、2010年9月19日、高松

道川 誠  
Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease  
招待講演(客員教授授与講演)、中国瀋陽医学院・何氏視覚科学学院、2010年9月27日、瀋陽

道川 誠  
アポリポ蛋白Eとアルツハイマー病  
教育講演:第18回中部老年期認知症研究会  
平成22年10月30日、名古屋

巖 景玉、赤津裕康、三浦 裕、道川 誠  
、鄭 且均  
APP代謝及びAb産生におけるATBF1の機能解析  
日本認知症学会、平成22年11月5日、名古屋

西辻和親、細野 崇、内村健治、道川 誠  
リポ蛋白質リパーゼは初代培養アストロサイトによるアミロイドbの取り込みを促進する 日本認知症学会、平成22年11月5日、名古屋

細野 崇、山内玲奈、紺谷昌仙、西辻和親、鄭 且均、河島 洋、木曾良信、道川 誠  
多価不飽和脂肪酸餌はLPSで誘導される脳内炎症を抑制する  
日本認知症学会、平成22年11月5日、名古屋

ゾウクン、劉俊俊、劉しゅ余、田邊千晶、前田智司、道川 誠、駒野宏人  
Enhanced Alzheimer's-like pathology by ACE inhibition in APP transgenic mouse brain  
日本認知症学会、平成22年11月5日、名古屋

道川 誠 (アルツハイマー病研究部)

脳内脂質代謝は、アルツハイマー病発症に関わりうるか

第8回アルツハイマー病の早期診断・治療・予防法の開発研究会、2011年2月18日、名古屋

道川 誠 (アルツハイマー病研究部)

脳内脂質代謝変動とアルツハイマー病分子病態

第5回関西・中部認知症学会、2011年2月19日、ウインクあいち、名古屋

#### 4.その他、セミナー

Uhm KO, Horike H, Miura Y, Akatsu H, Michikawa M, Jung CG.

ATBF1 interacts with amyloid precursor protein and enhances amyloid  $\beta$  protein production.

The First International Conference on Neural Cell Culture (ICNCC 2010), June 25, 2010, Seoul, Korea.

鄭 且均

神経細胞発生と分化

名古屋市立大学医学部講義「生理学総論」、2010年6月14日、名古屋

#### **H. 特許申請**

なし

#### **I. 公的研究費**

##### **1. 厚生労働省**

道川 誠, (代表) 1,400 万円 (総額 3,000 万円)

認知症対策総合研究事業

アルツハイマー病の根本的治療法開発に関する研究

道川 誠 (代表) 1,800 万円 (総額 2,000 万円)

政策創薬総合研究事業

経口脂肪酸摂取によるアルツハイマー病の予防法開発に関する研究

鄭 且均, (分担) 50 万円

認知症対策総合研究事業

血液、尿等、生体への侵襲が少ないバイオマーカーを用いた診断方法に関する研究.

内村 健治, (代表) 420 万円 (総額 420 万円)

認知症対策総合研究事業

細胞を血行性脳実質内動員する機序の解析およびそのアルツハイマー病治療への応用

## 2.文部科学省

道川 誠 (代表) 780 万円 (総額 780 万円)

基盤研究(B)

アルツハイマー病発症機構におけるレニン・アンギオテンシン系の役割の検討

鄭 且均, (代表) 130 万円 (総額 130 万円)

基盤研究(C).

ホメオティック因子 ATBF1 のアルツハイマー病脳における発現上昇機序と意義の解明.

内村 健治, (分担) 65 万円

基盤研究(A)

精神免疫内分泌系の統合的制御へストレス特異的サイトカインカスケードの解明

3. 財団、その他、 なし

## 加齢健康脳科学研究部

### (1) 構成員

部長 丸山和佳子  
室長

加齢病態研究室 本山昇  
病態制御研究室 脇田英明  
分子病態研究室 渡邊淳  
(～H22 7.31)

### 流動研究員

柳野卓也  
武田和也  
國本正子  
足立香代

### 研究員

能勢 弓  
渡邊淳  
(H22 7.31～10.14)

### 外来研究員

(学振研究員)

永井雅代

### 客員研究員

直井 信  
松浦 彰

### 研究生

伊 廣鴻  
日坂 真輔  
松本 恵  
岩井美佳

### 研究補助員・事務補助員

加藤 記代美  
加藤 とよ子  
後藤 彩

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

平成 22 年 4 月 1 日、国立長寿医療センターが独法化され、独立行政法人国立長寿医療研究センターとなるに伴う改組のため、(旧)老年病研究部と(旧)血管性認知症研究部が合併し、構成された。

加齢健康脳科学研究部の課題としては

- 1) 「老化」というユニークな観点(切り口)による認知症の研究すること。
- 2) 老化に伴う認知症をきたす疾患の中でも主にレビー小体病(瀰漫性レビー小体病および認知症を伴うパーキンソン病を)と脳血管性認知症について、病因解明、診断、治療の開発に向けて研究をおこすこと。

である。

平成 22 年度は部設立の初年度であったため、部設立以前より継続してきた研究を部長研究グループおよび各室長研究グループでとりまとめるとともに、部の新たな研究課題の基盤整備を行った。

なお、分子病態研究室は 7 月 31 日に改組に伴い閉鎖された。

加齢病態研究室：研究員氏名 早川智久、柳野卓也、本山 昇  
DNA 損傷による細胞老化に伴う Senescence-associated secretory  
phenotype (SASP) の制御メカニズムの解明

老化は、加齢に伴い各種組織の機能が低下していく生理応答である。高齢者において発症する認知症、糖尿病や動脈硬化などのいわゆる老年性疾患の発症率は、加齢に伴い増加することから、老年性疾患と老化は密接に関連していると考えられている。通常より2~7倍の速度で老化が進行し、種々の老年性疾患を比較的若年期より発症するヒト早期老化症患者由来細胞や早期老化症モデルマウス由来細胞、さらに、一般の高齢者由来細胞においても、DNA 損傷が蓄積することが明らかになってきた。これらの知見は、DNA 損傷が老化と密接に関連していることを示唆している。ゲノム DNA は、紫外線や化学物質などの外的要因、細胞の代謝の副産物として生じる活性酸素種等による酸化ストレスにより絶えず損傷を受けている。一方、細胞は損傷を監視・修復あるいはアポトーシス (Apoptosis) や細胞老化 (Cellular Senescence) が誘引される DNA 損傷応答機構 (DDR) により、ゲノムの安定性を維持している。当研究室では、加齢に伴う DNA 損傷の蓄積・DNA 損傷応答 (DDR) の活性化によるアポトーシス・細胞老化と個体老化との関連性について研究を行ってきた。

加齢に伴い老化細胞が蓄積することが明らかになってきた。老化した細

胞は、単に存在しているだけでなく、炎症性サイトカイン、ケモカインなどの液性生理活性因子を分泌していることが明らかになってきた。この現象は、Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる。SASP によって液性因子が分泌されるので、老化細胞のみならず周囲の細胞にも影響を及ぼし微小環境を変化させるので、個体老化との関連が注目されつつある。

そこで今年度は、DNA 損傷によって誘導される細胞老化に伴って発現する SASP の制御メカニズムについて研究を進めた。その結果、SASP 関連因子である IL-6 や IL-8 の発現上昇に伴って、老化制御因子として重要な機能を果たす NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素 SIRT1 の発現が減少することを見出した。SIRT1 は、ヒストンの脱アセチル化を介して遺伝子のサイレンシングに作用している。また、細胞老化に重要な役割を果たす p53 を脱アセチル化することも知られている。このような観点から SIRT1 がクロマチンレベルもしくは p53 を介して SASP の発現を制御していると考えられる。今後は、SIRT1 ノックダウン細胞を用いて、DNA 損傷による誘導される細胞老化の過程で発現する SASP について検討を行う予定である。

**病態制御研究室：脇田英明、足立香代、武田和也**  
**脳血管性認知症のモデル動物の確立と予防・治療法の開発**

近年の脳虚血研究の進歩から、虚血後誘導される炎症・免疫反応の重要性が血管性認知症についても注目されている。本研究室では、血管性認知症について、虚血により誘導される炎症・免疫反応から認知症発症に至る過程について、モデル動物を用いて解析し、病因に基づいた新しい診断法、予防・治療法の開発を行うことを目的として研究活動を行った。また、アミロイドに関連した細胞死の研究も行なった。

**1) 認知症のモデル動物の病態機序の解析**

マウス、ラット、霊長類を用いた血管性認知症モデル動物の病態機序解析を行い、脳内で血管内皮細胞での細胞接着分子の発現を介して、白血球の実質への浸潤、グリア細胞の活性化が誘導され、慢性期まで持続していることを解明した。さらに、細胞接着分子の発現を介した炎症反応を抑制すると、脳虚血病変と記憶機能の低下が軽減されることから、細胞接着分子の発現を起点とした炎症・免疫反応が脳虚血病変及び記憶機能低下の成立に関与していることを明らかにした。また、モデルマウスを用いて、アルツハイマー病に対する脳虚血の影響を検討し、脳虚血が発症促進作用をもつことを明らかにした。

**2) 血管性認知症の治療法の開発**

モデル動物の病態機序解析から明らかとなった細胞接着分子の発現を起点とした炎症・免疫反応をターゲットとした脳血管性認知症の予防・治療薬の有効性の検討を行った。モデル動物に細胞接着分子 E-selectin を制御する薬物を投与し、記憶機能と脳病変に対する効果を検討し、脳内炎症・免疫反応が抑制され、記憶機能障害と脳病変に対する保護効果があることを明らかにした。血管性認知症の予防・治療において、E-selectin を介する白血球と血管内皮細胞の接着阻害の有用性が示された。

**3) AB-DIP による神経細胞死機構の解明と抑止法の開発**

AB-DIP Tg マウスおよび AD モデルマウスと交配して得られたマウス脳を用いて、AB-DIP 過剰発現による AD 病理への影響について組織学的解析を行った。AB-DIP を過剰発現する加齢マウス脳の大脳皮質において、GFAP 陽性細胞の増加が見られた。

部長研究グループ：永井雅代、能勢弓  
日坂真輔、丸山和佳子

レビー小体病の原因解明と、バイオマーカーの開発に関する研究

神経変性疾患に一般に認められる病理所見として、構造異常をきたしたタンパク質の蓄積がある。その中でも  $\alpha$ -synuclein が蓄積する疾患は、synucleinopathy と総称される。細胞内に蓄積するものはレビー小体病、オリゴデンドログリアおよび神経細胞に蓄積するものは多系統萎縮症のカテゴリーに含まれる。レビー小体病は日本における認知症の原因の 20 % を占める重要な疾患である。レビー小体病は3つのタイプに分類される。すなわち1)パーキンソンズムと規定される特異な運動障害(錐体外路症状)を主症状とする Parkinson disease (PD)、2)認知障害を主症状とする diffuse Lewy body dementia (DLB)、3)自律神経症状を主症状とする pure autonomic failure (PAF)である。PD は皮質下性の認知症、あるいは DLB との合併により認知障害をきたし、PD with dementia (PDD)と言われる。罹患年数が長くなり、あるいは発症年齢が高くなるにつれ、PD の中での PDD の割合は高くなる。

平成 22 年度はレビー小体病の中で、認知障害を示す PD with dementia (PDD) および diffuse Lewy body dementia (DLB)の病因について検討を行った。老化の原因としての“酸化ストレス学説”は

広く受け入れられる概念である。しかしながらその本体については明らかとされていない。脳は、酸化ストレスレベルが恒常的に高く、さらに膜脂質には多量の多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid) を含む。 $\alpha$ -synuclein の構造異常と細胞内蓄積の原因としてたんぱく質の酸化傷害、特に過酸化脂質によるたんぱく質修飾に着目した。さらに、老化に伴う遺伝子発現変化として、酸化傷害の除去システムの低下および神経を防御する神経栄養因子の低下とが重要であると考えられる。

上記のようにレビー小体病は末梢神経にも変性が引き起こされる「全身疾患」であるため、バイオマーカー候補として末梢血中の酸化修飾タンパク質、特に PUFA の酸化に伴い生成された過酸化脂質により修飾をうけた  $\alpha$ -synuclein 等のタンパク質、および神経栄養因子である glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) および brain-derived neurotrophic factor (BDNF) について検討を行った。その結果、レビー小体病の患者の血漿中過酸化脂質修飾タンパク質の増加は認められなかったが、BDNF が正常および疾病対照より有意に低下していた。今後、症例数を増やして検討を行うことが必要と考えられた。

## CADASIL 発症機序に関する研究 國本正子、渡辺淳

脳血管性認知症はその原因として脳出血や脳梗塞による脳の血流障害などがあげられているが、その詳細な分子メカニズムは全く分かっていない。その中で原因遺伝子 Notch3 が同定されている脳血管性認知症の CADASIL に着目し、変異 Notch3 を導入した細胞ないしモデル動物を用いて変異 Notch3 の機能を解析し、血管変性メカニズムの分子レベルでの解明を試みた。

### ヒト変異 Notch3 の重合阻害剤のスクリーニング

変異 Notch3 の集合体の分解を行なうことは、CADASIL の治療薬の開発につながる可能性がある。そこで、以前作製した野生型及び変異型 (R133C 及び C185R) Notch3 を誘導する HEK293 細胞系を用いて、重合体の分解を促進する薬剤のスクリーニングを行った。野生型及び変異型 Notch3 を誘導した後、各種低分子化合物を添加し、Notch3 抗体を用いたウエスタンブロットと免疫細胞化学的解析によって薬剤の効果を検討した。その結果、amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) のフィブリル形成を阻害する薬剤である 4,5-dianilinophthalimide (DAPH) や staurosporine aglycone (SA) 等が Notch3 の重合体の分解に効果があった。本研究で用いた変異 Notch3 を発現する細胞を用いたスクリーニング

法は CADASIL の治療薬開発に有用であると思われる。

### CADASIL モデルマウスの構築

以前作製した、変異型 Notch3 ノックイン (KI) マウスを用い、変異型 Notch3 が引き起こす形態変化や分子変化を解析した。その結果、老齢 KI マウスでは、脳において Notch3 タンパク質の蓄積が確認された。また、CADASIL の病理変化は末梢の血管にもみられることから、尾の動脈を観察したところ、平滑筋細胞層の形態的变化、および Notch3 タンパク質の蓄積が認められた。さらに、慢性ストレスを負荷した KI マウスでは、若年でも脳と尾の動脈における VSMCs マーカータンパク質の減少と、尾動脈における平滑筋細胞層の構造変化が認められた。このことから、変異遺伝子と環境要因の相互作用により疾患の発症が促進される可能性が考えられた。

今回構築した CADASIL モデルマウスを、病理学的、生化学的、分子生物学的にさらに詳細に解析することで、CADASIL の発症機序の解明のみならず、大脳細動脈病変や皮質下性認知症などの脳血管障害の病態解明に貢献できると思われる。

## 研究業績（老年病研究部）

### 1.論文発表

#### 1.原著

（英文）

Naoi M, Maruyama W.

Monoamine oxidase inhibitors as neuroprotective agents in age-dependent neurodegenerative disorders.

**Curr Pharm Des.** 2010;**16(25):2799-817.**

Ikeda R, Imai Y, Maruyama W, Mizoguchi K. Systemic disorders of calcium dynamics in rats with adenine-induced renal failure: implication for chronic kidney disease-related complications. **Nephrology** 15: 54-62, 2010.

Kim SS, Choo DW, Shin D, Baek HJ, Kim TH, Motoyama N, De Coster BM, Gueulette J, Furusawa Y, Ando K, Cho KH:

In vivo radiobiological characterization of proton beam at the National Cancer Center in Korea: Effect of the CHK2 mutation.

**Int J Radiat Oncol Biol Phys** 79: 559-562, 2011.

Niida H, Murata K, Shimada M, Ogawa K, Ohta K, Suzuki K, Fujigaki H, Khaw AK, Banerjee B, Hande MP, Miyamoto T, Miyoshi I, Shirai T, Motoyama N, Delhase M, Appella E, Nakanishi M.

Coperative functions of Chk1 and Chk2 reduce tumor susceptibility in vivo.

**EMBO J** 29: 3558-3570, 2010.

Hirai M, Hiramatsu Y, Iwashita S, Otani T, Chen L, Li YG, Okada M, Oie K, Igarashi K, Wakita H, Seno M:

E-selectin targeting to visualize tumors in vivo.

**Contrast Media & Molecular Imaging**, 5: 70-77, 2010

Takahashi K, Adachi K, Kunimoto S, Wakita H, Takeda K, Watanabe A

Potent inhibitors of amyloid b fibrillization, 4,5-dianilinophthalimide and staurosporine aglycone, enhance degradation of preformed aggregates of

mutant Notch3.

**Biochemical and Biophysical Research Communications 402(1):  
54-58**

Minagawa H, Watanabe A, Akatsu H, Adachi K, Ohtsuka C, Terayama Y, Hosono T, Takahashi S, Wakita H, Jung CG, Komano H, Michikawa M  
Homocysteine, another risk factor for Alzheimer's disease, impairs  
apolipoprotein E3 function.

**Journal of Biological Chemistry 285(49): 38382-38388**

Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K,  
Nakashima M: Dental pulp derived CD31-/CD146- side population  
stem/progenitor cells enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats.  
**Tissue Engineering Part A. Feb 15, 2011, Epub ahead of print.**

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

5. 特許申請、取得状況

なし

6. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

本山 昇

DNA損傷応答と老化

第52回日本老年医学会学術集会, 6月25日, 神戸

脇田英明

血管性認知症の実験モデル

第 29 回日本認知症学会学術集会 (シンポジウム 1 血管性認知症のニューホライズン) 2010 年 11 月 5 日, 名古屋

## 2. 国際学会発表

Wakako Maruyama

Role of ageing on the pathogenesis of neurodegeneration. The First Workshop on Beneficial Marine Lipids as Ingredients for Functional Foods.

April 26, Tokyo, Japan

Wakako Maruyama

The role of lipid peroxidation in ageing-related neurodegeneration, and the possible prevention by food factors.

The Second Workshop on Beneficial Marine Lipids as Ingredients for Functional Foods.

Oct 31- Nov. 4 Wellington New Zealand.

Shinsuke Hisaka, Yoshimi Hayashi, Masayo Shamoto-Nagai, Yoji Kato, Hiroyasu Akatsu, Mitsuhiko Nose, Wakako Maruyama, and Toshihiko Osawa

Propanoylation of amyloid  $\beta$  is trigger to the aggregation and enhanced its neurotoxicity.

Society for Free Radical Biology and Medicine (SFRBM)' s 17th Annual Meeting (Orlando, Florida, USA) 2010 年 11 月

Matsumot-Ohya M, Suzuki K, Ohta K, Young SG, Motoyama N:

Extended lifespan of *Zmpste24*<sup>-/-</sup> mice, a model mouse for Hutchison-Gilford Progeria Syndrome (HGPS), in a Chk2-null background.

Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on "Molecular Genetics of Aging", 9月30日, Cold Spring Harbor, NY, USA

Yanagino T, Furukawa-Hibi Y, Iemura S, Natsume T, Watanabe K, Maruyama W, Motoyama N:

Selective dephosphorylation of FOXO by PP2A mediates cellular oxidative

stress response.

Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on “Molecular Genetics of Aging”,  
9月30日, Cold Spring Harbor, NY, USA

Yoshizaki K, Wakita H, Osumi N

Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in  
depressive phenotypes

The 40th annual meeting of Society for Neuroscience

November 13-17, 2010, San Diego

### 3. 国内学会発表

柳野卓也、日比陽子、伊藤雄貴、家村俊一郎、夏目 徹、渡辺研、丸山  
和佳子、本山 昇

酸化ストレスによるフォークヘッド型転写因子FOXO の活性化メカニズ  
ムの解析.

第33回日本基礎老化学会, 6月18日, 名古屋

稲葉桂子、直井信、丸山和佳子、永井雅代

B型モノアミン酸化酵素阻害剤による神経保護剤による神経保護の機序に  
はモノアミン酸化酵素が関与する

Neuro2010 第53回日本神経化学会 2010.9.2 神戸

永井雅代、能勢弓、直井信、丸山和佳子

不飽和脂肪酸は神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞の酸化ストレスと細胞死を誘  
導する

Neuro2010 第53回日本神経化学会 2010.9.3 神戸

國本正子、渡辺淳、足立香代、松崎三記子、武田和也、脇田英明、Rajesh  
N. Kalaria, 丸山和佳子、高橋憲吉

CADASILモデルとしての変異NOTCH3ノックインマウスの作成と解析

Neuro2010 第20回日本神経科学会 2010.9.4 神戸

渡辺 淳、足立香代、國本正子、武田和也、脇田英明、丸山和佳子、高橋  
慶吉

ヒト変異Notch3重合体の分解促進剤のスクリーニング

第29回日本認知症学会学術集会, 11月5日-11月7日, 名古屋

大矢 恵、鈴木今日子、大田久美子、早川智久、Stephen G Young、丸山和佳子、本山 昇

Hutchson-Gilford Progeria Syndrome モデルマウスの寿命制御における Chk2 を介した DNA 損傷応答の関与.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

永井雅代、能勢弓、直井信、大澤俊彦、丸山和佳子

Alpha-synuclein は不飽和脂肪酸による酸化ストレス障害を抑制することでドパミン神経を保護する。

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

星野文彦、渡辺修、呉暁紅、瀧本陽介、竹内征夫、丸山和佳子、大澤俊彦

抗体チップを用いた尿中酸化ストレスマーカーの測定.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

Yanagino T, Hibi Y, Ito Y, Maruyama W, Motoyama N

PP2A protects cells from oxidative stress by selective dephosphorylation of FOXO.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会)、12 月 9, 10 日、神戸

丹伊田 浩行, 村田 和大, 島田 緑, 小川 久美子, 鈴木 今日子, 藤垣 秀和, Aik Kia Khaw, Birendranath Banerjee, M. Prakash Hande, 宮本 智美<sup>7</sup>, 三好 一郎, 白井 智之, 本山 昇, Mireille Delhase, Ettore Appella, 中西 真

Chk1 と Chk2 の協調的な機能が生体内の発癌を抑制する

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会)、12 月 8, 9 日、神戸

早川智久

SIRT1 による Senescence Associated Secretory Phenotype (SASP) の発現制御.

第 4 回 Frontier of cardiovascular disease and metabolic syndrome research (FANTASY), 2月5日、東京

Yanagino T

Protein phosphatase PP2A-mediated activation of FOXO promotes cellular resistance to oxidative stress.

第 3 回 NAGOYA グローバルリトリート、2月25日、大府

Hayakawa T

SIRT1 suppresses senescence-associated secretory phenotype (SASP) during cellular senescence.

第 3 回 NAGOYA グローバルリトリート、2月25日、大府

脇田英明、足立香代

セレクチンを標的としたリポソームによる細胞接着分子抑制効果の検討  
第 35 回日本脳卒中学会総会, 2010年4月16日, 盛岡

脇田英明、足立香代

E-selectin を標的としたリポソームによる細胞接着分子阻止とグリア細胞活性化の抑制

第 51 回日本神経学会総会, 2010年5月21日, 東京

Yoshizaki K, Wakita H, Osumi N

Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in depressive phenotypes

第 33 回日本神経科学大会, 2010年9月2-4日, 神戸

脇田英明、足立香代、武田和也、國本正子、渡邊淳、丸山和佳子

マウス血管性認知症モデルに対する Sialyl Lewis X 結合リポソームの有効性の検討

第 29 回日本認知症学会学術集会, 2010年11月5、6日, 名古屋

足立香代、國本正子、武田和也、渡邊淳、脇田英明、丸山和佳子

血管性認知症モデルマウスを用いた抗 E-selectin 抗体による治療法の有効性の検討

第 29 回日本認知症学会学術集会, 2010年11月5、6日, 名古屋

#### 4. その他、セミナー等

丸山和佳子

Neuro2010 第 53 回日本神経化学会 2010. 9. 1 神戸

若手研究者育成セミナー 「臨床研究とはどうあるべきか」

丸山和佳子

40 2010 8. 5 名古屋

美と健康のための食事-あたまで食べよう-

丸山和佳子 2010

第一回ブレインフーズ研究会 脳の老化を制御する食品成分

本山 昇

アポトーシス・ストレス応答

名古屋大学医学部講義「免疫と生体防御」. 5月7日

本山 昇

DNA 損傷応答：がんと老化

長崎大学医学部講義「病理学総論」. 5月11日、長崎

本山 昇

酸化ストレス・DNA 損傷応答の制御メカニズムと老化.

