

## 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 南山誠

流動研究員

茨木京子(～H26.9.30)

龍 訥

能勢 弓(～H26.6.30)

開発費研究員

永井雅代

能勢 弓(H26.7.1～)

客員研究員

直井 信

脇田英明

Peter Riederer

研究生

早川智久

日坂真輔

伊藤祐基

茨木京子(H26.10.1～)

武藤智大(H26.10.1～H27.1.31)

研究補助員・事務補助員

加藤記代美

山田洋美

金森久美子

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要

#### 加齢健康脳科学研究部の研究方針 (全体)

1) 「神経老化」は認知症のみならず  
神経変性疾患発症の最大のリスクフ

クターである。神経老化の分子メカニズムを研究することで、新たな切り口による認知症の病態解明と予防、治療の開発を行う。

2) さらに、疾患研究として老化に伴う認知症の原因となる変性疾患の中でも主にアルツハイマー病以外の疾患を中心に研究を行う。特にレビー小体病(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)、前頭側頭葉変性症などの変性疾患について、病因解明、診断、治療の開発に向けて研究を行った。

具体的には

2)-i) 神経変性疾患における神経老化の役割を果たす酸化ストレス傷害の蓄積と、(フォークヘッド型転写因子を中心する)遺伝子発現制御について、主に細胞モデルを用いて分子メカニズムを解明する。

2)-ii) 上記による神経老化モデルを用い、神経変性を惹起する病因遺伝子、タンパクとの相互関係を検討する。

3) 細胞モデルで得られた結果を基に、神経変性を伴う新たな動物モデルを作成し、ヒト剖検脳との比較対照を行いながら、疾患の病因を明らかにする。

4) 1)-3)の研究を効率的に推進するため、研究所内、近隣研究施設との共同研究を推進する。特に、病院部門神経内科との共同研究で、レビー小体病のバイオマーカーを探索した。

部長研究グループ：永井雅代、山田洋美、  
日坂真輔、丸山和佳子

## レビー小体病の病因解明に関する研究

認知症の原因の 20 %を占めるレビー小体病 (Lewy body disease, LBD) について研究を行った。

レビー小体病は3つのタイプに分類される。すなわち 1) Parkinson disease(PD)、2) diffuse Lewy body dementia(DLB)、3) pure autonomic failure(PAF)である。これら3つは本質的には同一疾患のスペクトラムに属するものと考えられる。共通の病理像は、神経細胞内の alpha-synuclein (Syn) を主体とするタンパク質異常凝集体の存在である。Syn の点変異、あるいは正常 Syn 遺伝子の重複による発現量の増加も遺伝性 PD の原因となることが示された。さらに近年のゲノムワイドの遺伝子多型分析(GWAS)により、Syn 遺伝子周辺の多型が孤発性パーキンソン病に関連することが複数のグループから報告された。Syn が PD を含む LBD の原因に直接関与することを示唆している。

LBD の最大のリスクファクターは加齢（老化）である。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。本研究室では酸化ストレスの中

でも、脳の老化において中心的役割を果たすと考えられる膜脂質の過酸化および、それを防御するメカニズムについて研究を行った。

脳神経細胞の特徴の一つは細胞膜の構成成分に多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