長崎大学大学院医歯薬総合研究科大学院セミナー. 5月10日、長崎

#### 7. 公的研究費

##### 1. 文部科学省

丸山和佳子, (代表) 100 万円 (総額 320 万円)

科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究

老化シグナルを制御し、神経変性を予防する食品由来成分の開発

脇田英明 (代表) 130 万円 (総額 130 万円)

基盤研究 (C)

セレクチンを標的とするリポソームを用いた脳虚血での血管内皮細胞  
活性化機構の解析

## 2. 財団、その他

丸山和佳子, (分担) 一括計上

戦略的国際科学技術協力推進事業

機能性食品素材としての海産脂質の有用性

丸山和佳子(分担) 220 万円

地域イノベーション創出研究開発事業

抗体チップを用いた未病検査システムの開発

丸山和佳子 (分担) 250 万円

carnosine 高含有トリ胸肉抽出物 (CBEX) による虚弱高齢者の生活機能改善効果に関する基礎的、臨床的研究

日本ハム株式会社

## 運動器疾患研究部

### (1) 構成員

部長 池田 恭治

室長

関節疾患研究室 竹下 淳

骨機能再建研究室 渡邊 研

特任研究員

麓 敏雄

流動研究員

兼子 佳子

朴 慶愛

印籐 頼子

研究補助員・事務補助員

鈴木 三恵

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

骨の代謝回転は、破骨細胞と骨芽細胞によってドライブされ、骨芽細胞が最終分化して骨基質内に埋まった骨細胞は、これら 2 種類の細胞機能を骨内部から調節する役目をもつ。破骨細胞の分化の骨吸収機能の活性化機構、

骨芽細胞から骨細胞への転換の分子メカニズム、これら 3 種類の細胞間のコミュニケーションの詳細、とりわけ破骨細胞由来の骨芽細胞機能制御因子の精製が、研究部が取り組んでいる大きなテーマである。これらの制御ポイントが、老化という衰退過程のなかでどのように破綻していくのか、それらを防止するためにどのような手段が有効なのか

骨格系は、腱を介して筋肉活動と直接連動し、神経・循環系を介して生体のほとんどすべての臓器と機能的連関関係にある。こうした骨と他の臓器を包括した制御機構も重要なテーマである。研究部では、とくに機械的・力学的な環境に対する骨の適応反応、循環動態と骨代謝との関連などについて、生理的および病理的観点から解析を進めている。

麓 敏雄、池田 恭治

## ステロイド骨粗鬆症のモデルマウスの作製と病態解析

【研究の背景】ステロイド骨粗鬆症は、グルココルチコイド投与に続発し、骨密度の低下が顕著になる前から、若年者にも投与早期から骨折を起こすことで知られる。グルココルチコイドを投与すると必発することから、わが国でもガイドラインが作成され予防の重要性が提唱されている。

我々は、骨密度の低下がなくても、骨の脆弱性が増し骨折の危険が高まることに着目し、ステロイド骨粗鬆症における骨脆弱性の病理基盤を明らかにすることで、有効な治療法の開発も可能になり、また一般に見られる加齢による骨粗鬆症の骨折防止にもつながると考えた。

【目的】そこで、ステロイド骨粗鬆症の病態を再現するモデルマウスを作製し、分子遺伝学および薬理学の手法を駆使して、骨質劣化の病理基盤の解明をめざした。

【方法】成熟した C57BL/6 マウスの皮下にプレドニゾロンの徐放ペレットを植え込み、2 ヶ月という慢性経過でグルココルチコイドの過剰状態を作

製した。

マイクロ CT による海綿骨および皮質の骨量測定、構造解析、組織形態計測や生化学解析による骨の細胞機能の評価を行った。

【結果】プレドニゾロンの慢性投与により、腰椎の海綿骨の減少と、長管骨の皮質の菲薄化が見られた。組織形態計測や血清の生化学検査の結果から、骨吸収の亢進よりは、主に骨形成の抑制の結果であることが明らかになった。

【結論】分子遺伝学的手法が応用できる C57BL/6 系統において、皮質骨の菲薄化や骨形成の低下など、ヒトのステロイド骨粗鬆症と似た病態の再現に成功した。今後は、骨の細胞特異的に GR を欠如させたモデルマウスとの組み合わせにより、病態の中核となる細胞を特定できる可能性がある。

印籐 頼子、池田 恭治

## 骨髓脂肪と加齢

【研究の背景】体組成（脂肪・筋肉・骨格）のなかで、白色脂肪はエネルギーの蓄積を、褐色脂肪はエネルギーの放出を介して、代謝の恒常性に寄与するとともに、加齢に伴う肥満やメタボリック症候群の発症にも深く関わっている。

骨髓においても、加齢による造血機能の低下とともに脂肪が増生し、赤色髓が（末梢から躯幹に向かって順に）黄色髓に置換されていくことが知られているが、そのメカニズムは謎である。骨髓の脂肪細胞は骨芽細胞と同じく間葉系の幹細胞に由来すると考えられており、幹細胞から骨芽細胞への分化が加齢に伴って抑制され、逆に脂肪細胞の産生が増加するという分化スイッチの転換が“骨の老化”の原因であるとの説があるが、詳細なメカニズムは未解明で、加齢変化を有効に遅延あるいは阻止する方策も知られていない。

【目的】我々は、脂肪分化を抑制する活性をもつ IL-6 ファミリーのサイトカイン、オンコスタチン M (OSM) に着目して、その *in vivo* における生理作用の解明と、加齢に伴う骨髓脂肪の増生および骨形成機能の低下における OSM シグナルの関与を明らかにする第一歩として、OSM の受容体 (OSM-R) を遺伝的に欠失したマウスの骨および骨髓の解析を行った。

【方法】OSM-R ノックアウトマウス

(東京大学分子細胞生物学研究所・宮島 篤教授との共同研究) を導入し、マイクロ CT による海綿骨および皮質の骨量測定と構造解析 (長崎大学附属病院・伊東昌子准教授との共同研究)、組織形態計測や生化学解析による骨の細胞機能の評価を行った。

【結果と考察】OSM-R ノックアウトマウスの骨髓では、脂肪 (とくに単房性) が増加し、OSM の骨髓脂肪に対する抑制的な作用が *in vivo* で確認された。OSM は *in vitro* での破骨細胞形成促進作用が知られているが、KO マウスでは破骨細胞の数や骨吸収には対照群と差が認められなかった。

KO マウスの組織解析では、骨芽細胞の数と骨形成速度が上昇しており、骨芽細胞に対する OSM の抑制的な生理作用が判明した。一方、骨細胞の数は減少し、空の骨小腔面積が増加していたことから、骨芽細胞から骨細胞への終末分化あるいは骨細胞の生存には促進的に働いている可能性が示唆される。以上の結果の総和として、KO マウスでは皮質骨が増加し、海綿骨量も上昇傾向を示した。

【結論】OSM の骨髓脂肪および骨芽細胞に対する生理作用がはじめて明らかになった。OSM-R を介する骨髓内部の細胞分化の振り分けのメカニズムを究明することで、加齢に伴う骨と骨髓の老化を制御する手立てが見つかる可能性がある。

竹下 淳、麓 敏雄、鈴木 三恵

カップリンの機能解明とカップリン転写活性促進化合物のスクリーニング (案)

【研究の背景】骨粗鬆症をターゲットとした創薬のために骨カップリング因子の同定を試みて、活性化破骨細胞が特異的に分泌する遺伝子を見出し、骨形成を促進することから「カップリン」と命名した。骨カップリング因子としての機能を生体内で証明するためにマウスを使った loss-of-function と gain-of-function の実験を行い、カップリンが骨カップリング因子であることを証明すると共に、創薬を目指してカップリンの転写活性を促進する化合物のスクリーニングを行っている。

【目的】カップリンの機能解明と創薬のシーズを創出するための化合物のスクリーニングを行う。

【方法】破骨細胞特異的にカップリンをノックアウトするためにカップリン floxed マウスとカテプシンK-cre マウスを交配し、カップリン欠損マウスを作成した。このマウスに RANKL を投与し、カップリング機能が障害しているかどうかを骨形態計測に

より解析した。また、カップリンプロモーターに分泌型 ALP 遺伝子を連結し、発現ベクターを作成した。このベクターを RAW264.7 細胞にトランスフェクションし、化合物を添加し、培養後の培養上清の ALP 活性を測定することにより、10000 個の化合物ライブラリーをスクリーニングした。

【結果】破骨細胞特異的にカップリンを欠損すると低骨量を発症することが分かった。このマウスに RANKL を投与して破骨細胞を誘導すると骨吸収が促進され、その後起こる骨形成が野生型に比べ障害されることが分かった。これらことからカップリンが骨カップリング因子の一つであることが強く示唆された。カップリン遺伝子の転写活性を促進する化合物を 10 個見出した。今後、マウスを用いてこれらの化合物がカップリン遺伝子の発現を上昇し、骨量を上昇させるかどうかを検討する予定である。

朴 慶愛、竹下 淳

## 破骨細胞が分泌する新規カップリング因子の同定

【研究の背景】骨粗鬆症をカップリングの破綻として捉え、骨カップリング因子の同定とメカニズムの解明により、これまでにない新規骨粗鬆症治療薬の開発を目指している。これまでに活性型破骨細胞が産生し、骨芽細胞に働き骨形成を高める因子カップリンを同定した。我々はカップリン以外にも破骨細胞が産生・分泌し、骨芽細胞に働く骨カップリング因子があると考え、その同定を試みている。

【目的】破骨細胞の培養上清中に骨芽細胞分化を促進する活性を検出したので、その原因因子を同定し、骨粗鬆症をターゲットとする創薬のシードを見出すことを目的とする。

【方法】破骨細胞を大量に培養し、その培養上清を分離・精製し、骨芽細胞の ALP 活性を指標として、新規骨カップリング因子を同定する。

【結果】骨芽細胞を破骨細胞と共存培養することにより、骨芽細胞の ALP 活性を促進する活性が破骨細胞により分泌されることを見出した。そこで、破骨細胞の各分化段階の培養上清を骨

芽細胞に添加したところ、多核成熟破骨細胞の培養上清に骨芽細胞の ALP 活性を促進する因子が多く含まれることが分かった。さらに、成熟破骨細胞の培養上清を限外ろ過により分収したところ、100kDa 以上に強く、30~100kDa に弱い活性があることが分かった。この活性は室温で一昼夜保存しても安定であり、75°Cで30分間の処理で失活した。また、pH2 または pH10 で1時間の処理でも失活した。さらに、PDGF、TGF- $\beta$ 、および VEGF の中和抗体では活性は消失しなかった。現在、イオン交換カラムを用いて分離精製を行っている。

【結論】破骨細胞の培養上清中に骨芽細胞の分化を促進する活性を検出した。それらは PDGF、TGF- $\beta$ 、および VEGF ではなく、分子量 100kDa 以上であることが分かった。破骨細胞の培養上清中に新たな骨カップリング因子が存在することを突き止めたので、その実態を明らかにすることが期待される。

## 研究業績（運動器疾患研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Yajima A, Inaba M, Tominaga Y, Nishizawa Y, Ikeda K, Ito A: Increased osteocyte death and mineralization inside bone after parathyroidectomy in patients with secondary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 25: 2374-2381, 2010

Akieda-Asai S, Zaima N, Ikegami K, Kahyo T, Yao I, Hatanaka T, Iemura S-i, Sugiyama R, Yokozeki T, Eishi Y, Koike M, Ikeda K, Chiba T, Yamaza H, Shimokawa I, Song Si-Y, Matsuno A, Mizutani A, Sawabe M, Chao MV, Tanaka M, Kanaho Y, Natsume T, Sugimura H, Date Y, McBurney MW, Guarente L, Setou M: SIRT1 Regulates Thyroid-Stimulating Hormone Release by Enhancing PIP5K Activity through Deacetylation of Specific Lysine Residues in Mammals. *PLoS ONE* 5(7): e11755. doi:10.1371/journal.pone.0011755

Yano M, Watanabe K, Yamamoto T, Ikeda K, Senokuchi T, Lu M, Kadomatsu T, Tsukano H, Ikawa M, Okabe M, Yamaoka S, Okazaki T, Umehara H, Gotoh T, Song WJ, Node K, Taguchi R, Yamagata K, & Oike Y: Mitochondrial Dysfunction and Increased Reactive Oxygen Species Impair Insulin Secretion in Sphingomyelin Synthase 1 Null Mice. *J. Biol. Chem.* 286, 3992-4002, 2011.

#### 2. 総説

Watanabe K, Ikeda K: Osteocytes in normal physiology and osteoporosis. *Clinic Rev Bone Miner Metab* 8: 224-232, 2010

Watanabe K, Ikeda K: Chapter 9. Osteocytes in Mechanosensing: insights from mouse models and human patients. In: "Mechanosensing Biology" (ed. Masaki Noda), p127-139, Springer, 2011

池田恭治: 副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP)、臨床検査ガイド 2011-2012、p399-404 文光堂, 2011

池田恭治: 自然加齢マウス・ラット、CLINICAL CALCIUM 特集“骨・関節疾患の動物モデル” 21: 65-71, 2011

渡辺 研、大上泰弘、池川志郎：変形性関節症 自然発症モデルマウス CLINICAL CALCIUM 特集“骨・関節疾患の動物モデル” 21: 134-141, 2011

池田恭治：骨粗鬆症にかかわるミトコンドリア、別冊・医学のあゆみ“ここまでわかった ミトコンドリア研究の新展開” 医歯薬出版 p115-118, 2011、東京

池田恭治：骨粗鬆症モデル、完全版マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック、p515-532 羊土社, 2010

渡辺 研、池田恭治：骨細胞の分子生物学、THE BONE “運動と骨 II” 24: 57-63, 2010

池田恭治：骨粗鬆症の発症メカニズム、臨床と研究 特集/骨粗鬆症の新しい展開 41: 1-4, 2010

池田恭治：骨のアンチエイジングとリハビリテーション、Medical Rehabilitation 124: 47-50, 2010

### 3. 著書、Chapters

伊藤明美、池田恭治：図解 わかる骨形態計測～骨のなかをのぞいてみよう～、 医薬ジャーナル社、2010年、大阪

### 4. その他

Yamauchi J, Ubara Y, Ikeda K, Takaichi K: Retroperitoneal liposarcoma with lamellar bone inside. Lancet 377: 941, 2011

### 5. 新聞・報道,等

なし

#### I.

### 6.特許申請、取得状況

なし

#### II. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム、特別講演

池田恭治：骨粗鬆症の病因と治療をめぐる最近のトピックス、第9回名城倶楽部特別講演、

3月5日、名古屋市

池田恭治：骨折は忘れたところにやってくる、第11回知多北東部整形リハビリ病診連携会  
5月22日 大府市

池田恭治：骨の細胞機能と情報伝達網、山形大学大学院講義「遺伝情報科学」、6月29日、山形市

竹下 淳：骨代謝の基礎と最近のトピックス、創薬生命科学特別講義、6月3日、名古屋市立大学

池田恭治：鉄と破骨細胞、シンポジウム“鉄代謝の基礎と臨床” 第34回日本鉄バイオサイエンス学会 9月12日 東京

竹下 淳：Bone-resorbing osteoclasts secrete a factor that stimulates osteoblastic differentiation 第5回 Bone Research Seminar 2月18日 東京

渡辺 研：マウスにおけるスフィンゴミエリン合成酵素遺伝子 Sms1/Sms2 の機能、第5回スフィンゴセラピー研究会、米子、7月16日

## 2. 国際学会発表

Takeshita S, Fumoto T, Park K-a, Aburatani H, Kato S, Ito M, Ikeda K:: Bone-resorbing osteoclasts secrete a factor that stimulates osteoblastic differentiation. The 32nd Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 10月15、16日 Toronto, Canada

## 3. 国内学会発表

伊藤明美、杵鞭あゆみ、兼子佳子、池田恭治：アレンドロネート投与による皮質骨と海綿骨の代謝変化、第28回日本骨代謝学会、東京、7月21日

渡辺 研、酒井義人、原田 敦：脊柱管狭窄症黄色靭帯由来靭帯細胞に発現する転写因子 Pax9 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会(BMB2010) 12月9日 神戸

Hayashi A, Fujii T, Yakura Y, Matsui T, Okada F, Watanabe K, Kitatani K, Okazaki T, Takeya H: Pathophysiology of thrombocytopenia in mice lacking sphingomyelin synthase

1 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) 12 月 9 日 神戸

矢野正人、山本格士、渡辺 研、池田和貴、瀬ノ口隆文、門松 毅、東野寛人、後藤知己、岡崎俊朗、田口 良、山縣和也、野出孝一、尾池雄一：スフィンゴミエリン合成酵素 1 ノックアウトマウスにおける ROS 産生増加と致死性・インスリン分泌不全・脂肪萎縮との関連性の解析

第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) 12 月 9 日 神戸

光武 進、横田はづき、座間宏太、山下 匡、岡崎俊朗、渡辺 研、五十嵐靖之：スフィンゴミエリン合成酵素 2 は、食事誘導性脂肪肝形成に関与する

第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) 12 月 9 日 神戸

座間宏太、林 遥、光武 進、渡辺 研、岡崎俊朗、五十嵐靖之：細胞内スフィンゴミエリンの栄養の取り込みに対する影響 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) 12 月 9 日 神戸

### Ⅲ. 公的研究費

#### 1. 文部科学省

池田 恭治 (代表) 3,263 万円 (総額 3,263 万円)

新学術領域

造血細胞から破骨細胞への分化転換のメカニズム

池田 恭治 (代表) 702 万円 (総額 702 万円)

基盤研究 (B)

骨代謝における RANKL 遺伝子の機能解明

竹下 淳 (代表) 195 万円 (総額 195 万円)

基盤研究 (C)

骨吸収特異的転写制御機構の解明

麓 敏雄 (代表) 182 万円 (総額 182 万円)

若手 (B)

グルココルチコイドの骨細胞及び骨芽細胞に対する作用メカニズムの解析

渡辺 研（分担） 130万円 （総額1,550万円）

基盤研究(A)

スフィンゴミエリン K0 マウスを用いた自己免疫疾患の発症機序の解明と免疫抑制剤の開発

渡辺 研（代表） 117万円 （総額117万円）

基盤研究(C)

スフィンゴミエリン合成酵素の機能分担に関する研究

## 2. 財団、その他

池田 恭治（代表） 3,000万円 （総額 3,900万円）

独立行政法人医薬基盤研究所 基礎研究推進事業

骨質を標的とした骨折予知診断および新規治療薬に関する研究

竹下 淳（代表） 300万円 （総額 300万円）

長寿科学振興財団 H22 長寿科学研究者支援事業

骨再生を促進する因子の同定

## 再生再建医学研究部

### (1) 構成員

部長 橋本 有弘

室長

組織再生再建研究室 下田 修義

細胞再生研究室 上住 円

流動研究員

永田 有希

塩見 浩介

開発費研究員

向 敦史

事務補助員

加藤 記代美

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

平成 17 年 3 月に橋本が部長として着任し、再生再建医学研究部を立ち上げた。その後、平成 17 年 3 月に下田が研究室長として、平成 18 年 1 月に上住（池本）が研究員として着任した（その後、細胞再生室長に昇任）。

研究部設立後の 2 年間は、研究基盤整備に予想を超える労力を費やす結果となった。平成 18 年度以降は、研究基盤整備を進めつつ、研究活動を軌道に乗せる努力を続けてきた。その結果、新設研究部としての方向性を示す研究成果が得られてきた。平成 22 年の独立法人化を挟んで、論文発表の段階での悪戦苦闘は続いているものの、棟センター病院および他機関との共同研究を論文として発表するなど、確実に成果はあがってきた。

当研究部は、空っぽの研究室を実験可能な状態にすること、すなわち研究

環境（インフラストラクチャー）を整備することからはじめねばならなかった。人力的にも財政的にも厳しい状況であったため、設立当初 2 年間の研究進捗状況は、決して満足できるものではなかった。手探りでの船出であったが、「当たり前に行えることを確実に実行できて、はじめて独自の展開が可能になる」と考え、地道な努力を辛抱強く続けてきた。この方針は、今後も堅持したい。

当研究部設立後 2 年間は、一刻も早く研究を本格的に始動させるため、当研究部は、1 研究部 1 研究グループとして活動してきた。しかし、平成 19 年度からは、研究部長の推進する主要研究プロジェクトとは別に、下田室長が萌芽的研究を進めてきた。一方、再生再建医学研究グループと細胞再生研究室は、「筋再生プロジェクト」として実質ひとつの研究グループとして機能してきた。今後は、室長レベル研究員の発展的独立を期待したい。そこで、研究部としての枠組みは保持しながらも、部室長が独立研究者として、それぞれ責任を持って 3 つの研究プロジェクトを独自に進めることを想定し、研究運営に配慮した。すなわち、研究部長橋本の推進する、筋再生研究の臨床研究への発展をめざす「再生再建医学研究」、上住室長の担当する、マウスをモデルとした「筋幹細胞の加齢変化研究」、下田室長が進めてきた、ゼブラフィッシュをモデルとした「加

齢に伴うゲノムメチル化研究」である。下田室長、上住室長のプロジェクトは、平成 22 年度中に着任後最初の論文発表することはできなかったが、奮起を期待したい。

平成 22 年度、当研究部は、以下のような研究項目について研究を進めてきた。

- ①高齢者および遺伝子性筋疾患患者由来ヒト筋細胞の初代培養および不死化細胞の解析
  - ②遺伝子性筋疾患発症の分子機序の解析
  - ③骨格筋細胞融合の分子機構の解析
  - ④骨格筋幹細胞の加齢変化の解析
  - ⑤加齢に伴うゲノムメチル化の解析
- ①～③が、本研究部の推進する研究プロジェクト（骨格筋幹細胞に着目した再生治療の開発をめざす研究プロジ

ェクト）であり、今後も研究部の総力を挙げて発展を図る。①～③の関連研究である④は、マウスをモデルとして上住室長が解析を担当し、独自の判断で研究を進めている。⑤については、下田室長の希望に基づき、平成 19 年度以降探索研究として実施している。

当センター病院（泌尿器科）および外部研究機関（国立がんセンター、理化学研究所、京都大学再生医学研究所、徳島文理大学、熊本大学、神戸学院大学など）との共同研究については、確実に研究成果が得られ、その一部は論文発表することができた。

また、基礎（研究所）と臨床（病院）の連携による先端的治療法開発をめざし、当研究センター内に再生医療専用設備の整備を進めている。

再生再建医学研究グループ：  
橋本有弘、向敦史、塩見浩介、永田有希  
骨格筋細胞の融合制御機構に関する研究

骨格筋の最終分化細胞である筋管細胞は、多数の核を持つ巨大な細胞である。筋管細胞は、筋前駆細胞が互いに融合することによって形成される。自発的細胞融合は、筋細胞に固有な特性のひとつであり、細胞融合の機構の解明は、筋再生を促進する技術の開発、すなわち筋幹細胞を標的とした筋再生治療の開発に必須である。筋細胞の融合過程は、①細胞接触、②細胞認識および接着、③細胞膜の崩壊と再構成（融合）、という多段階に分けられる。しかし、これまで、これらのステップを制御する分子機構に関しては不明の点が多い。

我々は独自に樹立したマウス筋前駆細胞株 Ric10（参考文献1）の細胞融合過程をタイムラプス装置によって観察し、筋細胞の membrane ruffles および lamellipodia が他の筋細胞の細胞膜と融合すること、即ち、ruffles および lamellipodia が細胞膜の「予定細胞融合領域 (fusion-competent area of plasma membrane)」であることを発見した（文献1）。さらに、筋細胞の膜融合には、予定融合領域における、(1) 細胞接着分子の脂質ラフトへの集積と (2) 脂質ラフトの凝集と拡散が必須であることを明らかにした（文献2）。

平成22年度は、(1) 細胞接着分子の脂質ラフトへの集積と (2) 脂質ラ

フトの凝集と拡散分子機構について解析し、以下のような成果を得た。

①骨格筋特異的細胞接着タンパク質 M-cadherin は、筋分化特異的に脂質ラフトへ集積する。②M-cadherin の脂質ラフトへの集積は、細胞膜上の M-cadherin が、非ラフト領域からラフト領域へ移動することによる。③脂質ラフトの凝集と拡散は、small G protein Rac1 によって制御されている。④分化途上の未分化骨格筋細胞では、接着分子の脂質ラフトへの移動・集積とそれに続く脂質ラフトの凝集・拡散が、秩序だった制御を受けている。

私たちは、現在、接着分子の脂質ラフトへの局在を制御する分子機構について、さらに解析を進めている。

本研究は、筋細胞融合の分子機序に基づいた「筋細胞融合効率を向上させることを目的とした治療法」を開発するための重要な基盤となる。

#### 参考文献

1. Mukai, A, et al. **Exp.Cell Res.** **314**: 387-397. 2008.
2. Mukai, a, et al. **Exp.Cell Res.** **315**: 3052-3063. 2009
3. Wada, RM, et al. **Development**, 129(12): 2987-2995, 2002.

## 細胞再生研究室：上住 円

### サルコペニアの予防・治療法の開発を目的とした老化骨格筋の再生環境悪化の原因究

加齢に伴う筋量および筋機能の低下（サルコペニア）は、高齢者の身体的自立能力を奪い、QOL を低下させるため、解決すべき重要課題である。サルコペニアの原因には未だ不明な点が多いが、加齢に伴う筋再生能力の低下が一因であると考えられている。骨格筋には筋の再生や成長を担う幹細胞である筋衛星細胞 (muscle satellite cell) が存在する。satellite cell の加齢による影響については、加齢に伴い satellite cell 数が減少するという報告がある一方で、変化しないという報告もあり、未だ結論が得られていない。そこで、我々は筋組織全体の satellite cell の高精度な定量解析を目的として、satellite cell の表面抗原を認識する特異的抗体 (SM/C-2.6 抗体) とフローサイトメーターの技術を駆使し、マウス骨格筋から satellite cell を直接単離する方法を試みた。これにより、老化マウスの骨格筋から高純度で satellite cell を単離することに成功し、老化マウスの筋組織では、satellite cell 数が顕著に減少していることを明らかにした。培養を介さず細胞が得られるこの技術基盤は、生体内における幹細胞の加齢変化をより直接的に解析することを可能とする。

この方法を用いて、若齢マウス (2-3 ヶ月齢) と老化マウス (24-30 ヶ月齢)

の骨格筋から satellite cell を単離し、網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、老化マウスの satellite cell では、inflammatory, immune response, extracellular matrix, cell adhesion, apoptosis 等に関わる遺伝子の発現が増加していることがわかった。反対に、老化マウスの satellite cell で減少している遺伝子として、RNA processing, transcription, cell cycle, metabolism 等に関わるものが見出された。

本年度は、老化マウスの satellite cell で発現減少していた1つの遺伝子に着目し、詳細な解析を行った。マウス骨格筋の免疫組織学的解析により、satellite cell におけるその発現をタンパクレベルで確認した。また、フローサイトメーターにより定量的にその発現レベルを調べた結果、興味深いことに、その分子は全ての satellite cell で発現しているわけではなく、陽性と陰性の satellite cell が存在し、老化マウスにおいては、陽性の satellite cell の割合が顕著に低下していることが示された。今後、加齢に伴う satellite cell 数減少におけるこの分子の関与についてさらに調べる予定であり、これらの解析を通して、サルコペニアの原因解明と予防法開発に発展させていきたいと考えている。

## 組織再生再建研究室：下田修義 加齢に伴うエピジェネティック変化の研究

はじめに

高齢者に見られる組織・器官の生理的機能の低下の度合いを反映しうるバイオマーカーがあれば高齢者疾患の発症前診断に役立てることができる。さらにそのバイオマーカーを基にして老化メカニズムの一端を解明できれば、高齢者の生理機能低下を予防、回復させることが可能になるかもしれない。しかしこれまで脊椎動物の老化の度合いを測るバイオマーカーは見つかっていなかった。古くにエピジェネティクスの一つ、DNA のメチル化の減少と老化との関連が指摘されていたが、その後研究は進展していなかった。私はこれまでの研究により哺乳動物とは進化上離れた脊椎動物である魚類、ゼブラフィッシュにおいても加齢に伴うメチル化レベルの変化（減少）を明らかにし、DNA メチル化の変動が脊椎動物で共通のバイオマーカーであることを見出した。私はさらに、ゼブラフィッシュの老化個体のゲノム DNA に小さな DNA の断片が含まれていることに気づき、この低分子 DNA の新たなバイオマーカーとしての可能性を検討した。

結果及び考察

30ヶ月齢のゼブラフィッシュ組織からゲノムを抽出後、アガロースゲルで電気泳動をするとエチジウムブ

ロマイド染色により 500 bp に満たないサイズの DNA 断片がかすかに観察された。私はその低分子量 DNA を感度よく検出するための独自の手法を開発し、高濃度アガロースゲルで解析したところ、低分子 DNA は組織にもよるがおよそ1年を過ぎた頃から現れ始めること、さらにその DNA はアポトーシスを起こした細胞で見られる 180 bp 前後の DNA 断片を最小単位とするラダーとして現れることが明らかになった。ゼブラフィッシュの生殖期間がおよそ3ヶ月齢から12ヶ月齢であることから、低分子 DNA 断片は生殖期間の終わり、つまり老化が始まる時期から出現する。哺乳動物では低メチル化を誘導するとアポトーシスが生じることが示されており、ゼブラフィッシュの加齢に伴い出現する DNA 断片は、すでに見出しているゲノム DNA の加齢依存性低メチル化により誘導されるアポトーシスの結果ではないかと考えられた。ヒトやマウスでも老化した組織でアポトーシスが亢進し、DNA ラダーが出現する例が報告されており、DNA 断片の出現が DNA メチル化の変動と同じく、脊椎動物の共通の加齢マーカーであること、ゼブラフィッシュがそれらの老化への関与を解析する上で好適のモデル生物になり得ることが示唆された。

## 研究業績（再生再建医学研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Suzuki, Y., Nakayama, K., Hashimoto, N. and Yazawa, I.  
Proteolytic processing regulates pathological accumulation in  
dentatorubral-pallidoluysonian atrophy  
FEBS J. 27:4873-87, 2010.

Yanagisawa, M., Mukai, A., Shiomi, K., Song, Si-Y., and Naohiro Hashimoto  
Community effect triggers terminal differentiation of myogenic cells  
derived from muscle satellite cells by quenching Smad signaling  
Exp. Cell Res. 317: 221-233, 2011.

#### 2. 総説

##### 橋本有弘

腹圧性尿失禁に対する培養骨格筋細胞を用いた再生医療開発の現状と展望。  
排尿障害プラクティス 18:29-35, 2010.

#### 3. 著書

なし。

#### 4. その他、新聞・報道等

なし。

#### 5. 特許申請、取得状況

なし。

### II. 学会・研究会等発表

#### 1. シンポジウム、特別講演

橋本有弘、塩見浩介、永田有希、向敦史、上住円、岡村菊夫  
自己筋幹細胞を用いた高齢者の尿失禁に対する再生治療の開発  
第99回日本泌尿器科学会総会シンポジウム  
2010年4月25日、名古屋

橋本有弘

サルコペニア発症における筋再生システムの役割解明をめざして

～骨格筋幹細胞生物学からのアプローチ～

転倒防止研究会 第8回研究集会

2011年10月2日、東京

上住 円

サルコペニアの原因解明を目的とした骨格筋幹細胞の加齢変化の解析.

徳島大学医学部生体栄養学分野特別講演会, 2010年12月1日, 徳島

## 2. 国際学会発表

Naohiro Hashimoto and Michiko Yanagisawa

Community Effect Triggers Terminal Differentiation of Myogenic Cells by  
Quenching Smad Signaling Pathway

FASEB Summer Conferences: Skeletal Muscle Satellite and Stem cells  
July 19, 2010. USA.

Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Hashimoto N.

Age-related changes in prospectively isolated muscle satellite cells

16th International Conference of the International Society of  
Differentiation (From Stem Cells to Organisms)

November 16, 2010. Nara, Japan.

Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Hashimoto N.

Age-related changes in prospectively isolated muscle satellite cells

Keystone Symposia, Stem Cells in Development, Tissue Homeostasis and  
Disease

January 31, 2011. Santa Fe, New Mexico, USA.

## 3. 国内学会発表

橋本有弘、柳澤美智子

Community Effect Triggers Terminal Differentiation of Myogenic Cells by  
Quenching Smad Signaling Pathway

第43回日本発生生物学会大会 2010年5月19日 京都

橋本有弘、岡村菊夫、塩見浩介

腹圧性尿失禁に対する自己筋細胞移植治療の開発：高齢者由来横紋筋幹細胞の分離および培養下における増殖特性

泌尿器科再建再生研究会 2010年6月19日 札幌

橋本有弘、柳澤美智子

Smadシグナルの抑制による細胞密度依存的な筋分化抑制機構（コミュニティー・イフェクト）

第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7-10日 神戸

向敦史、橋本有弘

Crucial role of Rac1 in myogenic cell fusion

第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7-10日 神戸

塩見浩介、橋本有弘

グルココルチコイドによるヒト筋細胞の増殖制御機構

第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7-10日 神戸

永田有希、清野透、後藤雄一、橋本有弘

不死化ヒト筋細胞を用いたディシェンヌ型筋ジストロフィー・筋細胞の特性解明

第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7-10日 神戸

下田修義、井澤俊明、吉澤明生、菊池裕、橋本有弘

ゼブラフィッシュの体細胞ゲノムに生じる2種類の加齢変化

日本エピジェネティクス研究会 平成22年5月28日，米子市文化ホール

下田修義、井澤俊明、吉澤明生、菊池裕、橋本有弘

ゼブラフィッシュの体細胞ゲノムに生じる2種類の加齢変化

日本基礎老化学会 平成22年6月17日，名古屋大学

#### 4. その他、セミナー等

### III. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省

橋本有弘（分担）200万円

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合）

高齢者における加齢性筋肉減弱現象（サルコペニア）に関する予防対策確立のための包括的研究

橋本有弘（分担）200万円

厚生労働科学研究費補助金（政策創薬総合）

ヒト組織・細胞の研究資源としての高度化と公共ヒト組織・細胞バンクの利用促進に関する研究

## 2. 文部科学省

橋本有弘（分担）15万円

科学研究費補助金（基盤C）

グリア細胞における脂質代謝が仲介する脳病変制御および修復機構の解明

上住 円,（代表）117万円

科学研究費補助金（若手研究(B)）

骨格筋幹細胞（筋衛生細胞）の維持機構解明によるサルコペニアの原因究明

## 3. 財団、その他

国立精神・神経疾患医療研究センター

橋本有弘（分担）250万円

精神・神経疾患研究開発費.

筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ

## 口腔疾患研究部

### (1) 構成員

部長 松下 健二

室長

口腔感染制御研究室 中島美砂子

口腔感染制御研究室 江口 傑徳

流動研究員

今林 貴代美

萩原 真

古賀 豪

村上 真史

特任研究員

庵原 耕一郎

研究員

宮本 義孝

研究生

石坂 亮

山本 翼

江場 久哲

竹内 教雄

堀部 宏茂

小松 寿明

杉浦 進介

加藤 佳子

谷川 順美

礼ミン・エルモ・ペラ・ア・メット

研究補助員・事務補助員

阿部恵梨子

高見 沙織

富永三千代

長井 綾乃

上籠 恵美

神谷 美佐麻

土屋 由加子

小林 かおる

小暮 宏実

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

当研究部は、口腔感染制御研究室と口腔機能再生研究室の 2 室で構成されており、総勢 28 名の構成員で研究活動を行っている。当研究部では、高齢者の歯の喪失の問題を血管生物学的、細菌学的、免疫学的、そして再生歯学的アプローチにより総合的、統合的に解決することを目指している。

部長研究グループは、歯周病と心血管病や糖尿病との因果関係を明らかにする研究を行い、歯周病原菌が血管内皮細胞上の E-selectin 分子と結合し、動脈硬化巣に定着する可能性を示した。また、細菌が細胞内に侵入する際に、宿主細胞で活性化される Rab5 を制御する因子、vinculin を発見し、実際に試験管内で細菌の侵入を制御することを明らかにした。また、長寿医療・研究を担う人材の育成と高度かつ効率的な長寿医療研究開発を行なう体制を構築するために、連携大学院の設立を積極的に行ない、本年度は現在、東北大学、北海道医療大学、愛知学院大学、鹿児島大学の各大学院に連携講座長寿口腔科学講座を設置し、合計 11 名の大学院生を受け入れて研究指導を行った。

口腔機能再生研究室：中島美砂子, 庵原耕一郎, 今林貴代美, 宮本義孝  
歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生に関する研究

歯髄幹細胞移植による歯髄再生治療を臨床に応用する場合,まず,歯髄幹細胞の安全性,有効性を明らかにする必要がある。私どもは,昨年度までに,フローサイトメトリーあるいは抗体ビーズ法により分取した CD105<sup>+</sup>細胞をイヌの抜髄後の根管内に自家移植すると,根管内は血管と神経を伴う歯髄組織で再生されることを明らかにした(1)。しかしながら,フローサイトメトリーを用いることは安全性に問題があり,抗体法では高価で分取効率が低いという欠点がある。よって,血管新生能・神経誘導能に優れた CD105<sup>+</sup>細胞を多く含む歯髄幹細胞を分取できる新規幹細胞分取法を開発した。

次に,ヒト歯髄幹細胞のシミュレーションとして,イヌ歯髄幹細胞を GMP 準拠の細胞加工施設 (アイソレーター内)にて分取・増幅し,標準作業手順書を作成し,基礎データを蓄積した。すなわち,無菌試験・エンドトキシン試験などにより感染がないこと,および 50 代まで培養しても染色体異常・核型異常がないことを明らかにした。また,免疫不全マウスの精巣あるいは皮下に移植しても 16 週間後までがん化は認められなかった。

また,歯髄幹細胞の形質および特徴を明らかにするために,イヌあるいはブタの同一個体から同一の方法により歯髄,骨髄および脂肪幹細胞を分取

し,比較した。その結果,脂肪幹細胞は

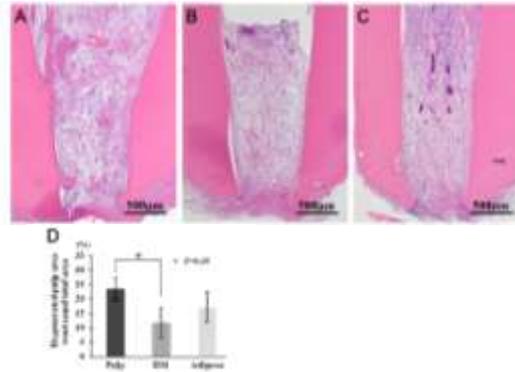


図 歯髄, 骨髄, 脂肪幹細胞移植による抜髄後根管内歯髄再生(14日後)  
A 歯髄 B 骨髄 C 脂肪  
D 再生量の統計学的解析

歯髄幹細胞移植と比べて,ほぼ同等量の再生歯髄組織がみられたが,骨髄幹細胞を移植すると,有意に少ない量の歯髄が再生された。脂肪幹細胞では,歯髄幹細胞移植に比べて,有意に基質形成がみられた。これらの再生組織の定量的および定性的蛋白質および mRNA 発現パターンは正常歯髄と類似しており,再生組織が歯髄であることが証明された(2)。移植細胞は多くの血管新生・神経栄養因子を発現しており,新生血管には直接分化しておらず,分泌効果が示唆された。よって,この新規の幹細胞移植療法は歯髄再生に有効であることが示された。

参考文献

1. Iohara K. et al., Tissue Eng. Part A. 17(15-16): 1911-1920, 2011.
2. Ishizaka R., et al.: Biomaterials. 33(7):2109-2118, 2012.

## 研究業績（口腔疾患研究部）H22 年度

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M:

Dental Pulp Derived CD31-/CD146- Side Population Stem/Progenitor Cells Enhance Recovery of Focal Cerebral Ischemia in Rats.

**Tissue Engineering** 17:1303-1311, 2011.

Kanno Y, Ishisaki A, Nakajima K, Nishihara T, Toyoshima T, Okada K, Ueshima S, Matsushita K, Matsuo O, Matsuno H:

Plasminogen/plasmin modulates bone metabolism by regulating the osteoblast and osteoclast function.

**J Biol Chem** 286:8952-8960, 2011.

Takeda Y, Tanigawa N, Sunghwa F, Ninomiya M, Hagiwara M, Matsushita K, Koketsu M:

Morroniside cinnamic acid conjugate as an anti-inflammatory agent.

**Bioorg Med Chem Lett** 20:4855-4857,2010.

Masuda K, Watarai N, Nakamoto R, Miyamoto Y, Kim K, Chiba T:

Study to prevent the density of microcapsules from diffusing in blood vessel by local acoustic radiation force.

**Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc** 1:402-405,2010.

Miyamoto Y, Teramoto N, Hayashi S, Enosawa S:

An improvement in the attaching capability of cryopreserved human hepatocytes by a proteinaceous high molecule, Sericin, in the serum-free solution.

**Cell Transplant** 19(6):701-706,2010.

Yukawa H, Noguchi H, Nakase I, Miyamoto Y, Oishi K, Hamajima N, Futaki S, Hayashi S:

Transduction of Cell-Penetrating Peptides into Induced Pluripotent Stem Cells.

**Cell Transplant** 19(6):901-909,2010.

Oishi K, Noguchi H, Yukawa H, Inoue M, Miyamoto Y, Iwata H, Hasegawa M, Hayashi S:

Efficient transfection of Sendai Virus Vector to Mouse Pancreatic Stem Cells in the Floating State.

**Cell Transplant** 19(6):893-900,2010.

Oishi K, Noguchi H, Saito H, Yukawa H, Miyamoto Y, Murase K, Hayashi S: Cell Labeling with a Novel Contrast Agent of Magnetic Resonance Imaging.

**Cell Transplant** 19(6):887-892,2010.

Yukawa H, Kagami Y, Watanabe M, Oishi K, Miyamoto Y, Okamoto Y, Tokeshi M, Kaji N, Noguchi H, Ono K, Sawada M, Baba Y, Hamajima N, Hayashi S:

Quantum dots labeling using octa-arginine peptides for imaging of adipose tissue-derived stem cells.

**Biomaterials** 31(14):4094-4103,2010.

Kawata K, Kubota S, Eguchi T, Moritani NH, Shimo T, Kondo S, Nishida T, Minagi S, Takigawa M:

Role of the low-density lipoprotein receptor-related protein-1 in regulation of chondrocyte differentiation.

**J Cell Physiol** 222:138-48,2010.

今井剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二 :

高齢者住民における保有歯数と認知機能

**愛院大歯誌** 48:59-66,2010.

今井剛、西永正典、松下健二 :

高齢者の残存歯数と認知機能との関連性

**鹿大医誌** 61(3) 47-51,2010.

渡辺将生、湯川博、鏡味幸真、加地範匡、宮本義孝、岡本行広、渡慶次学、林衆治、馬場嘉信:

量子ドットによる細胞移植後の幹細胞イメージング

ナノ学会会報 9(1):7-12,2010.

宮本義孝, 絵野沢伸, 竹内朋代, 竹澤俊明:

コラーゲンビトリゲル薄膜担体上で培養した初代肝細胞および ES 細胞の凍結保存

低温生物工学会誌 56(1):47-50,2010.

宮本義孝, 大石幸一, 湯川博, 野口洋文, 佐々木真宏, 岩田久, 林衆治:

ヒト脂肪組織由来幹細胞における細胞凍結保存液の検討

低温生物工学会誌 56(1):55-58,2010.

中島美砂子, 庵原耕一郎:

歯の健康維持・延命化をめざした歯科再生医療による新しい歯・歯髄炎治療法の開発.

小児歯科学雑誌 48(6):653-658,2010年12月25日

中島美砂子:

高齢者の歯の病態と歯再生医療. 高齢者の口腔機能とケア.

**Advances in Aging and Health Research 2009** 財団法人長寿科学振興財団 p 107-113,2010年3月

## 2. 総説

松下健二 :

口腔のアンチエイジングとリハビリテーション

**Monthly Book Medical Rehabilitation 124**: 127-134, 2010.

松下健二 :

血管障害を基盤とした歯周病と糖尿病の関連性

**肥満と糖尿病 9(5)**: 729-731, 2010.

松下健二 :

高齢化社会の中でインプラントをどう考えるか?

**歯界展望 116(5)**: 2010-2011, 2010.

松下健二 :

高齢者の口腔・歯科疾患と免疫能 高齢者の口腔機能とケア

**Advances in Aging and Health Research 2009** 財団法人長寿科学振興財団  
79-87, 2010.

Yamamoto Y, Tadokoro T, Hagiwara M :  
Endocytosis: Structural Components, Functions and Pathways, chapter 11 -  
RAB5 MEDIATED CAVEOLAE ENDOCYTOSIS  
**Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge New York, 2010**

中島美砂子、庵原耕一郎、杉山昌彦 :  
歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生  
**日本歯科評論 70** 135-138, 2010.

### 3. 著書、Chapters

Abiko Y, Sato T, Matsushita K, Sakashita R, Takahashi N:  
*Porphyromonas gingivalis* is widely distributed in subgingival plaque biofilm of  
elderly subjects  
Ed. Sasano T , Suzuki O in: **Interface Oral Health Science 2009** 3:240-242,  
2010.

Eguchi T, Satoshi Kubota S, Kawata K, Mukudai Y, Ueharam J, Ohgawara T,  
Ibaragi S, Sasaki A, Kuboki T, Takigawa M :  
Novel Transcriptional Regulation of CCN2/CTGF by Nuclear Translocation  
of MMP3, in CCN proteins in health and disease: An overview of the Fifth  
International Workshop on the CCN family of genes (Ed. Bernard Perbal)  
**Springer** 2010.

松下健二 :  
高齢者の口腔・歯科疾患と免疫能 高齢者の口腔機能とケア  
**Advances in Aging and Health Research 2009** 財団法人長寿科学振興財団  
79-87, 2010.

中島美砂子 :  
高齢者の歯の病態と歯再生医療 高齢者の口腔機能とケア  
**Advances in Aging and Health Research 2009** 財団法人長寿科学振興財  
団 107-113, 2010.

中島美砂子 :

歯髄再生療法の現状と未来

治癒の歯内療法 シリーズ MI に基づく歯科臨床 vo.2 月星光博・福西一浩著 ク  
インテッセンス出版株式会社 第 11 章:313-321 2010 年 11 月

#### 4. その他

Toshinori Komatsu:

2nd Prize of JSP General Poster Session in 96th Annual Meeting of  
American Academy of Periodontology. Nov 1, 2010, Honolulu, HI, USA.

#### 5. 新聞・報道,等

中島美砂子 :

「大手企業がようやく参戦 規制当局の対応が鍵」実用化進む再生医療  
日経バイオテク 取材日 2011/3/16 4-11 2011

#### 6. 特許申請、取得状況

発明者：中島美砂子、中村洋

発明の名称：薬剤、歯科材料、及びスクリーニング方法：歯髄及び/又は象牙質  
形成促進のための薬剤及びその利用

出願年月日：2008 年 4 月 7 日

出願番号：特願 2008-99814

特開:2009-249344

PCT 出願：2009 年 4 月 6 日

PCT JP2009-057410

2010 年 10 月 6 日 12/936474 (米国移行番号)

09730839.9 (欧州移行番号)

200980112243.1 (中国移行番号)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、石田敬雄

発明の名称：細胞分化装置、細胞分化方法、及び象牙芽細胞

出願年月日：2009 年 3 月 17 日

出願番号：特願 2009-065054

特開：2010 年 9 月 30 日

特開番号：2010-213631

PCT 出願：2010 年 4 月 12 日

PCT/JP2010/02652

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、石田敬雄

発明の名称：歯髄炎診断マーカー及び歯髄炎診断システム  
出願年月日：2009年3月17日  
出願番号：特願 2009-065111  
特開：2010年9月30日  
特開番号：2010-215572  
PCT出願：2010年4月12日  
PCT /JP2010/002653  
出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、石田敬雄  
発明の名称：歯髄炎診断マーカー及び歯髄炎診断システム  
出願年月日：2009年3月17日  
出願番号：2009-065111  
特開：2010年9月30日  
特開番号：2010-215572  
PCT出願：2010年4月12日  
出願番号：PCT/JP2010/002653  
出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎  
発明の名称：根管充填材及び歯組織再生方法  
出願年月日：2008年3月12日  
出願番号：特願 2008-63391（国内）  
PCT出願：2009年3月12日  
PCT JP 2009-055541(WO2009/113733)  
2010年9月13日 12/922097（米国移行番号）  
09718864.3（欧州移行番号）  
200980108613.4（中国移行番号）  
出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎  
発明の名称：非抜歯根管充填材及び非抜歯による歯組織再生方法  
出願番号：特願 2009-210441（出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団）  
出願年月日：2010年9月13日  
出願番号：PCT 2010-005536  
出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

## II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

中島美砂子 :

「スーパー特区を活用した歯科再生医療の推進」

平成 22 年度あいち健康長寿産業クラスター成果発表会 2011/3/18, 愛知

松下健二 :

老年期・衰退期を想定した歯科医学

医療と QOL 未来口腔医療研究センター講演会 2011/3/12, 名古屋

中島美砂子 :

シンポジウム「象牙質・歯髄再生による新しい蝕・歯髄炎治療法の実用化の現状と課題」

第 10 回日本再生医療学会総会 2011/3/2, 東京

中島美砂子 :

シンポジウム「歯髄幹細胞を用いた歯髄再生」

第 10 回日本再生医療学会総会 2011/3/1, 東京

Nakashima M :

Total Pulp Regeneration by Transplantation of Dental Pulp Stem Cells.

3<sup>rd</sup> International Workshop on Bio Dental Education & Research. Jan. 29, 2011, Hiroshima

Miyamoto Y, Koshidaka Y, Saito H, Kagami Y, Murase K, Kaji N, Yukawa H, Noguchi H, Iwata H, Ikeya T, Baba Y, Hayashi S:

Toxicity and functional assessment using polysaccharide-based magnetic iron oxide nanoparticles for cell labeling in cell array system. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010)

New Aspects of Chemical Glycobiology toward Development of new Diagnostics and Therapeutics Symposium, USA, 2010/12/15-20. Honolulu, Hawaii

Nakamoto R, Watarai N, Koda R, Masuda K, Kozuka T, Miyamoto Y, Chiba T:

Effect of the existence of red blood cell in trapping performance of microbubbles by acoustic radiation force.

The 31st Symposium on Ultrasonic Electronics (USE 2010), 2010/12/6-8, Tokyo, Japan,

中島美砂子 :

認定研修会「歯の健康維持・延命化をめざした歯科再生医療による新しい蝕・歯髄炎治療法の開発」

第 133 回日本歯科保存学会 2010 年度秋季学術大会 2010/10/28, 岐阜

Nakashima M :

Total regeneration of dental pulp by transplantation of dental pulp stem cells.  
8<sup>th</sup> IFEA-WORLD CONGRESS OF ENDODONTICS. Athens, Greece, Oct. 7, 2010

松下健二 :

オーラルヘルスプロモーションのこれから -口腔健康行動におけるコミュニティーチーム医療 -

日本健康心理学会 第 23 回大会シンポジウム 2010/9/11, 千葉

Miyamoto Y, Koshidaka Y, Saito H, Kagami Y, Murase K, Kaji N, Yukawa H, Noguchi H, Iwata H, Baba Y, Hayashi S:

Toxicity and functional assessment using polysaccharide-based magnetic iron oxide nanoparticles for cell labeling in vivo and in vitro. 240th ACS National Meeting & Exposition, Petite and Sweet: Glyconanotechnology as a Bridge to New Medicines Symposium, 2010/8/22-26, Boston, MA, USA

Nakashima M, Iohara K:

Pulp Stem Cells and Pulp Regeneration. Tissue Injury and Pulp Regeneration. July 19, 2010 Geneva, Switzerland

中島美砂子 :

特別企画 先端医療開発特区「歯髄幹細胞を用いた象牙質・歯髄再生による新しい蝕・歯髄炎治療法の開発」

第 64 回日本口腔科学会学術集会 2010/6/24, 札幌

宮本義孝 :

先端医療：移植・再生から人工臓器まで

名古屋大学・NHK文化センター提携 大河講座「ひとの大学」人の巻「われわれはどこへ行くのか」 2010/6/9, 名古屋

松下健二 :

NO と歯周病

第 3 回東京アンチエイジングアカデミー 2010/6/5, 東京

松下健二 :

血管を健康に保つアンチエイジングのすすめ -歯周病は血管病である-  
京都府歯科医師会上京支部「歯周病-糖尿病」連携研修会 2010/5/23, 京都市

松下健二 :

血管障害を基盤とした歯周病と糖尿病の関連性  
京都糖尿病医会・京都府歯科医師会合同講演会 2010/5/22, 京都市

中島美砂子 :

教育講演「歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生 新しい蝕・歯髄炎治療の  
実用化をめざして」  
第48回日本小児歯科学会大会 2010/5/20, 名古屋

松下健二 :

凝固第 Xa 因子の病態への関与とその制御 -基礎研究者の立場から-  
第3回 Bayer Thrombosis Seminar「血栓形成と凝固第 Xa 因子」2010/4/22,  
鹿児島

## 2. 国際学会発表

Nakashima M, Iohara K, Imabayashi K :

Complete Pulp Regeneration after pulpectomy by Transplantation of Pulp  
CD105+ Stem Cells with SDF-1. Stem Cells in Development, Tissue  
Homeostasis and Disease. 2011 KEYSTONE SYMPOSIA. Santa Fe, New  
Mexico, Feb. 1, 2011

Komatsu T, Nagano K, Sugiura S, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T,  
Yoshimura F, Furuichi Y, Matsushita K:

E-selectin mediates Porphyromonas gingivalis adherence to endothelial  
cells.

The 96th Annual Meeting of American Academy of Periodontology. Oct 31,  
2010, Honolulu, HI, USA.

Sugiura S, Ishihara Y, Komatsu T, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T,  
Mizutani H, Matsushita K, Noguchi T:

Valproic acid enhances innate immune response to LPS by HMGB1  
release.

The 96th Annual Meeting of American Academy of Periodontology. Oct 31, 2010, Honolulu, HI, USA.

Nakamura H, Eba H, Iohara K, Matsushita K, Nakata K, Nakashima M,  
MMP-3 accelerates dental pulp healing in partial pulpitis model in the dog.  
8th IFEA-WORLD CONGRESS OF ENDODONTICS. Oct. 7, 2010, Athens, Greece,

Takimoto K, Kawashima N, Nakashima M, Nakamura H, Koizumi Y, Suda H:  
Effects of MMP-3 on Inflammatory Mediator Synthesis from Macrophages.  
IADR 88th General Session and Exhibition 2010 July 14-17, 2010. Barcelona. Spain

### 3. 国内学会発表

Tanigawa N, Takeda Y, Sunghwa F, Ninomiya M, Hagiwara M, Koketsu M, Matsushita K :

Morrisonide derivative regulates E-selectin expression in human endothelial cells.

The 4th International Symposium for Interface Oral Health Science, Mar 7, 2011, Sendai, Miyagi, Japan.

辺見浩一, 川島伸之, 須田英明, 鈴木孝尚, 山下直也, 立花克郎, 中島美砂子 :  
「ナノバブルを併用した新しい根管洗浄法に関する基礎的研究」  
第3回超音波分子診断治療研究会 2011/3/5, 福岡

今林貴代美, 渡邊淳, 庵原耕一郎, 石坂亮, 中島美砂子 :  
「CD105 陽性幹細胞を用いた歯髄特異的タンパク質の検索」  
第10回日本歯科再生医療学会総会 2011/3/2, 東京

庵原耕一郎, 石坂亮, 杉山昌彦, 中島美砂子 :  
「ブタ歯髄・脂肪 CD31-SP 細胞の歯髄再生能の比較」  
第10回日本歯科再生医療学会総会 2011/3/2, 東京

Watanabe M, Yukawa H, Kagami Y, Kaji N, Okamoto Y, Miyamoto Y,  
Tokeshi M, Hayashi S, Baba Y :  
Quantum dots based imaging of adipose-derived stem cells for stem cell therapy.  
2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies  
(PACIFICHEM 2010) 2010/12/15-20. Honolulu, Hawaii, USA

萩原真, 小松寿明, 杉浦進介, 谷川順美, 加藤佳子, 松下健二 :

「Vinculin は細菌の細胞内侵入における Rab5 の活性化に関する」  
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会  
2010/12/7, 神戸

Kim K, Ishiyama A, Yamashita H, Miyamoto Y, Enosawa S, Chiba T :  
A new fluorescence endoscope for treatment of twin-twin transfusion  
syndrome.

The 6th The Asian Conference on Computer Aided Surgery (ACCAS):  
Medical image calibration, Bexco, 2010/11/26-27. Busan, Korea

Masuda K, Koda R, Watarai N, Nakamoto R, Miyamoto Y, Chiba T :  
Attempt for active control of microbubbles in blood flow by forming local  
acoustic field.

9th Congress of Asian Federation of Societies for Ultrasound in Medicine  
and Biology,(AFSUMB), 2010/11/18-21. Powai, Mumbai, India

杉浦進介, 石原裕一, 小松寿明, 萩原真, 谷川順美, 水谷大樹, 加藤佳子,  
江口傑徳, 野口俊英, 松下健二 :

バルプロ酸は HMGB1 の能動放出を誘導して、エンドトキシンショックに  
対する感受性を高める

第 16 回に本エンドトキシン・自然免疫研究会 2010/11/13、奈良

Yuan W, Kakimoto T, Kuno S, Miyamoto Y, Enosawa S, Mochizuki T,  
Masuda K, Matsumoto Y, Chiba T :

Fetal gene therapy: a combination of non-viral vector and  
ultrasound irradiation.

The 29th Annual International Fetal Medicine and Surgery (IFMSS 2010)  
Kanagawa, Japan, 2010/9/25-30.

高崎裕加, 渡辺将生, 湯川博, 梅村知也, 加地範匡, 岡本行広, 宮本義孝,  
野口洋文, 渡慶次学, 林衆治, 馬場嘉信 :

ICP-MS によるマウスに静注した量子ドット標識化脂肪組織由来幹細胞の  
体内動態の精密測定

日本分析化学会第 59 年会, 2010/9/15-17. 仙台

Masuda K, Watarai N, Nakamoto R, Miyamoto Y, Kim K, Chiba T :

Study to prevent the Density of Microcapsules from diffusing in Blood Vessel by Local Acoustic Radiation Force,  
32nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBS) 2010/8/31-2010/9/4. Buenos Aires, Argentina,

Miyamoto Y, Koshidaka Y, Yukawa H, Noguchi H, Chiba T, Oishi K, Iwata H, Kobayashi M, Kamo I, Sakuragawa N, Hayashi S :  
Effect of human solubilized-amnion product (HSAP) on adipose tissue-derived stem cell functions: Possible application of HSAP in fetal medicine.  
The 29th Annual International Fetal Medicine and Surgery (IFMSS 2010) 2010/9/25-30. Kanagawa, Japan,

Komatsu T, Nagano K, Sugiura S, Hagiwara M, Tanigawa N, Eguchi T, Yoshimura F, Furuichi Y and Matsushita K :  
E-selectin mediates Porphyromonas gingivalis adherence to endothelial cells.  
第8回血液・血管オルビス 2010/8/21 東京

Sugiura S, Ishihara Y, Komatsu T, Hagiwara M, Tanigawa N, Mizutani H, Eguchi T, Kawahara K, Maruyama I, Noguchi T and Matsushita K:  
Valproic acid enhanced innate immune response induced by LPS through stimulating active release of HMGB1.  
第8回血液・血管オルビス 2010/8/21 東京

宮本義孝, 腰高由美恵, 齋藤弘明, 鏡味幸真, 村瀬勝俊, 加地範匡, 湯川博, 野口洋文, 馬場嘉信, 林衆治 :  
MRI 造影用磁性ナノ粒子の開発と肝毒性評価. 第65回日本消化器外科学会総会, 2010/7/14-16. 下関

湯川博, 宮本義孝, 池内真志, 生田幸士, 林衆治 :  
3次元マイクロデバイスを用いた胚性幹細胞からの幹細胞分化誘導  
第65回日本消化器外科学会総会, 2010/7/14-16. 下関

Miyamoto Y, Ueno H, Hokari R, Yuan W, Kuno S, Kakimoto T, Enosawa S, Yoshinaka K, Matsumoto Y, Chiba T, Hayashi S :

Ultrasound -assisted gene transfer to adipose tissue-derived stem/progenitor cells (ASCs).

10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound (ISTU10), Tokyo Japan, 2010/6/9-12.

Kakimoto T, Gen B, Kuno S, Hoakri R, Tsuchiya R, Miyamoto Y, Enosawa S, Mochizuki T, Umezawa A, Masuda K, Matsumoto Y, Chiba T :

Minimally Invasive Fetal Gene Therapy Using Nonviral Vector by Ultrasound Irradiation.

10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound (ISTU10)  
2010/6/9-12 Tokyo Japan

Nakamoto R, Masuda K, Watarai N, Taguchi Y, Kato T, Yoshinaga T, Miyamoto Y, Chiba T :

Evaluation of local density enhancement of microcapsules in artificial blood vessel under emission of focused ultrasound.

10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound (ISTU10)  
2010/6/9-12 Tokyo Japan,

石坂 亮, 庵原耕一郎, 福田 理, 松下健二, 中村 洋, 中島美砂子 :

「ブタ歯髄・骨髄・脂肪 CD31<sup>+</sup>SP 細胞の血管新生能の比較」

第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 2010/6/5, 熊本

庵原耕一郎, 石坂 亮, 今林貴代美, 江場久哲, 松下健二, 中村 洋, 中島美砂子 :

「歯髄 CD105 陽性細胞を用いた抜髄後歯髄再生法の確立」

第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 2010/6/5, 熊本

今林貴代美, 庵原耕一郎, 石坂 亮, 江場久哲, 松下健二, 中村 洋, 中島美砂子 :

「歯髄幹細胞を用いた抜髄後歯髄再生のタンパク化学的解析による証明」

第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 2010/6/4, 熊本

江場久哲, 中島美砂子, 庵原耕一郎, 松下健二, 中田和彦, 中村 洋 :

「MMP-3 はイヌ一部性歯髓炎モデルにおいて歯髓治癒を促進する」

第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 熊本 2010/6/4, 熊本

宮本義孝, 腰高由美恵, 齋藤弘明, 鏡味幸真, 村瀬勝俊, 加地範匡, 湯川博, 野口洋文, 岩田久, 馬場嘉信, 林衆治 :

細胞標識用 MRI 造影剤の毒性評価

第 59 回高分子学会年次大会, 2010/5/26-28. 横浜

湯川博, 藤田理緒, 宮本義孝, 齋藤弘明, 村瀬勝俊, 野口洋文, 林衆治 :  
新規磁性粒子を用いた量子ドットの細胞内導入とダブルイメージングへの  
応用

第 5 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 2010/5/22-23. 大津

湯川博, 渡辺将生, 鏡味幸真, 宮本義孝, 加地範匡, 渡慶次学, 野口洋文,  
馬場嘉信, 林 衆治 :

幹細胞治療に対する量子ドットを用いた in vivo イメージング

第 5 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 2010/5/22-23. 大津

宮本義孝, 湯川博, 佐々木真宏, 野口洋文, 岩田久, 林衆治 :

絹タンパク質セリシンの肝冷保存における有用性の検討

日本組織培養学会第 83 回大会, 2010/5/20-21. 岡山

渡辺将生, 湯川博, 鏡味幸真, 加地範匡, 宮本義孝, 岡本行広, 渡慶次学,  
林衆治, 馬場嘉信

量子ドットによる細胞移植後の幹細胞イメージング

ナノ学会第 8 回大会, 2010/5/13-15. 岡崎

杉浦進介, 江口傑徳, 萩原真, 小松寿明, 谷川順美, 野口俊英, 松下健二 :  
バルプロ酸 (VPA) は ERK 1/2 の活性化を介して High Mobility Group Box  
1(HMGB1) の産生を誘導する

第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010/4/24, 鹿児島

Matsushita K, Morrell CN, Mason, EL O'Rourke B, Champion HC, and  
Lowenstein CJ:

Angiotensin II Activates Endothelial Exocytosis by Stimulating Superoxide  
Production

第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010/4/24, 鹿児島

宮本義孝, 湯川博, 大石幸一, 野口洋文, 林衆治 :

絹タンパク質セリシン用いた肝冷保存

第 110 回日本外科学会定期学術集会, 2010/4/8-10. 名古屋

#### 4. その他、セミナー等

中島美砂子 :

「スーパー特区を活用した歯科再生医療の推進」

平成 22 年度あいち健康長寿産業クラスター成果発表会 2011/3/18, 愛知

松下健二 :

メンブレントラフィックを基軸とした細菌感染機構の解明

九州大学歯学大学院施セミナー 2011/2/4, 福岡

松下健二 :

血管を基盤とした歯周病（歯周病関連細菌）と全身疾患の関連性

東北大学歯学部口腔微生物学分野特別講義 2011/1/17, 仙台

松下健二 :

血管を健康に保つアンチエイジングのすすめ

北海道大学歯学部口腔分子生化学教室特別講義 2010/12/16, 札幌

松下健二 :

健やかに老いるための歯科医療・医学の考え方

広島大学歯学部特別講義 2010/5/17, 広島

### III. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省

松下健二, (分担) 100 万円

長寿科学総合研究事業

介護予防の効果検証のための研究—長期コホート研究によるリスク評価と介入研究による検証

松下健二, (分担) 200 万円

再生医療実用化研究事業

歯科再生医療拠点を活用した次世代型歯周組織再生療法の開発

## 2. 文部科学省

松下健二, (代表) 520 万円

科学研究費補助金 基盤研究 (B)

エンドサイトーシス制御を基盤とした新しい感染制御法の開発

松下健二, (代表) 110 万円

科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究

機能性バイオナノ粒子を応用したエキソサイトーシス制御による歯周病治療の戦略

松下健二, (分担) 52 万円 (総額 1,729 万円)

科学研究費補助金 基盤研究 (B)

高齢者の口腔・摂食機能向上を促す地域支援ヘルスプロモーションモデルの構築

庵原耕一郎 (代表) 100 万円

科学研究費補助金 若手研究 (B).

幹細胞遊走因子による歯髄再生治療法の開発

今林 貴代美 (代表) 126 万円

科学研究費補助金 若手研究 (B).

歯髄幹細胞 特異的蛋白質の同定

中島美砂子 (代表) 195 万円 (総額 210 万円)

科学研究費補助金 基盤研究(B).

歯髄マーカーを用いた他組織幹細胞から歯髄幹細胞への形質転換の証明

中島美砂子 (分担) 100 万円

科学研究費補助金 基盤研究(B).

安定型マトリックスメタロプロテアーゼ3を用いた新しい歯髄炎治療薬の開発

中島美砂子 (分担) 30 万円

科学研究費補助金 基盤研究(C).

歯髄再生促進因子を用いた新しい歯髄炎治療薬の開発

### 3. 財団、その他

中島美砂子 (代表) 51,477,530 円

JST 科学技術振興調整費

歯延命化を目指す歯髄再生実用化の隘路解消

松下健二, (分担) (代表者一括計上)

戦略的基盤技術高度化支援事業

生体適合性材料（チタン合金）のマイクロフォーミングによる鍛流線で刃先を強化した医療用メスの開発

## 老化機構研究部

### (1) 構成員

部長 丸山 光生

室長

代謝研究室 杉本 昌隆 (～9月)

免疫研究室 直江 吉則

流動研究員

坂部 勇

飯島 順子

川岸 裕幸 (6～9月)

外来研究員

本多 三男 (12月～)

客員研究員

丸山 直記

研究生

津田 玲生 (～6月)

林 永美 (～6月)

山崎 泰豊 (～6月)

中村 英亮

武藤 俊亮

島田 貴志 (6月～)

研究参加

勝見 章

研究補助員・事務補助員

木村 広美

早川 朋子

菊池 エミ (6月～)

浅井 小百合

佐藤 裕美

小林 さやか

### (2) 平成22年度研究活動の概要

平成22年4月より独立行政法人化に伴い、生体機能研究室が姿を消し、今年度は部長グループを含めて2研究室3研究グループ体制で新たなスタート

を迎えた。しかしその後も9月末で代謝研究室が空席になるなど、部内の異動が多く、組織の変化とともに名実ともに新体制で加齢に伴って生ずる心身の変化の機構に着目した老化のメカニズムについて分子、細胞、組織、個体レベルでの研究を進めた。具体的に以下のような成果を示すことができた。①免疫老化関連遺伝子として同定している Zizimin2 遺伝子欠失マウスを用いて、加齢に伴う免疫力の低下により、高齢者において重篤化する症例が多いことが知られているインフルエンザウイルス感染における重篤化と加齢軸との関連を個体レベルで検討した。②免疫研究室では若齢、高齢マウスから得たT細胞のcDNAマイクロアレイを用い、ヘルパーT細胞分化におけるマスター転写因子である Th-POK 標的探索を行い、ヘルパーT細胞機能発現に必須でかつ加齢により遺伝子発現が変化する遺伝子の探索を行った。③代謝研究室では近年癌抑制機構との関わりが注目されている細胞老化関連タンパク質 ARF について p53 を介した細胞増殖停止だけでなく VEGFA の発現を抑制することにより非細胞自立的な増殖制御を行う可能性あること、ARF タンパク質は加齢と共に様々な組織で発現が亢進することから、加齢に伴う血管新生能の低下に ARF による VEGFA 抑制が関与している可能性が示した。

部長グループ：丸山光生、坂部 勇、飯島順子

○ 加齢に伴う免疫機能低下の分子機構の解明に関する研究

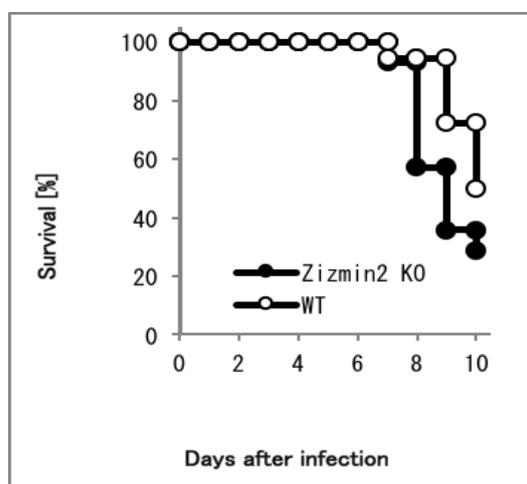
研究目的と背景

加齢・老化に伴って神経、内分泌系等他の生体機能系と同様に近年、獲得免疫系、自然免疫系に加えて、腸管免疫系（腸内フローラと自己免疫疾患、生活習慣病、感染症を含む各種疾患との関連性）が注目されており、健康高齢者においても日常生活の中で免疫能の低下を予防する手立てが提唱できれば、疾患療養中の高齢者も含めた、感染等に対するリスクの軽減を目指した免疫動態を客観的に評価し、その予防や賦活化に有効な方策を検討していくことを目的とする。

研究結果と考察

免疫老化関連遺伝子の1つであると同定した Zizimin2 (Ziz2) の免疫系に関する分子機構を明らかにするために、22年度は Ziz2 遺伝子欠失 (Ziz2KO) マウスを用いた Zizimin ファミリー遺伝子の機能的補完の可能性、T、B リンパ球の質や量的な変化、あるいは獲得免疫系における抗原刺激後の免疫グロブリン産生、サイトカイン産生等を中心に検討しはじめた。また高齢者において重篤化する症例が多いことが知られているインフルエンザウイルス感染における重篤化と加齢軸との関連についても検討した。実際には Ziz2KO マウスまたは野生型 (WT) マウスに、PBS で 1,000pfu/50ml に希釈したインフルエンザ A ウイルス (A/PR /8/34(H1N1))

をイソフルラン麻酔下で経鼻的に投与し、ウイルス感染後の体重変化及びマウス生存率を観察することで、インフルエンザウイルス感染後の症状の重篤化に対する Ziz2 の関与を検討・評価した。結果、WT マウス (18匹) と比較して、Ziz2KO マウス (14匹) の生存率の増悪化が観察された (図)。今後はウイルスの感染部位である肺組織におけるウイルス量、炎症性サイトカインの産生量の測定、並びに各種炎症細胞浸潤の程度を評価する事により、Ziz2KO マウスでの重篤化の原因について詳細な解析を進めていく必要がある。また、非致死量のウイルスを1度感染させた Ziz2KO マウスを用いて、ウイルス再感染時の免疫応答に対する Ziz2 の役割、特にメモリー細胞産生・機能解析を中心に、更なる検討を進めていくことも免疫系の老化と Ziz2 遺伝子の機能との関連を明らかにしていく



上では重要であると考えている。

代謝研究室：杉本昌隆、川岸裕幸、中村英亮

### ○ 細胞老化に関わるチェックポイントタンパク質の機能解析

ヒトを含む哺乳動物の殆どの体細胞は限られた分裂寿命を持ち、やがて細胞老化と呼ばれる恒久的な細胞増殖停止状態に陥る。細胞老化は生体において極めて重要な癌抑制機構として機能していることが知られていたが、近年ではさらに個体老化に伴う様々な組織の機能低下に関与することが指摘されている。

細胞老化は *INK4a/ARF* 遺伝子座にコードされる癌抑制タンパク質  $p16^{INK4a}$  および  $p19^{ARF}$  が重要な役割を果たしている。*ARF* タンパク質は別の癌抑制タンパク質 *p53* のユビキチン化を行う酵素 *Mdm2* に直接結合し、その活性を阻害することにより *p53* タンパク質を安定化する機能を持つ。*ARF* または *p53* 遺伝子を欠損したマウスの細胞は分裂寿命を持たず、またヒトにおいても不死化した癌細胞では *ARF* もしくは *p53* の何れかは必ず失活していることが知られている。さらに *ARF* タンパク質の機能は単純に *p53* だけに依存しないことが我々を含む複数のグループの解析により明らかになっている。

我々は以前に *ARF* タンパク質が mRNA の翻訳系に影響を与えることを報告した。我々はさらに *ARF* タンパク質によって影響を受ける mRNA を探索し、*VEGFA* mRNA が *ARF* タンパク質によって翻訳抑制されること

を見出した。この *ARF* タンパク質による翻訳抑制は *p53* 非存在下でも同様に観察されることから、*p53* 非依存的な *ARF* タンパク質の機能であることが明らかになった。*VEGFA* は腫瘍内の血管新生を誘導することにより腫瘍の発達を促進する機能を持ち、多くの固形腫瘍においてその発現が亢進していることが知られている。そこでマウスを用いて腫瘍移植実験を行ったところ、*ARF* タンパク質を発現させた腫瘍を移植したマウスでは、腫瘍内血管新生の著しい低下と共に腫瘍の発達に遅延が認められた。さらにヒト大腸癌においても、*ARF* タンパク質を発現している群では有意に腫瘍内の血管密度が低いことから、ヒトにおいても同様に *ARF* タンパク質が血管新生を抑制していることが考えられる。

以上、*ARF* タンパク質は *p53* を介した細胞増殖停止だけでなく *VEGFA* の発現を抑制することにより非細胞自立的な増殖制御を行う可能性が示唆された。老齢マウスでは *VEGF* の減少により血管新生の低下が認められるが、*ARF* タンパク質は加齢と共に様々な組織で発現が亢進することから、加齢に伴う血管新生能の低下に *ARF* による *VEGFA* 抑制が関与している可能性が考えられる。

参考文献

免疫研究室：直江吉則、

○ ヘルパーT細胞分化ならびに機能発現に関する研究

高齢者の肺炎による死亡の割合が高いのは高齢者の免疫が加齢に伴い低下し、インフルエンザ、緑膿菌および肺炎球菌等の感染症に対する抵抗力が減弱するためと考えられている。

免疫は大きく分けて自然免疫と獲得免疫に分けることができる。さらに獲得免疫は細胞性免疫ならびに液性免疫に分けることができ、細胞性免疫はヘルパーT細胞が細胞障害性T細胞、NK細胞、マクロファージや顆粒球細胞およびマクロファージを活性化し起きる免疫反応でウイルス感染細胞やがん細胞を除去する。一方、液性免疫はヘルパーT細胞がB細胞を活性化し、抗体が中心となる免疫系で細胞外の寄生虫を除去する。これらの免疫系が複雑に相互作用し生体内で病原体やがん細胞を認識、殺滅することにより生体を病気から保護する。しかしながら加齢に伴いこれら免疫系が大きく変化することから免疫力が低下すると考えられている。その変化として自然免疫および獲得免疫を担当するT細胞、B細胞、NK細胞、マクロファージや顆粒球等の細胞数ならびに増殖能が減少することが報告されている。これらは細胞増殖・老化として多くの研究者が研究を行っているテーマである。一方、末梢においてT細胞の総細胞数が加齢によって変化しな

いことも報告されている。このことは加齢に伴うT細胞の活性低下は、細胞数の減少によるものではなく、T細胞の機能そのものが低下していることを示唆し、実際にT細胞からのインターロイキン-2 (IL-2), IL-4 およびインターフェロン $\gamma$ 等のサイトカイン産生の低下、CD25 および CD44 活性化マーカーの発現低下ならびにヘルパー機能の加齢に伴う低下が報告されている。しかしながら、細胞増殖・老化研究と比べて、多くの成果が得られていないのが現状である。これは、T細胞機能がどのような機序によって発揮されるか詳細な分子メカニズムが明らかになっていないため、加齢に伴う免疫機能低下の機序解明を困難にしている。

そこで、我々は幼若ならびに高齢マウスから得たT細胞の遺伝子発現をcDNAマイクロアレイを用いて調べ、さらにヘルパーT細胞分化におけるマスター転写因子であるTh-POK標的探索を行い、ヘルパーT細胞機能発現に必須な遺伝子かつ加齢により遺伝子発現が変化する遺伝子の探索を行った。その結果、加齢に伴う免疫低下に関与する66個の候補遺伝子の絞り込みに成功し、それら遺伝子の機能はT細胞分化ならびに活性化、酸化酵素活性および細胞死に関与することが判明した。

## 研究業績（老化機構研究部）

### I.論文発表

#### 1.原著

Sakaguchi S, Hombauer M, Bilic I, Naoe Y, Schebesta A, Taniuchi I, Ellmeier W.  
The zinc-finger protein MAZR is part of the transcription factor network that controls the CD4 versus CD8 lineage fate of double-positive thymocytes.  
Nat Immunol. 11(5): 442-428. 2010

Jia Y, Asai A, Sakabe I, Maruyama M.

Rat monoclonal antibodies against new Guanine nucleotide exchange factor, mouse zizimin2.  
Hybridoma. 29(3): 205-209, 2010.

Ito T, Takii T, Maruyama M, Hayashi D, Wako T, Asai A, Horita Y, Taniguchi K, Yano I, Yamamoto S, Onozaki K.  
Effectiveness of BCG vaccination to aged mice. Immun Ageing. 7: 12-15, 2010

Kawagishi H, Nakamura H, Maruyama M, Mizutani S, Sugimoto K, Takagi M, Sugimoto M.

ARF suppresses tumor angiogenesis through translational control of VEGFA mRNA. Cancer Res.70, 4749-4758, 2010

#### 2.総説

川岸裕幸、丸山光生、高木正稔、杉本昌隆

癌抑制・細胞老化因子 ARF が引き起こす血管新生抑制及び疾患との関わり.  
基礎老化研究, 34(3);19-21,2010

#### 3.著書

坂部 勇、飯島順子、丸山光生：

完全版マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック「第6部 老化 32章 老化促進モデル」秋山徹・奥山隆平、河府和義編、羊土社、500-514、2010

#### 4.その他

なし

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

津田玲生

「細胞増殖と分化における G1 期制御」 The First Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate 浜松医科大学 多目的ホール 2010 年 5 月 14 日 浜松

杉本昌隆

Post-transcriptional regulation of the p53 pathway

第 33 回日本基礎老化学会 シンポジウム 2010 年 6 月 17 日 名古屋

津田玲生、山崎泰豊、林 永美

核内因子 Ebi によるポリコーン複合体の機能調節機構

第 43 回日本発生生物学会 シンポジウム (Hot topics) 2010 年 6 月 21 日 京都

Maruyama M

Struggling researches in molecular mechanism of Aging

2010 Japan-Korea Joint Research Project Symposium, Tokyo, June 21, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Asai A, Iijima J

Functional analysis of a novel GEF, Zizimin2/DOCK11, and its role of Immunosenescence, 10<sup>th</sup> Korea-Japan Gerontologist Joint Meeting, Daejeon, Korea, July 1, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Iijima J, Naoe Y

Molecular mechanisms of functional decline in the immunosenescence

Asian Aging Core for Longevity Research and Education 2010 Jeju Conference, Jeju, Korea, August 23, 2010

2. 国際学会発表

Sakaguchi S, Hombauer M, Bilic I, Naoe Y, Schebesta A, Taniuchi I, and

Ellmeier W. The zinc finger protein MAZR is part of the transcription factor network that regulates CD4/CD8 cell fate decision of DP thymocytes  
14<sup>th</sup> International Congress of Immunology. Kobe, Japan. August 25, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Asai A, Iijima J  
Characterization of a novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in Immunosenescence. Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Meeting, New York, USA, September 30, 2010

Nakamura H, Kawagishi H, Watanabe A, Maruyama M, Sugimoto M  
Post-transcriptional regulation of the p53 tumor suppressor, Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Meeting, New York, USA, September 30, 2010

Akatsu H, Nagafuchi S, Kurihara R, Okuda K, Takasugi S, Yamaji T, Takami M, Yamamoto T, Maruyama M  
Effects of an enteral nutrition containing prebiotics on influenza vaccination in the elderly. Clinical Nutrition Week 2011, American Society for Parenteral and Enteral Nutrition meeting, Vancouver, Canada, January 30, 2011

### 3. 国内学会発表

飯島順子、Yanjun J, 坂部 勇、浅井あづさ、丸山光生  
新規 GEF、Zizimin2/Dock11 の in vitro における機能解析と老化との関わりについて 第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

坂部 勇、飯島順子、直江吉則、丸山光生  
免疫老化関連因子 Zizimin2/Dock11 の in vivo における機能解析  
第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

赤津裕康、山本孝之、丸山光生  
経腸栄養管理高齢者へのプレバイオティクス介入のインフルエンザ抗体価に及ぼす影響 第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

### 津田玲生

加齢性難聴の発症メカニズム解析  
日本基礎老化学会第 33 回大会 ワークショップ 2010 年 6 月 17 日 名古屋

Iijima J, Sakabe I, Asai A, Maruyama M.

Functional analysis of novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in immunosenescence.

第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学大会合同大会 BMB2010  
2010 年 12 月 9 日 神戸

赤津裕康、永瀨真也、栗原リナ、奥田研爾、山地健人、高見正雄、山本孝之、丸山光生 経腸栄養成分が高齢者の獲得免疫／インフルエンザ抗体価に及ぼす影響 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月17日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、清水金忠、松山善次郎、栗原リナ、小川康一、奥田研爾、山本孝之、丸山光生 プロバイオティクスの経腸栄養管理高齢者への応用〜ビフィズス菌長期投与による生体防御改善 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月17日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、山本孝之、丸山光生

高齢経腸・静脈栄養管理患者における腸内菌叢及びインフルエンザ抗体価と栄養状態の検討 第 26 回日本静脈経腸栄養学会 2011 年 2 月 18 日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、遠山友紀子、丸山光生、山本孝之

高齢者経管栄養管理におけるフラクトオリゴ糖 (FOS) 介入による腸管環境改善の試み 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月18日 名古屋 国際会議場

#### 4. その他、セミナー等

丸山光生

「難病の克服に向けて」名古屋大学第 15 回鶴舞公開セミナー  
2010 年 4 月 23 日.名古屋

丸山光生

「B細胞応答と免疫記憶」平成 22 年度名古屋大学医学部講義「免疫と生体防御」  
名古屋大学医学部 2010 年 5 月 12 日.名古屋

丸山光生

「生体防御論」 至学館大学 食物栄養科 3 年講義 2010 年 6 月 11 日 大府

丸山光生

「老化と免疫」

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 2010年6月23日 札幌

丸山光生

「分子・細胞レベルにおける老化のしくみの解明をめざして」

分子総合医学専攻 老化基礎科学講座 平成23年度名古屋大学大学院医学系研究科修士課程入試説明会 2010年7月10日 名古屋

丸山光生

「老化と癌化の最新の話題 - 細胞老化関連遺伝子 TARSH の臨床応用と肺癌の臨床研究」 金沢医科大学病院 第29回がん診療連携拠点病院研究会  
2010年8月6日 金沢

丸山光生

「老化と免疫の研究の接点は??？」

ニチニチ製薬株式会社中央研究所 2010年8月10日 伊賀

丸山光生

「動物実験が教えてくれる老化と免疫のお話し」

日本実験動物協同組合研修会 2010年9月25日 東京

Maruyama M

Immunological regulation between aging and cell death

Virginia Commonwealth University, Virginia, USA, October 4, 2010

丸山光生

生体防御論 「老化と免疫」

藤女子大学 人間生活学部 食物栄養学科 第5限 2010年12月10日 石狩

Maruyama M

TARSH/Abi3bp, its putative role in tumor suppression or cellular senescence

Virginia Commonwealth University, Virginia, USA, January 27, 2011

Junko Iijima

Functional analysis of novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in

Immunosenescence 第3回 NAGOYA グローバルリトリート あいち健康プラ  
ザ 2011年2月25日、大府

### III. 公的研究費

#### 1. 文部科学省

杉本昌隆, (分担) 50万円

文部科学省科研費 基盤研究 (C)

毛細血管拡張性小脳失調症責任遺伝子 ATM による細胞分化制御機構の解析

杉本昌隆, (代表) 190万円 (総額 190万円)

文部科学省科研費 若手研究 (B)

脂肪細胞特異的 mRNA 翻訳制御機構の解明とインスリン感受性調節における  
役割

津田玲生, (代表) 360万円 (総額 720万円)

文部科学省科研費 特定領域研究.

細胞周期抑制因子による感覚細胞の生存維持機構

小川郁, (分担) 100万円

文部科学省科研費 基盤研究(B)

内耳の易受傷性と加齢変化に関する検討

#### 2. 財団、その他

丸山光生 (分担) 20万円

私立大学等経常費補助金「特別補助」対象事業

種を越えて保存された新規がん抑制遺伝子ファミリー FAM107 分子の包括  
的探索

直江吉則 (代表) 300万円 (総額 300万円)

公益財団法人 内藤記念科学振興財団

ヘルパーT細胞分化過程における選択的スプライシング発現機序の解析

## 老化制御研究部

### (1) 構成員

部長 今井 剛

#### 室長

分子制御研究室 福井由宇子  
遺伝子治療研究室 中西 章

#### 流動研究員

丹下 正一郎

#### 外来研究員

前川 尚也

#### 研究生

伊崎 美加  
深山 優子

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

**要約；実験研究成果も出始めた。査読付き学術論文 7 報。**

前年度に行ったセットアップもほぼ終了し、通常に研究活動ができるようになった。また、必要な機器は存在するが、一応実験が行えるようになった。また、研究所 4 階の老化制御研究部実験室以外の実験場所として共通実験施設が本研究所には存在する。即ち、放射線実験施設や実験動物施設等で

ある。感染実験室も含めて、種々の申請等の業務をこなし、これら共通実験も滞りなく行えるようになった。

また、機関内共同研究や、機関外共同研究も徐々にはじまった。

機関内共同研究としては、独自性の高い、ナノテクノロジーを用いて精製した、種々のタンパク質を「共同利用推進室 渡辺淳室長」との共同研究により同タンパク質の同定を行ったことがあげられる。

機関外共同研究としては東京工業大学小林教授との共同研究で、世界的に合成が難しいといわれるプロスタグランジン誘導体の合成を行っていたき、その解析を行っている。さらには、部長が東京工業大学の特任教授公募に応募し、採用が決まったことである。平成 22 年度も東京工業大学特任教授として東京工業大学においても研究・教育等を行うことになった。

また、研究テーマはとして

- ①新規骨代謝制御シグナル
- ②女性ホルモンの新規作用
- ③人工ウイルスベクター

この 3 種の研究に関して成果が得られた。詳しい内容は後述する。

今井グループ: 福井由宇子、前川尚也、伊崎美加、深山優子、今井剛

## 新規骨代謝制御シグナルに関する研究

**要約**; 寝たきりの最も多い要因である骨粗鬆症の新規予防・治療法の開発につながる基盤研究が進んでいる。内在性ホルモンである PGJ2 の新規標的因子の精製・同定に成功した。

はじめに; 加齢に伴う疾患で、なおかつ介護が必要な寝たきりの主な要因であるものは骨粗鬆症である。

よって、骨粗鬆症の予防・治療法の開発は極めて重要である。

足腰がしっかりしていれば、実際の年齢よりも若返ることも可能で、老化も制御できるであろう。

よって、国立長寿医療研究センター老化制御研究部としては、全てに満足のいくテーマであると考えている。

東京工業大学小林教授が合成した PGJ2 誘導体を用いて、種々の解析を行った。ちなみに、PGJ2 は標的細胞において、転写因子核内受容体 PPAR- $\gamma$  に結合して、転写を制御すると考えられている。PPAR- $\gamma$  作動薬コントロールとして Rosiglitazone を用いた。Rosiglitazone は高い親和性型 PPAR- $\gamma$  アゴニストとして知られており、抗糖尿病薬である。TZD 骨格化合物の一つである。他のものは武田薬品工業の Pioglitazone (商品名アクトス) 等が知られている。

骨芽細胞株 MC3T3-E1 に PPRE-luciferase vector をトランスフェクションし、Rosiglitazone、PGJ2 誘導体を加えたところ、全ての化合物において PPRE 依存的転写量の増大が見られた。PGJ2 誘導体に関してはその増大量の最も大きい物は内因性 15d-PGJ2 であり、最も小さい物を PGJ2-4 と命名した。

次に、PGJ2s を骨芽細胞株 MC3T3-E1 に投与して、アポトーシスの活性を調べた。その結果、15d-PGJ2 にくらべて、前述の PGJ2-4 は極めて細胞死が少なかった。そこで、アポトーシスのトリガーであるミトコンドリアについての解析を行った。まず、骨芽細胞株に PGJ2s を投与して、ローダミン 123 の取り込みをみた。ローダミン 123 はミトコンドリアのマーカーとして知られているもので、とくにミトコンドリア膜状のイオンチャンネルの活性を見ていると考えられている。

通常は FACS 等を用いて解析を行うが、MC3T3-E1 細胞は浮遊細胞ではなく、接着細胞のため、接着した状態での解析が好ましいため、蛍光顕微鏡をもちいて解析を行った。その結果、15d-PGJ2 も PGJ2-4 も共にコントロールに比べて、ローダミン 123 の取り込みが減った。

福井グループ: 福井由宇子、前川尚也、伊崎美加、深山優子、今井剛

## 女性ホルモンの新規作用に関する研究

**要約**; 寝たきりの主な要因である骨粗鬆症の多くは女性ホルモン欠損（主には閉経による）ことは明らかである。女性ホルモン受容体は2種類知られているが、メインと考えられているER- $\alpha$ の遺伝子改変マウスを作製・解析を行っている。

**背景**; 加齢に伴う疾患で骨粗鬆症は患者数、その後（とくに寝たきりへの移行）が悪い疾患である。

地域高齢者および当センターの患者の疫学的研究より高齢者（とくに後期高齢者）において、脂肪の量と骨密度が極めて密接に関係していることが判明した。

そのため、脂肪・骨を共に制御する因子の存在が示唆された。一つは前述のPGJ2であり、もう一つは女性ホルモンである。

**結果**; まずは、女性ホルモン受容体ER- $\alpha$ の脂肪細胞における機能解析を行った。

成熟脂肪細胞にてER- $\alpha$ をノックアウトしたマウスを作製した。同マウスは脂肪萎縮症であった。よって、女性ホルモン-ER- $\alpha$ シグナルはアディポジェニック（脂肪分化促進）であることが判明した。平行して、いわゆるER- $\alpha$ のノックアウトマウスを解析したところ、極めて興味深い結果が得られた。

脂肪のみにてER- $\alpha$ を欠損すると脂肪萎縮症で、脂肪以外にもER- $\alpha$ を欠損すると、肥満（脂肪肥大）になった。即ち、正反対の結果である。解釈すれば、脂肪細胞自身のER- $\alpha$ はアディポジェニックであるが、脂肪以外のER- $\alpha$ は、例えば視床下部のER- $\alpha$ 等、何かの内分泌的な因子の発現を介して反アディポジェニックであることが推測された。即ち細胞特異的なER- $\alpha$ の機能である。少なくとも脂肪細胞においてER- $\alpha$ は正の制御因子であることが判明した。

このことは、培養脂肪細胞において試験管内脂肪分化をさせる時に、フェノールレッドを抜いた培地で行うと、脂肪分化が抑制される。フェノールレッドは女性ホルモン様の働きがあるため、試験管内においても女性ホルモンは脂肪分化因子である可能性がある。

次に、成熟脂肪細胞特異的にER- $\alpha$ を強制発現するマウスを作製している。これは前述の強制発現とは正反対になくす物である。成熟脂肪細胞ノックアウトマウスの時と同様に脂肪細胞特異的発現が期待されるaP2遺伝子のプロモーターを用いた。そのプロモーターの下流にラビット $\beta$ グロビン遺伝子のスプライスサイト、ER- $\alpha$  cDNA、SV40 ウイルスのポリAサイトを挿入した発現ベクターを作成している。

中西グループ：中西章、丹下正一郎

## 人工ウイルスベクターに関する研究

**要約**；アルツハイマー病に対する経口ワクチン担体として腸管ウイルスを利用した各種ベクターの検討を行った。腸管ウイルスの一つであるアストロウイルスを用い、ウイルスベクター作成の基盤となる新規のリバースジェネティックス系を開発した。また、ノロウイルス人工粒子作成のための再構成系構築に着手し、より高い効果が期待できる経口ワクチンの作成をめざす。

**はじめに**；アルツハイマー病に対する免疫療法の一つとして、 $A\beta$  を腸管に発現させ粘膜免疫を誘起することにより、脳内アミロイド沈着の軽減、そして認知症病理の軽減が報告されている。われわれは、この療法効果を確認しかつより効果的なものとすべく、従来の経口ワクチン担体より高率な  $A\beta$  導入が期待できる腸管ウイルスをベースにした経口用導入ベクターの開発に取り組んでいる。

**結果**；アストロウイルスは、乳幼児に感染性胃腸炎をおこす腸管ウイルスである。このウイルスは比較的単純な遺伝子構造を持ち、ベクター化は難しくないと考えた。このウイルスの組換え体を作成するために、リバースジェネティックス系の作成をまず行った。GAPDH, HBVX, CAG プロモーターを利用

したプラスミドベースの発現系を作成して、組換えアストロウイルスの生成に成功した。

また、ヒトに対する非常に高い感染性で知られるノロウイルスをベクター化する研究も同時並行で進めた。ノロウイルス粒子は外殻タンパク質 VP1、内部タンパク質 VP2 及び Vpg、そしてゲノム RNA から構成されている。各コンポーネントの大量合成・精製を行い、試験管内で再構成することにより粒子を作成する条件検討を行った。再構成時の液量、各種コンポーネントの濃度、塩濃度、pH、各種バッファーを調べ、最も高率な粒子形成条件を検討した。

(以上国立感染症研究所ウイルス第二部片山和彦室長との共同研究)。

**今後**

ノロウイルス人工粒子作成については、条件検討を重ねてよりウイルス粒子に近い遺伝子導入性をもつ粒子の試験管内作成を試みる。アストロウイルスについては、感染性粒子生成の条件検討を進めつつ、そのアプローチを徐々にノロウイルスベクター作成に移行させ、ワクチン用担体として腸管ウイルスベクターの有効性の検証を行っていく。

## I 論文発表

### 1 原著

高齢者住民における保有歯数と認知機能

Association with the lipid and sugar metabolism parameters, the number of teeth and cognitive function in elderly population.

今井剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二

愛知学院大学歯学会誌 第48巻59-66ページ2010年

Hiramoto M, Maekawa N, Masaike Y, Kuge T, Ayabe F, Watanabe A, Masaike Y, Hatakeyama M, Handa H & Imai T\*.

High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads.

**Biomed Chromatogr** 24:606-612, 2010.

高齢者の残存歯数と認知機能との関連性

今井剛、西永正典、松下健二

鹿児島大学医学雑誌 第61巻47-51ページ2010年

Kusaka M, Katoh-Fukui Y, Ogawa H, Miyabayashi K, Baba T, Shima Y, Sugiyama N, Sugimoto Y, Okuno Y, Kodama R, Iizuka-Kogo A, Senda T, Sasaoka T, Kitamura K, Aizawa S, Morohashi KI.

Abnormal Epithelial Cell Polarity and Ectopic Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Expression Induced in Emx2 KO Embryonic Gonads.

**Endocrinology** 151:5893-5904, 2010.

Yokoyama C, Katoh-Fukui Y, Morohashi K, Konno D, Azuma M, Tachibana T.

Production and characterization of monoclonal antibodies to mouse germ cells.

**Hybridoma** 29:53-57, 2010.

Mizutani T, Sayama Y, Nakanishi A, Ochiai H, Sakai K, Wakabayashi K, Tanaka N, Miura E, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Ono S.

Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*

**Virology** 412:179-87, 2011.

Tange S, Imai T, Nakanishi A.

An SV40 mutant defective in Vp4 expression exhibit a temperature sensitive growth defect.

**Virus Research** 157: 116-120, 2011.

## 2 総説

該当なし

## 3 著書、Chapters

今井 剛

皮膚の創傷治癒促進および老化防止機構の解明とその応用

中富健康科学、21、65-66、2010

## 4 その他、新聞・報道等

該当なし

## 5 特許申請、取得状況

該当なし

## 1 学会・研究会等発表

前川尚也、伊崎美加、池田麻里衣、福井由宇子、川井絢也、稲富 聡、今井 剛

キノコ類におけるアルギニン誘導性インスリン分泌促進活性

日本きのこ学会第14回大会、2010年9月16日、東京

Minor capsid proteins of polyomavirus influence the cell tropism of the virus.

Nakanishi,A.

DNA tumour virus meeting (2010) July 15, Madison, USA

Association of Large T Antigen and Cellular Proteins to SV40 Vp1 During its Folding

Watanabe, M., Phamduong, E., Itoh, N., Nakanishi, A., Kasamatsu, H.

DNA tumour virus meeting (2010) July 16, Madison, USA

アストロウイルスリバーシジェネティック系の改良

丹下正一郎、Benoit Chapellier、左近田中直美、中西章

日本ウイルス学会 第58回 (2010) 11月8日 徳島

ヒトポリオーマウイルスの糖脂質結合解析とメルケル細胞ポリオーマウイルス  
感染細胞系の樹立

松田 麻未, 李 天成, 中西 章, 片野 晴隆, 中村 智之, 鈴木 亮介, 畑中 研一,  
脇田 隆字, 鈴木 哲朗

日本分子生物学会 第33回 (2010) 12月9日 神戸

## II 公的研究費

### 1 厚生労働省

今井 剛 (分担) 600 万円

厚生労働省科学研究費補助金 創薬推進基盤研究事業

中西 章 (分担) 350 万円

厚生労働省科学研究費 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

### 2 文部科学省

福井由宇子 (主任 170 万円)

文部科学省 基盤研究 (C)核内膜構造とクロマチン・

## 生活機能賦活研究部

### (1) 構成員

部長 大川弥生

室長

運動機能賦活研究室 大金朱音

自立能力開発研究室 大川弥生

特任研究員

工藤 美奈子

客員研究員

木村 伸也

研究生

関口 春美

中村 茂美

佐藤 浩二

佐藤 友美

梅野 裕昭

森 淳一

内藤 寿子

研究補助員・事務補助員

竹内 富久恵

藤井 明美

服部 典子

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

本研究部は、高齢者の生活機能向上に係る調査・研究を行うことを目的としている。

「生活機能」とは、人が生きることがを総合的にとらえる概念で、「心身機能」・「活動」・「参加」（生物・個人・社会）の3つのレベルから成る。

これは ICD-10（国際疾病分類）とともに WHO-FIC（WHO 国際分類ファミリー）の中心分類をなす ICF（国際生活機能分類：International

Classification of Functioning, Disability and Health, WHO, 2001) によって確立された概念である。

高齢者においては、何らかの生活機能低下を呈する 경우가多く、これは今後高齢者医療・介護・保健においてますます重要視されるべきものである。

具体的な研究としては、生活機能向上を達成するためのシステム・プログラム・個別技術を確立していくために、具体的目標としては①生活機能アセスメント法の確立、②高齢者の生活機能の実態及び動態の把握、③生活機能向上・低下予防システム・プログラムの開発、④災害時の生活機能低下予防システム・プログラムの明確化、⑤生活不活発病（廃用症候群）対策づくりである。

なお災害に関しては、災害という「環境因子」自体が直接生活機能に影響を与える典型例であるとともに、介護予防必要例の同時多発時と位置づけて研究をすすめてきた。本年度から中央防災会議に、新潟県中越地震（2004年）以来の地震災害の教訓や対応をふまえて、地震防災のあり方を検討する専門調査会が設置された。これまでの研究成果をその検討の基礎資料として提出している。それとともに、今年度末（2011年3月11日）に東日本大震災が発生したため、これまでの研究成果を生かした情報提供ならびに現地支援を開始した。

## 部長研究グループ：大川弥生、工藤美奈子、中村茂美、関口春美、 災害時支援のあり方

### 1. 災害時支援のあり方について

新潟県中越地震（2004年）以来の災害時に実施してきた ICF（国際生活機能分類、WHO、2001）にもとづく生活機能実態調査や支援内容についての検討（災害や支援内容は、ICF での「環境因子」）をもとにして、災害時医療・支援の今後の課題として次の3点を明確にし、その解決に向けた具体的な支援のあり方を検討した。

1) 「防げたはずの生活機能低下」：阪神淡路大震災以来災害医療・支援で重視されてきた「防げたはずの死亡（preventable death）」の予防に加えて、今後「防げたはずの生活機能低下（preventable disability）」予防を、新しい課題として位置づける必要がある。

2) 特別な配慮が必要な人：従来の「要援護者」対策にとどまらず、「特別な配慮が必要な人」としてとらえることが必要である。その具体像を「健康状態」と「生活機能」の両面から規定した。

3) 補完的支援だけでなく「自立」にむけた支援：「活動」レベルの補完だけでなく、特に「参加」レベルの自立にむけた支援が重要である。

### 2. 東日本大震災での支援活動

本年度末（3月11日）に東日本大震災が発生したことから、現地支援活動を自治体と協力して開始するとともに、これまでの災害時での経験・研究

成果をもふまえて現地支援・情報提供を開始した。

### 3. 高齢障害者の生活機能向上支援

今年度は高齢障害者支援のシステム及びプログラムを明らかにすることに重点をおいて、以下を進めた。

1) 広範囲の機能障害をもつ全年齢層の障害児・者（4919名）についての ICF に基づく実態調査結果の分析：国連障害者権利条約のいう「障害のある人に関する『固定観念』の打破」と関連深い、障害者自身の社会への貢献を含め、障害者の「参加」の意味についての認識が深まり、本人のみでなく家族などの第三者の生活機能の重要性、現在の機能障害名を主体とした障害把握の問題点など、支援内容に生かすべき内容が多数明らかになった。

2) 障害者支援のあり方に関する国際的動向（国連および WHO の過去約 50 年間の報告書、宣言、勧告、条約等）の分析をおこなった。

3) 上記の結果を一般啓発するリーフレット作製と、それに対する意見聴取。

4) 以上の結果にもとづいて、高齢の障害者への支援の内容に関する検討を行い、「障害者への支援内容の再構築のためのポイント」と「生活上の適切な配慮・支援が必要な状態」の2つにまとめた。その結果、高齢障害者のみでなく生活機能低下者全般の支援についての基本的な課題と方向性を明らかにすることができた。

## 運動機能賦活研究室：研究員氏名 大金 朱音

### 介護予防に資する高齢者向けレジスタンストレーニング法に関する研究

本研究室では、高齢者の運動機能の賦活についての調査研究を行っている。

高齢者が自立した日常生活を維持するためには、日常生活動作の遂行に必要な筋量・筋力を維持することが必要条件である。加齢と生活習慣の影響により、高齢者の筋量・筋力は低下している (Evans et al. 1993)。サルコペニア防止に最も有効と現在考えられている処方法はレジスタンストレーニング (以下 RT: resistance training) であり (Borst 2004)、介護予防の観点から、高齢者が筋量・筋力増大を目的とした RT を行うことが盛んである。

しかし、整形外科的問題や循環器的問題に対するリスク (Häkkinen et al. 2002) を避けるため、低強度 (最大挙上重量の 50% 以下) で行われることが一般的である。一方でシステマティック・レビューによると、筋肥大・筋力増強効果が最も高い負荷強度は最大挙上重量の 80% (80% 1RM) であり、65% 1RM 以下では筋肥大効果はないとされ (Fleck et al. 1987)、一般に実施されている RT では効果を期待できないことが分かる。

最近、30% 1RM 程度の低負荷強度でも筋肥大・筋力増強効果が得られる加圧トレーニングの効果が報告さ

れているが (Takarada et al. 2000)、このような特別な器具 (加圧バンド) を用いたトレーニングは、汎用性に問題がある。そこで筋肥大・筋力増強効果が高く、かつ高齢者が安全に行えて、汎用性の高い RT の開発が望まれる。

最近、動作様式を工夫することで、低負荷強度の RT でも、筋肥大・筋力増強が生じること、そしてその実施時の一過性の生理応答が報告された (Tanimoto et al. 2005, 2006)。この手法筋発揮張力維持法 (以下 LST、Low-intensity resistance training with slow movement and tonic force generation) は、従来型の低負荷強度の RT よりも、安全でかつ効果的に筋量・筋力を改善できる、高齢者向きの RT である期待がもたれる。

しかしこの LST の運動効果は、健康若齢男性でのみ確認されている。健康高齢者を対象とした LST の運動効果、安全性の検証はなされていない。

そこで、本研究室では、運動習慣の有る前期高齢者男女において、LST を実施した時の運動効果や安全性を確認し、その成果を公表した。

## 研究業績（生活機能賦活研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

大川弥生：「真のニーズ」の把握における生活機能モデル準拠の有効性－「1対1」の場面（対人サービス）と「一対多」の場面（機器開発）との区別と連関を考えつつ.

国民生活研究, 50 (2) : 63-90, 2010.

#### 2. 総説

大川弥生：

「している活動」の重要性；総合リハビリテーションにおける「よくする介護」の意義.

リハビリテーション研究, 144 : 38-42, 2010.

大川弥生：

生活機能向上に向けたロボット研究・開発のストラテジー：QOL向上の具体化技術の開発のために.

日本ロボット学会誌, 28 (9) : 1066-1070, 2010.

大川弥生：

生活機能低下・向上の機序を「共通言語」に；「災害」への取り組みに学ぶ総合リハビリテーションの新しい方向性.

リハビリテーション研究, 145 : 38-42, 2010.

大川弥生：

ICFの活用：「生きることの全体像」についての「共通言語」として.

厚生の指標, 58 (1) : 27-31, 2011.

大川弥生：

第33回総合リハビリテーション研究大会の基本的な考え方；総合リハビリテーションの新生をめざして.

リハビリテーション研究, 146 : 2-4, 2011.

大川弥生：

総合リハビリテーションの視点から災害を考える.

リハビリテーション研究, 146 : 19-21, 2011.

大川弥生：

教育と当事者参加.

リハビリテーション研究, 146 : 38-42, 2011.

#### 5. 新聞・報道等

大川弥生：

NHK総合テレビ, 平成22年12月7日 NHKニュース 大規模障害者調査

大川弥生：

NHK総合テレビ 時論公論 平成23年3月21日 東北関東大震災 更なる犠牲を防ぐ

大川弥生：

NHK総合テレビ 視点論点 平成23年3月23日 高齢や障害のある被災者への接し方；生活不活発病を防ごう

大川弥生：

NHK総合テレビ おはよう日本 平成23年3月31日 高齢者の“生活不活発病”に注意

大川弥生：

NHKラジオ第一, 平成22年12月7日 私も一言！夕方ニュース 外出しない障害者～心のバリアフリーをどう進めるか？～

大川弥生：

NHKラジオ第一, 平成22年12月8日 ラジオ深夜便：ニュース 大規模障害者調査

大川弥生：

キャリアブレイン, 平成22年9月3日 当事者中心のリハのあり方を模索ー総合リハ研究大会

大川弥生：

キャリアブレイン, 平成23年1月25日 共通言語としてのICFのあり方を議論

大川弥生：

朝日新聞，平成 23 年 3 月 13 日（朝刊） 避難生活 疲労に気配りを

大川弥生：

産経新聞 平成 23 年 3 月 25 日 東日本大震災：被災地で身体機能低下や認知症悪化も

## Ⅱ. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム・特別講演

大川弥生

総合リハビリテーションの新生をめざして.

第 33 回総合リハビリテーション研究大会，9 月 3 日，東京

大川弥生

総合リハビリテーションの視点から災害を考える.

第 33 回総合リハビリテーション研究大会，9 月 4 日，東京.

大川弥生

特別支援教育における ICF 活用の前提.

日本特殊教育学会第 48 回大会，9 月 18 日，長崎.

大川弥生

ICF：人の“生活機能”をみるための共通言語；支援機器研究・開発のストラテジー確立のために.

第 11 回計測自動制御学会システムインテグレーション部門，12 月 23 日，仙台.

大川弥生

ICF の基礎から活用まで：大規模障害者調査を例にとって.

厚生労働省 ICF シンポジウム 生活機能分類の活用に向けて，1 月 22 日，東京.

大川弥生

災害医療の新たなターゲット：「生活機能」の観点から.

第 16 回日本集団災害医学会総会，2 月 11 日，大阪.

大川弥生

ICF：人の「生活と健康」の見方・とらえ方の技術；「生きることの全体像」

についての「共通言語」。デジタルヒューマン・シンポジウム 2011, 3 月 3 日, 東京.

## 2. 国際学会発表

Okawa Y, Ueda S, Fujii K, Shuto K:

Japan's Provisional Criteria for the Qualifiers of the Activity: The reconfirmation of validity and a further refinement based on a large-scale survey of people with disabilities.

WHO-FIC Network Meeting, 18 October, Toronto, Canada.

Okawa Y, Sekiguchi H, Ueda S, Fujii K:

Impairment Revisited: Multiplicity of impairments in a person, fatigability (b4552), and the great fluctuation of impairment.

WHO-FIC Network Meeting, 18 October, Toronto, Canada.

Ueda S, Okawa Y, Kudo M, Fujii K:

The importance of satisfaction (subjective dimension) for a deeper understanding of the activity and participation as revealed by a large-scale survey of people with disabilities.

WHO-FIC Network Meeting, 18 October, Toronto, Canada.

Matsumoto Y, Nishida Y, Motomura Y, and Okawa Y:

Towards Standardization of Design and Evaluation Process for Assistive Service Robots Based on ICF.

IEEE/RSJ Int. Conf. on Intelligent Robots and Systems 2010, 19 October Taipei Taiwan

Ohgane A, Watanabe Y, Tanimoto M, Ishii N:

Safety assessment of low-intensity resistance exercise with slow movement and tonic force generation for old women.

CoLONGY, 26 June, Barcelona, Spain.

Ohgane A, Watanabe Y, Tanimoto M, Ishii N:

The safety assessment of low-intensity resistance exercise with slow movement and tonic force generation in healthy older men.

EGREPA 2010 Conference: Seniors in the 21st century?, 23 September, Prague, Czech Republic

### 3. 国内学会発表

大川弥生, 工藤美奈子, 関口春美

災害医療教育における生活機能重視の必要性；特に高齢化をふまえて。  
第16回日本集団災害医学会総会，2月12日，大阪。

工藤美奈子, 関口春美, 大川弥生

災害時生活機能低下予防対策に関する研究（1）；障害児・者の災害時についての不安調査から。

第16回 日本集団災害医学会総会，2月12日，大阪。

工藤美奈子, 大川弥生, 関口春美

災害時生活機能低下予防対策に関する研究（2）；避難所生活での対策。  
第16回日本集団災害医学会総会，2月12日，大阪

### 4. その他, セミナー等

大川弥生

ICFの基礎的理解。

文部科学省介護福祉等に係る講習会，8月17日：京都，8月19日：名古屋，  
8月23日：熊本，8月26日：東京

大川弥生

ICF（WHO 国際生活機能分類）の理解と活用。

日本障害者リハビリテーション協会ICF研修会，9月3日，東京。

大川弥生

新しいリハビリテーションを語る。

日本障害者リハビリテーション協会市民講座，9月4日，東京。

大川弥生

ICF(国際生活機能分類)に立った障害児・者実態調査で見えてきたこと；「ICFに基づく障害児・者の生活機能の実態調査」の結果から。

内閣府障害者週間連続セミナー，12月7日，東京。

大川弥生

「連携のツールとしてのICFの活用」。

総合リハビリテーション研究大会関連セミナー，3月11日，東京。

### Ⅲ. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省

大川弥生（代表）1,400万円（総額 1,400万円）

障害者対策総合 研究事業

高齢の障害者への支援の在り方に関する研究

大川弥生（分担）主任研究者一括計上

地域健康危機管理研究事業

ICFを用いた健康危機管理対策に関する研究：真の「被災者中心」の健康  
危機管理のツールとして

#### 2. 文部科学省

なし

#### 3. 財団, その他

なし

## 長寿医療工学研究部

### (1) 構成員

部長 松浦 弘幸

室長

神経情報画像開発研究室

中井 敏晴

診療関連機器開発研究室

根本 哲也

生活支援機器開発研究室

伊藤 安海

流動研究員

久保田 怜

西井 匠

宮腰 誠

押本 由美

外来研究員

岡本 呻也

稲森 景

飯坂 彰啓

木村 巧

松井 応式

小倉 崇生

戸田 均

野田 信雄

大野 尚則

小井手 一晴

山中 真

客員研究員

中野 正博

峯 信一郎

藤正 巖

松谷 明彦

行正 徹

玉川 雅章

飯高 哲也

津田 孝雄

研究補助員・事務補助員

高橋 良枝

津村 千穂

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

神経情報画像開発研究室では、1) 加齢変化の fMRI と脳波と同時に計測による DMN の変化を電気生理学的にも検証した。2) 運動計測から推定される体動の不安定さと行動データ、脳機能マップ上の関係を解明した。さらに IP カメラを用いた在宅モニタリングと認知機能の変化を調査研究した。生活支援機器開発研究室では高齢者の安全・安心を実現する生活支援機器の開発を主テーマとして、1) 高齢ドライバー支援システムの開発、2) 高齢者・障害者への災害時支援システムの開発、そして、3) 生活支援機器の安全性評価手法の開発等小規模実証実験を行った。特に、工業的な緩衝材に比べ、幅広い荷重速度域で生体軟組織の衝撃吸収特性の優位が認められた。生活支援機器開発研究室では、1) 計算機による骨強度を骨塩密度と力学的強度の関係性から高齢者特有の転倒時の応力状態を再現する先進医療を推進した。2) 褥瘡マネキンの製作による褥瘡発生に係る応力状態と姿勢・動作に関する研究等を実施した。また、ロボットと人の共生を前提とした安全検証としダミー実験が行われた (NEDO-PJ)。本年度は、論文 (欧文 5 本, 和文 7 本)、発表 (海外 1 2 回, 国内 3 1 回) の成果であった。

## 神経情報画像開発研究室：中井敏晴、宮腰 誠

### 統合的 NeuroImaging による認知症の早期診断技術の研究

神経情報画像開発研究室では認知症の早期診断の方法として fMRI による脳機能イメージングを使った診断技術の開発を進めている。脳機能イメージングの役割は認知機能の低下が臨床的に明らかになる前にその兆候を捉えることであり、加齢の段階から検討を加えねばならない。

平成 22 年度までに蓄積した脳機能画像データベースを用いた検討を進め、加齢により fMRI で観測している脳機能信号 (BOLD) が増強する現象の神経生理学的意義を説明する仮説として「Demand-Reservation Balance Model」(脳機能マップに反映される変化は脳活動の予備能力を反映する) を提案した。信号の増強は健常高齢者で見られるため、認知機能の低下が臨床的に明確になる前の段階で、同一量の課題負荷に対してより多くの神経細胞ユニットが動員されている状態になっている可能性がある。今後は、この現象を潜在的認知機能の低下の検出に応用する手法の開発を進める計画である。

このような加齢による変化を fMRI とは観測する現象が異なる脳波と同時に計測を行い、加齢による default mode network (DMN) の変化を検討した。その結果、アルファ帯域活動に相関する領域として、若年群では内側前頭前野、楔前部、両側の下頭頂葉が検出された。これに対し、高齢群では楔

前部のみが検出されることを見出した。DMN は、それ自身は特定目標を持たない準備状態を作っている認知活動と考えられるが、今回得られた知見は加齢により DMN として検出される領域が減少するという指摘を電気生理学的な面から裏付けるデータと考えられる。この知見は、加齢による神経回路の離断傾向が特定目標を持った認知活動と同様 DMN にも見られることを反映すると考えられ、今後は神経心理学検査の結果と比較検討し、臨床診断への応用を検討する予定である。

22-24 年度の計画で、モーションキャプチャによる運動計測から推定される体動の不安定さと行動データ、脳機能マップ上の関係を明らかにし、IP カメラ等の廉価なシステムを使った在宅モニタリングの映像から認知機能の変化を推定する方法の基盤開発を開始し、QVGA の画素数でも基本的な動作の解析精度は高精度カメラと差が無いことを確認した。記憶や見当識と同様に前頭葉の機能である高次制御も認知症における診断ポイントと考えられ、転倒のリスクにも関係が深いと考えられるが、これまでのところこの点についてはあまり注目されていない。高齢者の在宅スクリーニングに応用できる可能性がある。

以上の内容を原著 2、国際会議等での発表 9、その他の発表 11 において公表した。

## 生活支援機器開発研究室：伊藤安海、西井匠、稲森景、大野尚則、小倉崇生、戸田均、木村巧、松井応式、岩崎弘利、奥谷知克 高齢者の安全・安心のための生活支援機器の開発

生活支援機器開発研究室では高齢者の安全・安心を実現する生活支援機器の開発を主テーマとして、自動車運転時、災害時の安全・安心を実現するための生活支援機器の開発および生活支援機器の安全性評価手法の開発に関する研究を行っている。

本年度は以下の研究開発課題に対して、基礎技術のブラッシュアップおよび小規模実証実験を行った。

### ①高齢ドライバー支援システムの開発

開発した高齢ドライバー運転診断・トレーニングシステムを用い、富士河口湖町において小規模社会実験を継続して実施した。その結果、参加した高齢ドライバーのほとんどに運転能力（危険回避能力）の上昇がみられ、同時に認知機能（MMSEにより評価）も上昇していることが明らかとなった。また、シミュレータによる運転トレーニングデータ（アクセル、ブレーキ操作データ）の解析を行った結果、それらのデータから運転中の認知機能が推定可能なことが明らかとなった。

### ②高齢者・障害者への災害時支援システムの開発

平成22年3月19日に発生した東日本大震災を受けて、余震による2次災害や計画停電による停電リスクが高い地域の在宅療養者（主に人工呼吸器

を使用しているALS患者）宅に自動車バッテリーを用いた非常用電源の貸し出し作業を行った。その結果、突発的な停電時には、発電機の利用が困難なため、（発電機の備えがあっても）非常用バッテリーの備えが必要なことが分かった。また、バッテリー貸し出し後、定期的に電話や訪問によるフォローをすることが、安全・確実に停電時の対応をしてもらうために重要であることが明らかとなった。

### ③生活支援機器の安全性評価手法の開発

開発した衝撃力測定システムを用いて、生体軟組織および緩衝材の衝撃特性評価実験を行った。その結果、皮膚や筋肉などの生体軟組織が、外力により骨に加わる力を大きく減少させることが分かった（例えば、軟組織の厚さが2cm低下しただけで、転倒時に大腿骨に加わる荷重が2倍に増加する）。また、工業的な緩衝材に比べ、幅広い荷重速度域において生体軟組織の衝撃吸収特性が優れていることが明らかとなった。

本年度の主な成果発表は、原著論文4編、学会・研究会等での発表12編、その他1編であった。

本研究は、認知症介護研究・研修大府センター、埼玉工業大学、東京農工大学などとの共同研究であり、平成23年度も継続する予定である。

## 高齢者のための診療関連機器の開発

診療関連機器開発研究室では，医療機関で有効な診療関連機器の開発を行っている。

当研究室では，それぞれの課題毎に当センター病院整形外科，皮膚科，薬剤部と連携し即応性の高い技術開発を行っている。

なお，本研究課題の遂行にあたっては，「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し，研究対象者個人の尊厳と人権の尊重，個人情報保護等倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行するとともに，当センターにおける倫理委員会において当該研究の承認を受けた上で実施を行った。

### ① コンピュータシミュレーションに基づく骨強度評価法の開発

転倒時の骨折リスクを顕在化するための，コンピュータシミュレーション（CS）による骨強度を骨塩密度と力学的強度の関係性から評価する方法について，高齢者の骨折線形状から逆問題的に境界条件を明らかにし（図1），当センター病院整形外科において先進医療として実施した。H23年度は，高齢者特有の転倒時の応力状態を再現する境界条件を求め，実際の状態下で評価する。

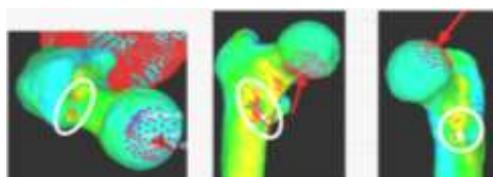


図1 大腿骨に係る荷重角度の影響

### ② 褥瘡予防・治療のための支援機器の開発

褥瘡ポケット周辺の応力状態を測定するために，昨年度に探索研究を行った人体材料を用いて，褥瘡マネキンを製作した（図2）。H23年度は褥瘡発生に係る応力状態と姿勢・動作についての関係を明らかにする予定である。

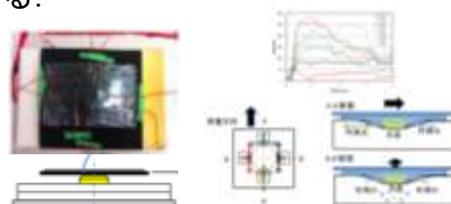


図2 褥瘡ポケット周辺の応力状態

### ③ スクリーニング機器の開発

昨年度に開発した高齢者の虚弱体力を計測する機器を用いて，発揮体力の形状分析を行い，データベース化を行った。H23年度は体力の分類化と体力に由来する疾患の関係性を明らかにする予定である。

また，皮膚刺激に対する脳磁計測を行うための非磁性刺激装置の製作を行い，皮膚刺激による脳磁計測法を開発した。

本年度の主な成果発表は、原著論文 **1** 編、学会・研究会等での発表 **1** **4** 編であった。

本研究は，国立長寿医療センター病院，埼玉工業大学，日本工業大学との共同研究でありH23年度も継続する予定である。

## 研究業績（長寿医療工学研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

英文)

Nakano M, Noda N, Matsuura H:

Theoretical Studies for Removal Devices of Bad Smel.

**Journal of Biomedical Fuzzy Systems Associations**, Vol.15(2), p17-p20, 2010

Matsuura H, Nakano M, Yamanaka M, Nishii T, Oshimoto Y, Ito Y, Nemoto T:

Quantum Circuits and Its Application for Neuro- Junction.

**Journal of Biomedical Fuzzy Systems Associations**, Vol.15(2), p33-p40, 2010

Matsuura H, Nakano M, Yamanaka M, Nishii T, Oshimoto Y, Ito Y, Nemoto T:

Social Factors' Analysis of Japanese Divorce.

**Journal of Biomedical Fuzzy Systems Associations**, Vol.15(2), p41-p47, 2010

Nakai T, Bagarinao E, Miyakoshi M, Chen SA, Tseng WI, Matsuo K:

Neuroimaging evidence of demand-reservation balance change in the aging brain – An analysis of hemodynamic response function during motor execution.

**Frontiers in Neuroscience**. Conference Abstract: Neuroinformatics 2010. doi: 10.3389/conf.fnins.2010.13.00138（電子出版）

Z.Hongyang, J.Dongying, Y.Ito, T.Nemoto, Y.Takahashi :

Investigation on Shock Response of Magnesium Alloy Honeycomb Sandwich Panels under Low Velocity Impact Loading

**Materials Science Forum**, 675-677, 547-550, 2011.

邦文)

山中真・根本哲也・伊藤安海・小井手一晴・高橋雅樹・安本卓也・松浦弘幸 :

施設設計図から見た動線別リスク要因.

**バイオメディカル・ファジィ・システム学会誌**, 12(1) : 89-92, 2010

中野正博・松浦弘幸・玉川雅章・山中真・行正徹 :

頭部損傷基準値（H I C）の理論的分析.

バイオメディカル・ファジィ・システム学会誌, Vol.2(2) : 57-64, 2010

杉浦 圭・福田洋治・毛利公美・中井敏晴・田中あゆ子・白石善明 :  
行動データを取得する Web アプリケーションのための処理時間予測による測定  
精度保証

第 10 回情報科学技術フォーラム講演論文集, 第 3 分冊、659-660、2011

伊藤安海・根本哲也・久保田怜・松浦弘幸・木平真・小長谷陽子・柳井修一 :  
有効視野低下によるハイリスク高齢ドライバー在宅検査手法の検討.  
数理科学会論文集,12, 1, 27-32, 2010.

伊藤安海・根本哲也・久保田怜・松浦弘幸 :  
高齢者ドライバーの安全運転対策におけるドライビングシミュレータの活用と  
課題.  
交通科学, 41, 2, 18-23, 2011.

小倉崇生・戸田均・木村巧・松井応式・伊藤安海・根本哲也 :  
衝撃力に対する筋肉および皮下脂肪の緩衝性能.  
実験力学, 11, 1, 18-21, 2011.

久保田怜・島本聡・手塚還・沼田大樹・高山和喜 :  
マグネシウム合金の極低温下における高速衝突特性.  
日本機械学会論文集 A 編, Vol.76, No.765, pp.573-580, 2010.

## 2. 総説

松浦弘幸 :

2040年の科学技術 第9回デルファイ調査  
文部科学省 科学技術政策研究所, 財団法人 未来工学研究所, p295-297, 2010,  
書籍とCD-ROM

## 3. 著書、Chapters

該当なし

## 4. その他

該当なし

5. 新聞・報道,等

伊藤安海

検査機器ニュース、平成 22 年 7 月 20 日「二軸サーボ疲労試験機の開発と応用」

伊藤安海

テレビ東京、平成 23 年 1 月 16 日「トコトンハテナ（夕方）高齢ドライバーは安全運転？」

6. 特許申請、取得状況

該当なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

中井敏晴

脳画像から神経情報画像への道

君の脳を調べるイメージング技術～その基礎から再生医療まで～

第 19 回日本バイオイメージング学会学術集会 公開シンポジウム（文部科学省科学研究費補助金、研究成果公開促進事業），9 月 11 日，横浜

伊藤安海

人体損傷から見た介護・福祉ロボットの安全性評価

ロボットシンポジウム 2010 名古屋（特別講演「期待される介護・福祉ロボットの研究・開発の現状と将来」），2010. 10. 27, 名古屋

伊藤安海

高齢・認知症ドライバーに対する医療工学からのアプローチ

第 19 回日本交通医学工学研究会学術総会（シンポジウム「ドライバーへの安全支援対策」），2010. 9. 23, 名古屋

伊藤安海

福祉機器リスクアセスメントのための生体軟組織衝撃特性評価

第 58 回応用物理学関係連合講演会（シンポジウム「衝撃の科学とその利用」），2011. 3. 25, 厚木

根本哲也・伊藤安海・久保田怜・松浦弘幸・桜井亨：

災害時の電源供給装置

せんねん村 10 周年記念シンポジウム, 平成 22 年 9 月 12 日, 愛知県

## 2. 国際学会発表

Matsuura H, Yamanaka M, Nishii T, Kubota R, Ito Y, Nemoto T:

Quantum Neuro-System.

International Conference of BMSFA2010,299-300, Kitakyushu,Japan, 10/10/2010

Nakano M, Matsuura H, Tamagawa M, Yamanaka M, Yukimasa T:

Theoretical Analysis on Head Injury Criterion.

International Conference of BMSFA2010,335-340, Kitakyushu,Japan, 10/10/2010

Nakai T, Miyakoshi M, Bagarinao E, Yoshida M, Nakai C, Matsuo K:

The dependency of age-related change of brain activation on the visual stimuli - Demand-reservation balance.

ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting 2010, May 4 2010, Stockholm

Nakai T, Miyakoshi M, Bagarinao E., Nakai C, Matsuo K:

The hemodynamic response characteristics underlying the age-related change of brain activation during motor execution.

ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting 2010, May 5 2010, Stockholm

Miyakoshi M, Chen A-H, Matsuo K, Nakai T:

Compromised temporal responsivity in fusiform areas by aging.

ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting 2010, May 4 2010, Stockholm

Nakai T, Bagarinao E, Miyakoshi M, Nakai C, Matsuo K:

HRF Analysis of Age-related Decline of Brain Activation.

16th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping, June 9-10 2010, Barcelona

Miyakoshi M, Chen A-H, Matsuo K, Suzuki A, Nakai T:

Compromised temporal responsivity in fusiform areas by aging.

16th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping, June 9-10 2010, Barcelona

Miyakoshi M, Chen A-H, Matsuo K, Nakai T:  
Age-related Changes in Semantic Processing  
16th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping, June 9-10 2010,  
Barcelona

Nakane T, Miyakoshi M, Nakai T, Naganawa S:  
Hearing one's own name activates the medial frontal area?  
16th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping, June 7-8 2010,  
Barcelona

Nakai T, Bagarinao E, Miyakoshi M, Chen SA, Tseng WI and Matsuo K:  
Neuroimaging evidence of demand-reservation balance change in the aging  
brain – An analysis of hemodynamic response function during motor execution.  
NeuroInformatics 2010, August 31 2010, Kobe

Wu C, E KHF, Ho MHR, Matsuo K, Nakai T, Chen SHA:  
Effective connectivity underlying phonological selection for Japanese Kanji.  
Decade of the Mind VI, October 18-20 2010, Singapore

Z.Hongyang, J.Dongying, Y.Ito, T.Nemoto, Y.Takahashi:  
Investigation on Shock Response of Magnesium Alloy Honeycomb Sandwich  
Panels under Low Velocity Impact Loading.  
The 7th International Forum on Advanced Material Science and Technology,  
2010.JUN, Dalian, China

### 3. 国内学会発表

松浦弘幸・根本哲也・伊藤安海・西井巧・押本由美・中野正博：  
鞭毛モータのコヒーレント理論とその量子状態。  
第2回ナノバイオメディカル学会講演要旨集, 32, 2010/02/21, 大阪大学

松浦弘幸・伊藤安海・久保田怜・西井匠・根本哲也：  
神経伝達の量子論。  
バイオメディカル・ファジィ・システム学会, 5-6, 2010/10/9, 北九州

松浦弘幸・伊藤安海・久保田怜・西井匠・根本哲也・中野正博・玉川雅章・山中真：  
真：

転倒と衝突に関する力学的損傷.

バイオメディカル・ファジィ・システム学会, 73-74, 2010/10/9, 北九州

山中真・小井手一晴・根本哲也・伊藤安海・中野正博・松浦弘幸 :

医療者のリスク認知と事故予防.

バイオメディカル・ファジィ・システム学会, 97-102, 2010/10/9, 北九州

野田信雄・根本哲也・中村昭範・中野正博・佐山行宏・松浦弘幸 :

二点弁別の自発的解答の信頼性評価手法の開発.

バイオメディカル・ファジィ・システム学会, 2010/10/10, 北九州

松浦弘幸・根本哲也・伊藤安海・久保田怜・西井匠 :

神経回路の量子論.

ナノ・バイオメディカル学会, 第3回大会講演, 15, 2010/9/17 鶴見大学, 横浜

松浦弘幸・根本哲也・伊藤安海・西井匠・中野正博 :

神経伝達の量子干渉理論.

人工知能学会, 2010/6/10, 長崎

中井敏晴・バガリナオ エピファニオ・宮腰誠・松尾香弥子 :

BOLD 信号の加齢性変化を反映する神経負荷モデルの研究.

第38回日本磁気共鳴医学会大会, 10月2日, つくば

畑中渉・中井敏晴・宮腰誠・高島一郎・田中あゆ子・松尾香弥子・長谷川純一 :

画像計測による行動データを指標としたfMRI データ評価の試み.

第38回日本磁気共鳴医学会大会, 10月2日, つくば

松尾香弥子・中井敏晴 :

fMRI 課題内容による言語側性化指標の変動.

第38回日本磁気共鳴医学会大会, 10月2日, つくば

中根俊樹・宮腰誠・中井敏晴・長縄慎二 :

名前に対する注意は前頭葉内側の脳活動に反映される.

第38回日本磁気共鳴医学会大会, 10月2日, つくば

宮腰誠・Chen S-H Annabel・松尾香弥子・中井敏晴 :

加齢が単語の意味処理に与える影響の fMRI 研究.  
第 38 回日本磁気共鳴医学会大会, 10 月 2 日, つくば

宮腰誠・宮内哲・小池耕彦・寒重之・中井敏晴 :  
デフォルトモードネットワークとアルファ波相関領域の比較.  
第 38 回日本磁気共鳴医学会大会, 10 月 2 日, つくば

宮腰誠・宮内哲・寒重之・小池耕彦・中井敏晴 :  
アルファ波相関皮質領域とデフォルトモードネットワークの比較.  
平成 22 年度日本生体医工学会東海支部大会, 10 月 16 日, 名古屋

中根俊樹・宮腰誠・中井敏晴・長縄慎二 :  
注意時・非注意時における名前が呼ばれた時の脳活動の検討.  
平成 22 年度日本生体医工学会東海支部大会, 10 月 16 日, 名古屋

畑中 渉・中井敏晴・宮腰 誠・高島一郎・田中あゆ子・松尾香弥子・長谷川純一 :  
色トラッキングを用いた脳機能計測中の運動計測の試み.  
平成 22 年度日本生体医工学会東海支部大会, 10 月 16 日, 名古屋

中井敏晴・宮腰 誠・Epifanio Bagarinao・松尾香弥子 :  
血液動態反応に見られる加齢性変化の機序.  
平成 22 年度日本生体医工学会東海支部大会, 10 月 16 日, 名古屋

伊藤安海・久保田怜・根本哲也・松浦弘幸 :  
人体損傷からみた介護・福祉ロボットの安全性評価法の検討  
The 10th Conference on Biomechanics in Sendai, 2010 年 11 月 20 日, 宮城

伊藤安海・久保田怜・根本哲也・小倉崇生・戸田均・木村巧・松井応式・松浦弘幸 :  
生体軟組織の衝撃吸収特性—軟組織の厚さが骨折リスクに及ぼす影響—  
日本法科学技術学会第 16 回学術集会, 2010 年 11 月 12 日, 東京

伊藤安海・久保田怜・根本哲也・松浦弘幸 :  
ドライブシミュレータ検査における高齢者への事前インストラクションの影響  
自動車技術会 2010 年秋季大会, 2010 年 9 月 29 日, 小倉

伊藤安海・根本哲也・久保田怜・藤井優武・横山考弘・松浦弘幸：  
高齢者用ドライブシミュレータ適応課題の開発  
第 29 回数理学講演会, 2010 年 8 月 28 日, 東京

伊藤安海・根本哲也・久保田怜・小倉崇生・戸田均・木村巧・松井応式・松浦弘幸：  
生体軟組織の厚さが骨折リスクに及ぼす影響  
日本実験力学会 2010 年度年次講演会, 2010 年 8 月 18 日, 長崎

有井政和・大柳佑介・伊藤安海・巨東英：  
ドライブシミュレータ操縦における視点移動測定アルゴリズムに関する研究  
第 42 回応力・ひずみ測定と強度評価シンポジウム, 2011 年 1 月 20 日, 東京

小倉崇生・戸田均・木村巧・松井応式・伊藤安海・根本哲也：  
鈍器による打撃力計測  
日本実験力学会 2010 年度年次講演会, 2010 年 8 月 17 日, 長崎

石川耕介・伊藤安海・巨東英：  
簡易型 DS 操作中の脳波測定および安全運転評価に関する研究  
第 24 回人工知能学会全国大会, 2010 年 6 月 9 日, 長崎

久保田怜・根本哲也・伊藤安海・松浦弘幸・西井匠・島本聡：  
マットレスの体荷重による変形が皮膚表面の温湿度におよぼす影響。  
第 42 回応力・ひずみ測定と強度評価シンポジウム, 2011 年 1 月 20 日, 東京,

根本哲也・久保田怜・伊藤安海・松浦弘幸・磯貝善蔵・古田勝経・島本聡：  
皮膚の動揺を簡便に計測・評価する手法の開発。  
第 42 回応力・ひずみ測定と強度評価シンポジウム, 2011 年 1 月 20 日, 東京,

根本哲也・伊藤安海・久保田怜・小倉崇生・磯貝善蔵・古田勝経・松浦弘幸・島本聡：  
減歪ひずみゲージによる皮膚表面変形の計測。  
第 29 回数理学講演会講演会, 2010 年 8 月 28 日, 東京,

久保田怜・西井匠・根本哲也・伊藤安海・松井康素・松浦弘幸・島本聡：  
経時筋力計による高齢者の体力測定評価。

第 29 回数理学講演会講演会, 2010 年 8 月 28 日, 東京,

根本哲也・伊藤安海・久保田怜・古田勝経・磯谷善蔵・松浦弘幸・島本聡 :  
一様接合材の減歪作用を利用した大変形ひずみ挙動の計測.  
日本実験力学学会 2010 年度年次講演会, 2010 年 8 月 18 日, 長崎

久保田怜・西井匠・根本哲也・伊藤安海・松浦弘幸・島本聡 :  
長期間使用時におけるマットレス性能評価手法の検討.  
日本実験力学学会 2010 年度年次講演会, 2010 年 8 月 18 日, 長崎

#### 4. その他、セミナー等

伊藤安海

参加しよう！高齢者ドライバー講習

富士河口湖町高齢者交通安全フォーラム, 2010 年 7 月 27 日, 富士河口湖町

### III. 公的研究費

#### 1. 文部科学省

伊藤安海（代表）40 万円（総額 340 万円）

科学研究費補助金（萌芽研究）（平成 20 から 22 年度）

高齢ドライバー在宅運転トレーニングシステムの開発

中井敏晴（代表）平成 22 年度 330 万円（総額 468 万円）

独）日本学術振興会 科学研究費補助金（B）

テンソル fMRI による高齢者認知機能診断法の開発

中井敏晴（分担）平成 22 年度 60 万円

独）日本学術振興会 科学研究費補助金（C）

機能的 MRI と拡散テンソル画像を用いた脳領域間連結性についての研究

宮腰誠（代表）平成 22 年度 70 万円（総額 91 万円）

独）日本学術振興会 科学研究費補助金（B）

加齢および軽度認知障害に伴う自律的脳活動の変性 の 解 明

#### 2. 財団、その他

独立行政法人, 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)

松浦弘幸、(研究側代表) 平成 22 年度 1550 万円 (総額 4 5 00 万円)

中井敏晴 (代表) 平成 22 年度 200 万円 (総額 200 万円)

財) 長寿科学振興財団 長寿科学研究者支援事業

画像解析と脳機能計測による運動協調機能の加齢性変化の特徴抽出の研究

独立行政法人 科学技術振興機構

伊藤安海 (代表) 500 万円 (総額 1, 500 万円)

社会技術研究開発事業 研究開発成果実装支援プログラム(平成 20 から 23 年度)

高齢者ドライバーの安全運転を長期間継続可能にする支援システムの社会実装

以上

## 長寿政策科学研究部

### (1) 構成員

部長 荒井 由美子

室長

○ 長寿医療政策研究室

新井 明日奈 (平成 22 年 9 月 30 日まで在任)

○ 長寿保健政策科学研究室

安部 幸志

流動研究員

柴田 由己 (平成 22 年 9 月 30 日まで在任)

研究開発研究員

熊本 圭吾 (平成 22 年 10 月 1 日から在任)

水野 洋子

客員研究員

工藤 啓

杉浦 ミドリ

上田 照子

鷺尾 昌一

池田 学

上村 直人

研究補助員・事務補助員

安井 美淑

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

当研究部のミッションは、“高齢者における保健、医療に関して、その実態を科学的に把握し問題点を分析することで、医療・保健政策立案に資するようなエビデンスを提示すること”であり、研究活動を通じて、このミッションを遂行していきたいと考えている。

## 認知症に関する社会医学的研究

認知症患者の自動車運転に関する研究

### 1) 運転中止を妨げる要因に関する検討

認知症の進行によって、運転を中止せざるを得なくなった患者が、実際に運転中止に至るには、本人及び家族介護者にとって多大なる困難を伴うものである。その要因としては、運転に対する人々の認識の相違をもたらす家族内の葛藤が挙げられる。そこで、本研究では、運転者における運転に対する意識について明らかにすることを目的とした。40歳以上の一般生活者を対象とした意識調査から、運転を中止せざるを得ない状況を仮定した場合に、「中止をためらう理由があるとすれば何か」に対する運転者の回答を分析した。その結果、「移動手段が失われること」を挙げた者が最も多かった。さらに、高齢運転者においては、「移動手段」に加えて、「生きがい」等の運転の質的側面を重要視している傾向が、若年運転者に比して高いことが明らかとなった(Arai A, Mizuno Y, Arai Y, Int J Geriatr Psychiatry 2010)。

以上より、高齢者の運転中止後のニーズに対処し支援していくためには、移動手段についてだけでなく、運転の質的側面についても考慮し、「生きがいづくり」などの支援策を検討すべきであることが示唆された。

### 2) 地方自治体における移動・外出支援の実態

高齢運転者が、認知症等により運転を中止した後も、地域で可能な限り自立した生活を継続するためには、関係機関が連携・協働した社会支援体制を構築することが求められる(荒井ら, 老年期認知症研究会誌 2010)。

そこで本研究では、地方自治体における認知症高齢者を対象とした移動・外出支援、及び運転中止後の生きがいづくり等の支援の実施状況について、予備的な調査を実施した。その結果、認知症高齢者に対して外出支援等事業を実施している地方自治体は、回答数 1,027 のうち 120 (11.7%) であり、また、運転に代わる生きがいづくりや社会参加を促進するための、「適当な事業/サービスがある」と回答した自治体は、242 (23.6%) であることが明らかになった(Mizuno Y, Arai A, Arai Y, J Am Geriatr Soc 2010)。

以上より、認知症高齢者の自立を支える移動・外出支援や生きがいづくり支援に関しては、自治体における関連事業の実施状況によって左右される可能性が示唆された。よって今後は、自治体の支援事業実施を可能・不可能にする要因について検討する必要がある。

## 施設ケアの質に関する研究

### 施設ケアの質の向上に関する研究

本研究は、施設ケアの質の向上に資する要因を明らかにすることを目的として行われた。本年度は、まず、施設において高齢者介護に従事する職員に対する調査を行い、ターミナルケアの経験が、介護職員のストレス及び職務に対する効力感に与える影響に着目して分析を行った。東海地方の高齢者施設に勤務する194名の介護職員のデータを用いて分析を行った結果、ターミナルケアの経験を有していたのは194名中72名(37%)であり、122名(63%)は経験がないという回答が得られた。次に、ターミナルケアの経験を有している介護職員と、経験がない介護職員との差異について、関連要因の検討を行ったところ、職務経験の年数および職務効力感に有意差が認められた。職務経験年数が、職務効力感の差異に影響を与えているとも考えられるため、職務経験年数等の変数を統制した上で、再度、職務効力感を従属変数とする分散分析を行った。その結果、他の変数を統制したとしても、ターミナルケアを経験している介護職員の方が、経験がない介護職員より、有意に職務効力感が高いことが明らかとなった。この結果は、施設においてターミナルケアを経験することが、職員の仕事に対するやりがいの向上に寄与する可能性を示唆するものであると考えられる(Abe et al., Am J Hosp Palliat Care; in press)。

次に、施設職員のストレス軽減に資

する要因について、より代表性の高いデータを用いて検討を行うために、財団法人介護労働安定センターが2007年度に行った、介護施設雇用管理実態調査のデータを利用して分析を行った。2670名の介護職員のデータに対し、資格の有無や、常勤・非常勤の違い、夜勤の回数等に加え、「介護の仕事を通じて自分に自信を持てた」や、「利用者の笑顔に喜びを感じる」といった仕事に対する肯定的評価と、職務から生じるストレスとの関係について重回帰分析を用いて検討した。その結果、上記の資格や勤務状況に関する変数とストレスとの関連は認められなかったが、仕事に対する肯定的評価は、介護職員のストレスに対し、有意に軽減する効果を有していることが明らかとなった。

本研究により、施設に勤務する介護職員が、仕事に対する肯定的評価が得られるような職場環境の整備が重要であることが示唆された。しかしながら、高齢者に対してよりよいケアを提供出来る環境を整備していくためには、職員のストレス軽減に加え、賃金や施設・事業所の経営状態等の客観的要因についても、さらに検討を加える必要がある。今後は、本研究で得られた知見と、客観的な要因との関連を検証していくとともに、施設ケアの質向上に関連する要因について、高齢者や家族の視点も含めた、多面的かつ包括的な検討を行うことが求められる。

## 研究業績（長寿政策科学研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Arai A, Mizuno Y, Arai Y:

Differences in perceptions regarding driving between young and old drivers and non-drivers in Japan.

**Int J Geriatr Psychiatry**, 25(12): 1239-1245, 2010.

Mizuno Y, Arai A, Arai Y:

Measures for enhancing the mobility of older people with dementia in Japan: Should it be a matter of self-help?

**J Am Geriatr Soc** 58(10): 2048-2049, 2010.

Abe K, Ohashi A:

Positive effects of experience in terminal care on nursing home staff in Japan.

**Am J Hosp Palliat Med** (in press).

Mizuno Y, Kumamoto K, Arai A, Arai Y.:

Mobility support for older people with dementia in Japan: financial resources are an issue but not the deciding factor for municipalities.

**J Am Geriatr Soc** (in press).

Toyoshima Y, Washio M, Ishibashi Y, Onizuka J, Miyabayashi I, Arai Y:

Burden among family caregivers of the psychiatric patients with visiting nursing services in Japan.

**IMJ** (in press).

鷺尾昌一、豊島泰子、今村桃子、東 治道、荒井由美子、井手三郎:

九州地区における透析患者のインフルエンザ罹患、施設内流行と職員のワクチン接種.

**臨床と研究**, 87(3): 94(384)-99(389), 2010.

柴田由己、安部幸志、新井明日奈、荒井由美子:

一般生活者を対象とした認知症家族の介護に対する感情尺度の作成

日本老年医学会雑誌, 47(4): 315-322, 2010.

## 2. 総説

Arai Y, Arai A, Mizuno Y:

The National Dementia Strategy in Japan.

**Int J Geriatr Psychiatry**, 25(9): 896–899, 2010.

Arai Y, Zarit SH:

Exploring strategies to Alleviate Caregiver Burden: The Effects of the National Long-term Care Insurance Scheme in Japan.

**Psychogeriatrics** (in press).

荒井由美子、新井明日奈、水野洋子:

認知症高齢者と運転: 社会支援のあり方.

**老年期認知症研究会誌**, 17: 76 - 81, 2010.

## 3. 著書、Chapters

荒井由美子:

精神障害の現状と動向. シンプル衛生公衆衛生学.

鈴木庄亮、久道 茂監修. 辻 一郎編. 東京: 南江堂, p315-326, 2010.

## 4. その他

特記すべきことなし

## 5. 新聞・報道,等

荒井由美子:

北海道新聞, 平成22年4月1日朝刊, 「認知症の人の車: 運転どう卒業」.

荒井由美子:

月刊福祉, 平成22年4月号, 「認知症高齢者の自動車運転を考える家族介護者のための支援マニュアル©: ダウンロード配布開始」.

荒井由美子:

Medical ASAHI 平成22年4月号, 「認知症高齢者の自動車運転を考える家族介護者のための支援マニュアル©: ダウンロード配布開始」.

荒井由美子:

交通安全教育, 平成22年5月号, 「認知症ドライバー: 家族介護者のための支援マニュアルの作成」.

荒井由美子:

山梨日日新聞, 平成22年5月7日朝刊, 「認知症ドライバー: 強制せず代わりの趣味を」.

荒井由美子:

シルバー新報, 平成22年5月28日, 「認知症ドライバー: 実態調査及び支援のあり方に係る研究報告」.

荒井由美子:

NHK総合テレビ:おはよう日本, 平成22年6月6日, 「認知症のドライバー: 現状と支援」.

荒井由美子:

北日本新聞, 平成22年6月16日朝刊, 「認知症ドライバー: 家族・地域で支援」.

荒井由美子:

熊本日日新聞, 平成22年6月29日朝刊, 「認知症医療実践学ぶ」.

荒井由美子:

読売新聞, 平成22年9月4日朝刊, 「高齢者交通安全つどい (警視庁主催)」.

荒井由美子:

東京新聞, 平成22年9月4日朝刊, 「交通事故の防止: 高齢者と考える (警視庁など)」.

荒井由美子:

産経新聞, 平成22年9月4日朝刊, 「交通ルール守ってほしい: 高齢者対象の安全イベント (警視庁)」.

荒井由美子:

交通安全ジャーナル, 平成22年10月号, 「高齢者の交通事故防止 (警視庁): 高齢者交通安全のつどい (パネルディスカッション)」.

荒井由美子:

警察通信, 平成22年9月25日, 「高齢者交通事故防止パネルディスカッション: 警視庁」.

荒井由美子:

月刊介護保険, 平成22年12月号, 「認知症と自動車運転: 支援マニュアルを公開」.

荒井由美子:

NHK静岡放送局 総合テレビ たっぷり静岡, 平成23年1月20日, 「認知症と自動車運転」.

荒井由美子:

NHK名古屋放送局 総合テレビ ほっとイブニング, 平成23年2月7日, 「認知症のドライバー: 事故防止策の現状と課題」.

荒井由美子:

NHK岐阜放送局 総合テレビ ほっとイブニングぎふ, 平成23年2月7日, 「認知症のドライバー: 事故防止策の現状と課題」.

荒井由美子:

NHK津放送局 総合テレビ ほっとイブニングみえ, 平成23年2月7日, 「認知症のドライバー: 事故防止策の現状と課題」.

荒井由美子:

警視庁交通部, 平成23年3月, 「車を運転することはどのような意味があったのでしょうか?: 運転免許を返納された方へ (パンフレット)」.

## 6. 特許申請、取得状況

特記すべきことなし

## II. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム、特別講演

Arai Y:

A population-based approach could reduce caregiver burden: a community education intervention in Japan (Symposium).

Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2010 (ICAD), July 12, Honolulu, Hawaii.

荒井由美子:

認知症と自動車運転：患者・家族支援の観点から。（教育講演）

第 52 回日本老年社会科学大会, 6 月 17 日, 愛知県東浦町.

荒井由美子:

認知症と自動車運転：社会支援に着目して.

認知症医療にかかわる専門職のための公開講座（共催 日本老年精神医学会, 熊本県認知症疾患医療センター）, 6 月 26 日, 熊本市.

荒井由美子:

高齢運転者と認知症について：高齢者の交通事故防止の観点から.

高齢者交通事故防止パネルディスカッション. 警視庁 平成 22 年秋の全国交通安全運動高齢者交通安全のつどい, 9 月 3 日, 東京都.

荒井由美子:

認知症と自動車運転：患者・家族支援および多職種連携の観点から.

第 2 回認知症高齢者自動車運転を考える研修会, 10 月 9 日, 山口県山口市.

荒井由美子:

認知症患者の自動車運転：家族の介護負担と社会支援。（特別講演）.

第 11 回介護保険に関する懇話会, 3 月 5 日, 愛知県豊田市.

### 2. 国際学会発表

Abe K:

Positive experiences from care-work and their effects on burnout syndromes: Results from a national cross-sectional survey in Japan.

The 63rd Annual Scientific Meeting of the Gerontological Society of America, November 22, New Orleans, USA

Washio M, Toyoshima Y, Takahashi H, Ohkuma K, Arai Y:

How novel influenza influences the attitudes on influenza vaccination among elementary and junior high school students.

14th East Asian Forum of Nursing Scholars, February 11, Seoul Korea.

### 3. 国内学会発表

倉澤茂樹, 吉益光一, 鷺尾昌一, 宮下和久, 福元仁, 竹村重輝, 横井賀津志, 荒井由美子:

在宅高齢者介護の施設入所に関連する要因 2年間の縦断研究.  
第80回日本衛生学会, 5月9日, 仙台市.

柴田由己:

高齢者の行動内容と主観的覚醒度の関連.  
第17回人間・環境学会大会, 5月29日, 横浜市.

柴田由己, 新井明日奈, 荒井由美子:

一般生活者における高齢期の生活実現期待.  
第52回日本老年社会科学学会大会, 6月17日, 愛知県東浦町.

安部幸志:

介護施設における雇用管理要因が職員のストレスに及ぼす影響.  
第52回日本老年社会科学学会大会, 6月18日, 愛知県東浦町.

新井明日奈, 水野洋子, 荒井由美子:

高齢運転者における運転行動の特性に関する検討.  
第52回日本老年社会科学学会大会, 6月17日, 愛知県東浦町.

水野洋子, 新井明日奈, 荒井由美子:

地方自治体における認知症高齢者の移動に関する支援事業の実施状況及び課題.  
第52回日本老年社会科学学会大会, 6月17日, 愛知県東浦町.

上田照子, 三宅眞理, 荒井由美子:

介護保険サービス利用の状況とそれが家族介護者に及ぼす影響.  
第52回日本老年社会科学学会大会, 6月18日, 愛知県東浦町.

新井明日奈, 水野洋子, 荒井由美子:

認知症高齢者に対する自動車運転中止後の社会支援のあり方に関する検討.  
第25回日本老年精神医学会, 6月25日, 熊本市.

安部幸志:

介護施設におけるターミナルケア実施が職務ストレスに与える影響.  
日本心理学会第74回大会, 9月22日, 豊中市.

柴田由己:

高齢者の刺激希求傾向についての予備的研究.  
日本心理学会第74回大会, 9月22日, 豊中市.

鷺尾昌一，豊島泰子，高橋裕明，荒井由美子：  
高齢者入所施設における季節性・新型インフルエンザワクチンの接種状況。  
第69回日本公衆衛生学会総会，10月29日，東京都。

倉澤茂樹，吉益光一，鷺尾昌一，宮下和久，福元仁，竹村重輝，荒井由美子：  
在宅高齢者介護を継続する介護者の抑うつに関連する要因。  
第69回日本公衆衛生学会総会，10月28日，東京都。

水野洋子，新井明日奈，荒井由美子：  
認知症高齢者に対する自治体による移動・外出支援事業の実施可能性に関する  
予備的検討。  
第69回日本公衆衛生学会総会，10月28日，東京都。

豊島泰子，鷺尾昌一，高橋裕明，大熊和行，荒井由美子：  
中学生のインフルエンザワクチン接種行動に影響を与える要因の検討。  
第21回日本疫学会学術総会，1月21日，札幌市。

鷺尾昌一，豊島豊子，高橋裕明，大熊和行，荒井由美子：  
小学生のインフルエンザワクチン接種行動に影響を与える要因の検討。  
第21回日本疫学会学術総会，1月21日，札幌市。

4. その他、セミナー等  
特記すべきことなし

### III. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省

荒井由美子，（分担）100万円  
認知症対策総合研究事業。  
認知症の包括的ケア提供体制の確立に関する研究。

荒井由美子，（分担）50万円  
認知症対策総合研究事業。  
かかりつけ医のための認知症の鑑別診断と疾患別治療に関する研究。

#### 2. 文部科学省

安部幸志，（代表）110万円（総額110万円）  
科学研究費補助金若手研究（B）。  
高齢者ケア施設におけるターミナルケア実施が職員に与える心理的影響。

### 3. 財団、その他

荒井由美子，（代表）300万円（総額300万円）

高齢社会に対する希望の醸成：「高齢期の生活実現期待」及び「高齢者観」の観点から。

## 実験動物管理室

### (1) 構成員

室長 池田 敏夫

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

実験動物管理室は研究所に併設されている実験動物施設棟内をはじめセンター研究所における実験動物の飼育環境の整備という管理業務を行うとともに、遺伝子改変マウスの作製により老化・老年病研究のモデル動物の開発と解析を行った。

#### 1. 実験動物管理

実験動物管理室は総合的で有効な研究体制の構築とそれに伴う実験動物の飼育環境の整備を進めた。概要については以下である。

- 1) 動物の愛護及び管理に関する法律の改正に準じた動物実験の 3Rs  
(代替法の活用、使用数の削減、実験動物の苦痛軽減) に基づく実効管理・飼育態勢の確立と維持
- 2) 実験動物施設の機能的な有効利用の実現に向けた整備
- 3) 実験動物の微生物モニタリング及び実験動物に関する助言等
- 4) 実験動物搬入時の検疫体制の整備

## ラジオアイソトープ管理室

### (1) 構成員

室長 滝川 修

流動研究員

張 桂琴

横井 寛

奥野海良人

管理補助員

今井康雄 (千代田テクノル)

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

研究所放射線管理 :

当センターの放射線障害予防規定に従い、放射線障害防止のため定期講習会(教育訓練)を4月22日に開催した。本年度の研究所放射線業務従事新規登録者は5名であり、再登録者は55名であった。

研究活動 :

#### 研究課題

アルツハイマー病におけるトリプトファン代謝異常の病態生理学的意義の解明とその予防・治療への応用  
(平成 17 年度から継続)

#### 研究目的

アルツハイマー病(AD)脳で生じるトリプトファン(Trp)代謝異常、すなわち、Trpの主要代謝経路であるキヌレニン経路の律速酵素インドールアミン酸素添加酵素(IDO)の誘導とその代謝産物である神経毒キノリン酸(QA)の異常蓄積に焦点を絞り、その病態的意義を解明し、ADの予防・

診断・治療法の開発に資することを目的としている。平成 21 年度の研究課題は以下の通りである。

(1) アミロイド $\beta$ ペプチド(A $\beta$ )の代謝に与える QA の影響

(2) QA 産生を抑制する IDO 特異的阻害剤の開発(平成 17 年度から継続)

### 研究成果

(1) アミロイド $\beta$ ペプチド(A $\beta$ )の代謝に与える QA の影響

前年度までに QA の A $\beta$  に代謝に与える影響をマウスの海馬内に直接投与して検討し、海馬の A $\beta$ 40 及び 42 量は共に、神経細胞死に伴い、QA 投与後 7 日後から漸増し、28 日目では生食投与対照群の数倍に増加することを報告し、QA が神経細胞死のみならずアミロイド蛋白の代謝異常をも惹起する AD の増悪因子となり得ること、そしてその変動は神経細胞性ではなく反応性アストロサイトによってもたらされていることを免疫組織学的に明らかにした。本年度は反応性アストロサイトによる A $\beta$  産生をアミロイド前駆体蛋白(APP)およびグリア細胞のマーカー蛋白(GFAP 及び Iba1)の変動を Western blot で解析することにより検証した。その結果、海馬における APP 発現量は A $\beta$  量の増加に伴い上昇し、この増加は反応性アストロサイトのマーカーである GFAP 量の増加に良く一致した。一方、活性化ミクログリアのマーカーである

Iba1 は QA 投与後 1 週間後に最大値なり、その後漸減し、APP 及び A $\beta$  量の増加パターンとは全く一致しなかった。A $\beta$  レベルが最大になる QA 投与後 4 週間後に神経細胞がほぼ脱落し消滅していることは神経細胞のマーカーである NeuN 発現の消失により確認した。以上から、QA 投与により増加した A $\beta$  は神経細胞ではなく、反応性アストロサイトによってもたらされていることを生化学的に確認した。

(2) QA 産生を抑制する IDO 特異的阻

害剤の開発

IDO 阻害剤候補化合物の取得を目的として、創薬ベンチャー企業であるラクオリア創薬と共同研究を平成 21 年度開始した。本年度は、IDO の X 線構造解析から予想される酵素の活性中心に結合し、酵素活性を阻害すると期待される低分子化合物を *in silico* で探索し、約 700 種類の候補化合物を選択した。次に *in vitro* の酵素反応系でその阻害活性を評価したが、既存の IDO 阻害剤を超える有望な化合物は得られなかった。

## 研究業績（ラジオアイソトープ管理室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Matsuno K, Takai K, Isaka Y, Unno Y, Sato M, Takikawa O, Asai A.

S-benzylisothiourea derivatives as small-molecule inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase.

**Bioorg Med Chem Lett.** 20:5126-5219, 2010.

Inaba T, Ino K, Kajiyama H, Shibata K, Yamamoto E, Kondo S, Umezu T, Nawa A, Takikawa O, Kikkawa F.

Indoleamine 2,3-dioxygenase expression predicts impaired survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy.

**Gynecol Oncol.** 117:423-428, 2010.

Croitoru-Lamoury J, Lamoury FM, Caristo M, Suzuki K, Walker D, Takikawa O, Taylor R, Brew BJ.

Interferon- $\gamma$  regulates the proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells via activation of indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO).

**PLoS One.** 16:e14698, 2011.

Nonaka H, Saga Y, Fujiwara H, Akimoto H, Yamada A, Kagawa S, Takei Y, Machida S, Takikawa O, Suzuki M.

Indoleamine 2,3-dioxygenase promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer through inhibition of natural killer cell function and angiogenesis promotion.

**Int J Oncol.** 38:113-120, 2011.

#### 2. 総説

滝川 修、横山祐一.: Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)の病態生理学的意義と阻害剤の開発 ファルマシア(日本薬学会誌) 46 : 241-246、2010

3. 著書、Chapters なし

4. その他 なし

5. 新聞・報道,等 なし

6. 特許申請、取得状況

発明者：滝川 修、曾我朋義

発明の名称：アルツハイマー病の診断マーカー、アルツハイマー病の予防及び治療薬のスクリーニング方法並びにアルツハイマー病の診断方法

出願年月日：平成 22 年 5 月 17 日

出願番号：特願 2010-113496

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Takikawa O.

Endogenous neurotoxin quinolinic acid may play a primary role in the pathology of Alzheimer's disease by increasing the amyloid beta peptide levels.

The First International Conference of Neural Cell Culture 2010, June 25, 2010, Seoul (Korea).

松野研司、高井一成、井坂吉伸、海野雄加、佐藤雅之、滝川修、浅井章良  
ID0 阻害活性を有する S-benzylisothioureia 誘導体の構造活性相関  
第 29 回メディシナルケミストリーシンポジウム、11 月 19 日、京都

2. 国際学会発表

Takikawa O, Kagawa S, Okuno A, Yokoi H, Zhang Q.

Endogenous neurotoxin quinolinic acid may play a primary role in the pathology of Alzheimer's disease by increasing the amyloid beta peptide levels.

Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2010, July 13, 2010, Honolulu .

Takikawa O, Kagawa S, Okuno A, Yokoi H, Zhang Q

Endogenous neurotoxin quinolinic acid may play a primary role in the pathology of Alzheimer's disease by killing neurons and increasing the amyloid beta peptide levels in the hippocampus. The 10<sup>th</sup> International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases, March 10, 2011, Balcerona .

### 3. 国内学会発表

滝川 修

アルツハイマー病で見られるトリプトファン代謝異常の病態生理学的意義：神経毒キノリン酸のダークパワー

BMB2010(日本生化学大会・日本分子生物学大会合同大会),12月7日,神戸,ワークショップ

Takai K, Isaka Y, Unno Y, Matsuno K, Sato M, Takikawa O, Asai A

Assay development and screening for new chemical entities as IDO inhibitors

第33回日本分子生物学会年会,12月10日,神戸.

奥野海良人、香川正太、横井寛、張桂琴、滝川修

内在性神経毒キノリン酸によるアミロイドβペプチド増加機構とその病態生理学的意義

第32回日本トリプトファン研究会,12月5日,彦根.

横井寛、奥野海良人、張桂琴、滝川修

LPSの末梢投与による脳内炎症モデルの作製：アルツハイマー病の理解を目指して

第32回日本トリプトファン研究会,12月5日,彦根.

滝川修、香川正太、張桂琴、横井寛

アルツハイマー病とトリプトファン代謝異常：神経毒キノリン酸による神経細胞死とアミロイドβペプチド増加

日本基礎老化学会第33回大会,6月18日,名古屋.

山崎寛史、松野研司、高井一成、井坂吉伸、海野雄加、佐藤雅之、浅井章良、滝川修

IDO阻害活性を有するS-benzylisothiourea誘導体の構造活性相関

第25回農薬デザイン研究会,11月5日,浜松.

### 4. その他、セミナー等      なし

### III. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省科学研究補助金

滝川 修 (分担) 50 万円

長寿科学総合研究事業

血液、尿等、生体への侵襲が少ないバイオマーカーを用いた認知症診断方法に関する研究

#### 2. 文部科学省

滝川 修 (代表) 142 万円

文部科学省科学研究費基盤研究 (C)

アルツハイマー病におけるトリプトファン代謝異常の分子機構

滝川 修 (分担) 170 万円

科学技術試験研究委託事業

分子イメージング研究戦略推進プログラム

分子イメージングを利用したタウ凝集阻害薬の開発

#### 3. 独立行政法人 医薬基盤研究所

滝川 修, (分担) 497 万円

保健医療分野における基礎研究推進事業

メタボローム情報に基づくアルツハイマー病及び脊柱管狭窄症の創薬標的の探索

#### 4. 愛知県 知の拠点(超早期診断技術開発プロジェクト)

滝川 修 (分担) 170 万円

アルツハイマー病・パーキンソン病を早期に発見する無侵襲計測システムの開発

## 遺伝子蛋白質解析室

### (1) 構成員

室長

新飯田俊平

研究員

森脇佐和子

特任研究員

きょう建生

リサーチレジデント

村松 昌 (8月末まで)

研究補助員

河合磨奈美

日野 優子

### (2) 研究活動の概要

当研究室では、加齢がリスク因子となって、高齢期に発症する疾患群の診断・治療に役立つ生体分子の探索的研究を行っている。

平成22年度は、6ナショナルセンター(6NC)合同プロジェクト「多層的疾患オミックス解析に基づく創薬標的の網羅的探索を目指した研究」(医薬基盤研・医療保健分野基礎研究推進事業)がスタート。当研究室がプロジェクトの窓口となり、研究をスタートさせた。当センターがオミックス解析の対象とする疾患は、アルツハイマー病と脊柱管狭窄症で、材料は前者が脳脊髄液、後者は摘出黄色靭帯。解析オミックスはトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームの3種類とした。

研究1年目となった今年度は、対象疾患患者からの検体収集と、各解析の

ための試料調整法の確立およびパイロット的解析をめざした。実際に行ったのは収集が順調であった脊柱管狭窄症黄色靭帯試料と対照試料とするヘルニアの黄色靭帯試料の調整で、これらは細胞成分が少ない線維組織であるため、組織の粉碎など、種々の工夫を必要であったが、RNA以外は解析にかけられる状態に調整することが出来た。靭帯からのRNA調整法については、手術室から調整開始までの時間が予想以上にかかるためRNAの分解が進んでいることが示唆された。この点を改善する方法について検討する必要がある。なお、今年度収集した試料は、脊柱管狭窄症が33例(対象群8例)、脳脊髄液2例であった。

厚生労働省科学研究費による「骨粗鬆症の尿スクリーニング検査の費用対効果に関する研究」を実施した。この研究は平成21年度からスタートし、今年が2年目。昨年度(研究1年目)に、既存の尿骨吸収マーカーによる検診が一般的な骨密度測定による検診より、有病者の発見効率が良かったという事実から、今年度は、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ(uGGT)を用いた検診で、どれくらいの有病者がスクリーニングされるか検討した。その結果、約2,000人のuGGT検診を実施し、年度末までに二次検診を受診して有病と診断された人数は128人であった。この数字は既存のマーカーを用

いた検診のときとほぼ同じ程度であった。一方、骨密度検診ではわずか24人であった。この成績は予想外に低く、骨密度測定による検診に疑問の残る結果であった。uGGTによる検診の費用

対効果は、安い検診コストで数倍のスクリーニング効果があったという事実から、自治体が実施する検診としては予算削減につながる方法として有効と考えられた。

## 研究業績（遺伝子蛋白質解析室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Natsume H, Tokuda H, Adachi S, Takai S, Matsushima-N R, Kato K, Minamitani C, Niida S, Mizutani J, Kozawa O, Otsuka T:

Rho-kinase limits FGF-2-stimulated VEGF release in osteoblasts.

**Bone**, 46(4): 1493-1497, 2010

山本誠士, 村松昌, 東英梨月, 堂本光子, 大澤毅, 高橋宏行, 高野健一, 浦壁聡美, 新飯田俊平, 澁谷正史, 松田直之, 服部裕一:

発生期の血管新生に関与するペリサイトのリクルートメント

**脈管学**, 50(2): 197-201, 2010

Ogi H, Nakano Y, Niida S, Dote K, Hirai Y, Suenari K, Tonouchi Y, Oda N, Makita Y, Ueda S, Kajihara K, Imai K, Sueda T, Chayama K, Kihara Y:

Is structural remodeling of fibrillated atria the consequence of tissue hypoxia?

**Circulation J.**, 74(9):1815-1821, 2010

Kobayashi N, Miyoshi S, Mikami T, Koyama H, Takeoka M, Sano K, Amano J, Isogai Z, Niida S, Oguri K, Okayama M, McDonald JA, Kimata K, Taniguchi S, Itano N:

Hyaluronan deficiency in tumor stroma impairs macrophage trafficking and tumor neovascularization.

**Cancer Res.**, 70(18): 7073-7083, 2010

Murata A, Okuyama K, Sakano S, Kajiki M, Hirata T, Yagita H, Zuniga-Pflucker JC, Miyake K, Akashi-Takamura S, Moriwaki S, Niida S, Yoshino M, Hayashi S-I:

A notch ligand, delta-like 1 functions as an adhesion molecule for mast cells.

**J Immunol.**, 185(7): 3905-3912, 2010

Into T, Inomata M, Niida S, Murakami Y, Shibata KI:

Regulation of MyD88 aggregation and MyD88-dependent signaling pathway by sequestome 1 and histone deacetylase.

**J Biol Chem.**, 285(46): 35759-35769, 2010

Wang F, Yamauchi M, Muramatsu M, Osawa T, Tsuchida R, Shibuya M:  
ACK1 regulates VEGF/Flt1-mediated cell migration via activation of a PI3-K/Akt  
pathway.

**J. Biol. Chem.**, 286: 9097-9106, 2011

2. 総説

新飯田俊平

骨の形態的魅力 (せるてく・あらかると)

細胞工学, vol.30(3): 248-249, 2011

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

なし

2. 国際学会発表

Watanabe A, Kunimoto S, Adachi K, Takeda K, Niida S, Wakita H, Takahashi  
K:

Proteomic analysis of the Notch3-expressing cells and the microvessels of  
CADASIL brain.

ICAD2010, 6月15日, Honolulu, HI.

Yamamoto S, Muramatsu M, Azuma E, Dohmoto M, Koo BN, Mukouyama Y,  
Osawa T, Takahashi H, Takano KI, Watanabe Y, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu

K, Usui I, Tobe K, Niida S, Shibuya M, Matsuda N, Hattori Y:  
NG2 positive cerebral microvascular pericytes are potentially derived from circulating myeloid progenitors.

The 16th International Vascular Biology Meeting, 6 月 20 日, Los Angeles, CA.

Yamamoto S, Muramatsu M, Azuma E, Dohmoto M, Kita S, Iwamoto T, Komuro I, Takano KI, Niida S, Shibuya M, Matsuda N, Hattori Y:

CNS pericytes originate from the circulating hematopoietic progenitors.

16th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 7 月 20 日, Copenhagen, Denmark.

### 3. 国内学会発表

徳田治彦, 小澤 修, 原田 敦, 細井孝之, 新飯田俊平

Rho-kinase 阻害剤は骨芽細胞においてトランスフォーミング増殖因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) による血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 産生を抑制する

第 52 回日本老年医学会, 6 月 26 日, 神戸

森脇佐和子, 上西一弘, 徳田治彦, 原田 敦, 濃沼信夫, 新飯田俊平

骨吸収マーカーを用いた骨粗鬆症一次スクリーニングの検診成績

第 28 回日本骨代謝学会, 7 月 23 日, 東京

村松昌, 山本誠士, 森脇佐和子, 本山昇, 徳田治彦, 新飯田俊平

Aging impacts on miRNAs expression in blood.

日本 RNAi 研究会, 8 月 28 日, 広島

山本誠士, 東英梨月, 村松昌, 宮崎賢治, 佐竹美芽, 堂本光子, 新飯田俊平, 服部裕一

Endothelial microparticles (EMP) の in vitro 産生系の確立および in vivo 病態モデルでの解析

第 61 回日本薬理学会北部会, 9 月 10 日, 札幌

山本誠士, 東英梨月, 村松昌, 柳橋努, 生谷尚士, 長井良憲, 高津聖志, 宮崎賢治, 佐竹美芽, 堂本光子, 新飯田俊平, 服部裕一

血管内皮細胞株を用いた Endothelial microparticles (EMP) の効率的な産生系の確立および疾患バイオマーカーとしての可能性の検討

第 20 回日本循環薬理学会, 11 月 11 日, 札幌

田中伸哉, 森脇佐和子, 上西一弘, 濃沼信夫, 田中清, 池田義孝, 新飯田俊平

骨粗鬆症スクリーニングにおける尿中 $\gamma$ -GTPの有用性についての検討  
第16回埼玉県骨粗鬆症研究会, 11月13日, さいたま

山本誠士, 東英梨月, 村松昌, 柳橋努, 生谷尚士, 長井良憲, 高津聖志, 渡邊淳, 堂本光子, 新飯田俊平, 服部裕一

脳血管内皮細胞株を用いた endothelial microparticles (EMP) の in vitro 産生系の確立および in vivo 病態モデルでの解析.

第18回日本血管生物医学会学術集会/第8回 Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology 併催大会, 12月1日, 大阪

東英梨月, 山本誠士, 新飯田俊平, 堂本光子, 服部裕一

マウス創傷治癒モデルにおける創傷面血管新生への macrophage 系細胞の関与.

第18回日本血管生物医学会学術集会/第8回 Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology 併催大会, 12月1日, 大阪

東英梨月, 山本誠士, 新飯田俊平, 堂本光子, 服部裕一

マウス創傷治癒モデルにおける macrophage 系細胞の血管新生への関与.

第32回日本分子生物学年会/第83回日本生化学会大会合同大会, 12月9日, 神戸

山本誠士, 東英梨月, 村松昌, 宮崎賢治, 佐竹美芽, 堂本光子, 柳橋努, 生谷尚士, 長井良憲, 高津聖志, 新飯田俊平, 服部裕一

マウス脳血管内皮細胞株を用いた Endothelial microparticles (EMP) の in vitro 産生系の確立および疾患バイオマーカーとしての可能性の検討.

第32回日本分子生物学年会/第83回日本生化学会大会合同大会, 12月10日, 神戸

#### 4. その他、セミナー等

新飯田俊平

炎症性骨破壊の新たな病態因子 $\gamma$ -GTP.

東北大学大学院歯学研究科インターフェイス口腔健康科学 第48回学術フォーラム, 6月11日, 仙台

## II. 公的研究費

### 1. 医薬基盤研究所

医療保健分野基礎研究推進事業

新飯田俊平, (分担) 10,000,000 円

多層的疾患オミックス解析におけるトランスクリプトーム情報に基づく創薬標的の網羅的探索を目指した研究 (10-43)

新飯田俊平, (分担) 10,000,000 円

多層的疾患オミックス解析におけるプロテオーム情報に基づく創薬標的の網羅的探索を目指した研究 (10-44)

### 2. 文部科学省

基盤研究 (B)

新飯田俊平, (代表) 5,330,000 円

歯周炎における新規病態因子の分子制御機構に関する研究

## バイオリソース研究室

### (1) 構成員

室長 矢澤 生

流動研究員

伊藤 浩志

研究開発費研究員

鈴木 康予

金 成花

研究生

中山貴美子

研究補助員

都竹 佳子

濱嶋 由紀

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

高齢者が健やかな加齢 (Aging Well) を享受するために、国立長寿医療研究センター（以下「センター」という）は加齢に伴う疾患の克服研究の基盤として包括的なバイオリソースを構築する。バイオリソース研究室では、22 年度長寿医療研究開発費により長寿医療研究のためのバイオリソースの構築とバイオリソースを活用する研究を実施した。長寿医療研究のための包括的バイオリソースを構築するために、センター及び関係機関においてバイオリソースの収集に関するルールや基本理念を検討した。バイオリソースは現行の法律や指針を遵守するために、研究資源を生体試料と病理解剖の死体組織に分けて検討を行った。最初に、適正に研究試料を統一的に収集するために 21 年度までにセンターで実施された個別のバイオリソース研究について、インフォームド

ンセント (IFC) を検討し、センター全体で研究が行えるための包括的な IFC の策定及び方法の検討を行った。IFC の策定にあたっては単に試料収集を目的とするのではなく、高齢者の疾患研究基盤の構築という理念のもとに複数の研究者がバイオリソースを活用できる体制をつくった。すなわち、生体試料は研究目的と倫理面から 2 つのバイオリソースに区分し試料の収集を行った。第一は、効率的な研究のために電子カルテなどの患者情報と連結してバイオリソースの収集を行う連結可能匿名化型生体試料で、主として平成 22 年度にセンター病院に開所した「もの忘れセンター」のバイオリソースの構築を行った。第二は、過去に実績をあげた長期縦断疫学研究及び長寿ドックによる連結不可能匿名化試料について、包括的 IFC により収集した。包括的 IFC に基づく試料収集について、センター施設内倫理・利益相反委員会において、バイオリソースの収集に関する倫理審査を受け承認された。

次に、センターにおいて実施される病理解剖の中枢神経組織を認知症等の治療研究に活用するために収集保存した。死体解剖保存法を遵守するために、患者遺族への組織の返還が可能な連結可能匿名化による収集を実施し、病理組織バンクの構築を行った。さらに、病院臨床部門との連携を重視し、病理解剖における神経病理診断を行い、臨床病理検討会や病理解剖の症

例報告を通じて、臨床への成果の還元を行った。収集した研究試料を有効に活用し国民に分かりやすい研究成果をあげることはバイオリソースの蓄積と長期的な運営において最も重要であり、海外のブレインバンクなどで実証されている。バイオリソースの活用研究として認知症等の原因となる神経変性に対する根本的な治療法開発に関する研究を実施し、明快な研究成果を国民に還元する研究を実施した。さらに、研究成果は治療として患者に届けるだけでなく、研究成果をホームページ等で公開し積極的な情報公開を行った。病理組織に関するバイオリソースの活用についてはセンター施設内倫理・利益相反委員会において倫理審査を受けた。

バイオリソース研究室では、第一に病理解剖組織の解析を実際に行い、IFC やバイオリソースの活用の方法について示した。具体的には、病理解剖における IFC による承諾から病理組織の活用研究までの手順を明示し、ヒト中枢神経組織の形態学的解析や生化学的解析方法を示した (Suzuki Y, et al, FEBS J, 2010)。第二に、組織バンクの活用研究においては、高齢者の発病する神経変性に対する治療法の開発研究を行った。認知症などを発病するパーキンソン症候群のモデル動物に関する研究とヒト病理組織の研究を並行して行い、神経変性に対する治療法の開発の糸口をつかんだ。自らが開発した疾患モデルマウスから (Yazawa et al, Neuron, 2005)、患者

病態を有する培養細胞を作製し疾患の原因として蓄積する synuclein と相互作用する蛋白を見いだした。更に蛋白の機能を抑制する薬剤により synuclein の蓄積を阻止する治療法を発見した (Nakayama K et al, Am J Pathol, 2009)。以上の結果を培養細胞 *in vitro* 研究からモデルマウス *in vivo* の治療研究まで発展させた。以上の結果をもとに最終目標である臨床応用をめざした。

## 研究業績（バイオリソース研究室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Suzuki Y, Nakayama K, Hashimoto N, and Yazawa I:

Proteolytic processing regulates pathological accumulation in dentatorubral-pallidoluysian atrophy.

**FEBS J**, 277: 4873-4887, 2010.

#### 2. 総説

##### 英文総説

Hazeki-Taylor N, Yazawa I, and Kanazawa I:

Perspectives on the therapeutic targets for Huntington's disease in view of the structural and biochemical properties of polyglutamine aggregates.

**International Journal of Medical and Biological Frontiers**, 15: 337-355, 2009.

##### 和文総説

矢澤生, 鈴木康予.

多系統萎縮症の動物モデル - 治療法開発に向けて - .

**神経内科**, 73 巻 4 号 : 370-373, 2010.

#### 3. 著書、Chapters

なし

#### 4. 新聞・報道等 なし

#### 5. 特許申請、取得状況 なし

### II. 学会・研究会等発表

#### 1. シンポジウム、特別講演

なし

#### 2. 国際学会発表

なし

### 3. 国内学会発表

Nakayama K, Suzuki Y, and Yazawa I.

The role of beta-III tubulin for alpha-synuclein accumulation in multiple system atrophy (MSA) 多系統萎縮症の神経細胞 alpha-synuclein 蓄積における beta-III-tubulin の役割.

Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会, 日本神経化学会大会・日本神経回路学会大会合同大会), 2010 年 9 月 2 日, 神戸

Suzuki Y and Yazawa I.

Cytoplasmic aggregation of C-terminal ATN1 fragment in dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) 細胞質における DRPLA 蛋白 C 末ペプチドの凝集.

Neuro2010 (日本神経科学大会, 日本神経化学会大会・日本神経回路学会大会合同大会), 2010 年 9 月 2 日, 神戸

金成花, 矢澤生, 服部英幸.

TDP-43 陽性封入体を認めた FTLN-43 の一剖検例

第 51 回日本神経病理学会総会 2010 年 4 月 23 日, 東京都

金成花, 矢澤生, 坂田慶太, 服部英幸.

統合失調症と臨床診断された AD の 1 剖検例.

第 2 回日本神経病理学会東海北陸地方会, 2010 年 9 月 4 日, 三重県

### 4. その他、セミナー等

なし

### III. 公的研究費

1. 厚生労働省 なし

2. 文部科学省

矢澤生、(代表) 143 万円 (総額 143 万円)

科学研究費補助金基盤研究(C)

変性オリゴペプチドによる神経細胞 alpha-synuclein 蓄積の抑制の検討

鈴木康予、(代表) 117 万円 (総額 117 万円)

科学研究費補助金若手研究(B)

オリゴペプチドが放出する神経変性因子の同定と受容体の解析

## 共同利用推進室

### (1) 構成員

室長 渡邊 淳

### (2) 平成22年度研究活動の概要

共同利用推進室は平成22年度に新設され、平成22年10月15日付けで渡邊が室長として着任した。共同利用推進室では、共同利用機器の円滑かつ効率的な管理運用を行い、幅広い共同研究、研究支援を積極的に行うことによって、長寿医療研究を推進します。

本年度は共同利用スペースの整備、さらには共同利用機器の円滑かつ効率的な管理運用、研究機器等のセットアップに着手した。また、質量分析計、次世代シーケンサー、リアルタイムPCR、生体分子間相互作用解析システム等の機器セミナーを通して、分析機器の最新技術に関する情報提供を行った。さらに、病態分子を同定するために高感度質量分析装置を用いた解析システムの構築を行った。それらを用いて、各研究部・室から依頼されたサンプルの質量分析等の研究支援も行った。

研究に関しては、加齢で変動する血中タンパク質のプロファイリングに関する研究を行った。生後6月齢から15月齢までのラットの血清を解析に

用いた。前処理として、各血清はアルブミン、イムノグロブリンG、トランスフェリンの3つの抗体が固定されたアフィニティーカラムを用いて、高濃度に存在するこれらのタンパク質の除去を行った。カラムに吸着されなかった素通り画分のタンパク質は直接トリプシンで消化した。各消化物は低流量で流せるHPLCを用いたnanoLC/MS/MSによってショットガン分析を行い、血清中のタンパク質の網羅的な解析を行った。各血清をアフィニティーカラムで精製することによって、タンパク質の同定を行う際の大きな妨げとなっていたアルブミン等の主要なタンパク質を除き、よりマイナーなタンパク質を同定することが可能となった。その結果、血漿由来のタンパク質のみならず、細胞内由来のタンパク質も同定が可能となった。また、15月齢で増加するタンパク質として、Beta-2-glycoprotein 1 precursor、T-kininogen II precursor等、15月齢で減少するタンパク質としてhaptoglobin、transferrin等を同定した。現在、サンプル数を増やし、より詳細な検討を試みている。

## 研究業績（共同利用推進室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Minagawa H, **Watanabe A**, Akatsu H, Adachi K, Ohtsuka C, Terayama Y, Hosono T, Takahashi S, Wakita H, Jung CG, Komano H, Michikawa M. Homocysteine, another risk factor for Alzheimer's disease, impairs apolipoprotein E3 function.

**J. Biol. Chem**, 285: 38382-38388, 2010.

Takahashi K, Adachi K, Kunimoto S, Wakita H, Takeda K, **Watanabe A**.

Potent inhibitors of amyloid  $\beta$  fibrillization, 4,5-dianilinophthalimide and staurosporine aglycone, enhance degradation of preformed aggregates of mutant Notch3.

**Biochem. Biophys. Res. Commun**, 402: 54-58, 2010.

Hiramoto M, Maekawa N, Kuge T, Ayabe F, **Watanabe A**, Masaike Y, Hatakeyama M, Handa H, Imai T.

High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads.

**Biomed Chromatogr**, 24: 606-612, 2010.

#### 2. 総説

なし

#### 3. 著書、Chapters

なし

#### 4. その他、新聞・報道等

なし

#### 5. 特許申請、取得状況

なし

### II. 学会・研究会等発表

#### 1. シンポジウム、特別講演

### Watanabe A.

The molecular pathology of the CADASIL.

BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会年会、合同大会、  
2010 年 12 月、神戸

### 2. 国際学会発表

Watanabe A, Kunimoto S, Adachi K, Takeda K, Niida S, Wakita H, Kalaria RN,  
Takahashi K.

Proteomic analysis of the mutant Notch3-expressing cells and the microvessels  
of CADASIL brain, International conference on Alzheimer's disease (ICAD), July,  
2010 Honolulu, USA. July.

Nakamura H, Kawagishi H, Watanabe A, Maruyama M, Sugimoto M.  
Post-transcriptional regulation of the p53 tumor suppressor, Molecular Genetics  
of Aging, Cold Spring Harbor Meeting, September 30, 2010 New York, USA

### 3. 国内学会発表

Kunimoto S, Watanabe A, Adachi K, Matsuzaki M, Takeda K, Wakita H, Rajesh,  
N. Kalaria, Maruyama W, and Takahashi K.

Development of mutant NOTCH3 knock-in mice as a model for CADASIL.  
Neuro2010, September 4, 2010, Kobe

渡邊 淳, 足立香代, 國本正子, 武田和也, 脇田英明, 丸山和佳子, 高橋慶吉  
ヒト変異 Notch3 重合体の分解促進剤のスクリーニング.

第 29 回日本認知症学会, 2010 年 11 月, 名古屋

足立香代, 國本正子, 武田和也, 渡邊 淳, 丸山和佳子.

血管性認知症モデルマウスを用いた抗 E-selectin 抗体による治療の有効性の  
検討.

第 29 回日本認知症学会, 2010 年 11 月, 名古屋

脇田英明, 足立香代, 武田和也, 國本正子, 渡邊 淳, 丸山和佳子.

マウス血管性認知症モデルに対する Sialyl Lewis X 結合リポソームの有効性の検  
討.

第 29 回日本認知症学会, 2010 年 11 月, 名古屋

山本誠士，東英梨月，村松昌，柳橋努，生谷尚士，長井良憲，高津聖志，渡邊淳，堂本光子，新飯田俊平，服部裕一。

脳血管内皮細胞株を用いた endothelial microparticles (EMP) の in vitro 産生系の確立および in vivo 病態モデルでの解析。

第 18 回日本血管生物医学会学術集会／第 8 回 Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology 併催大会，2010 年 12 月，大阪

#### 4. その他、セミナー等

なし

### III. 公的研究費

#### 1. 厚生労働省

渡邊 淳（分担） 50 万円

認知症対策総合研究事業

血液、尿等、生体への侵襲が少ないバイオマーカーを用いた診断方法に関する研究

#### 2. 文部科学省

渡邊 淳（代表） 273 万円

科学研究費補助金 基盤研究（C）

家族性脳血管性認知症 CADASIL における血管変性メカニズムの解析

渡邊 淳（分担） 15 万円

科学研究費補助金 基盤研究（B）

歯髄マーカーを用いた他組織幹細胞から歯髄幹細胞への形質転換の証明

渡邊 淳（分担） 15 万円

科学研究費補助金 基盤研究（C）

歯髄再生促進因子を用いた新しい歯髄治療薬の開発

#### 3. 財団、その他

なし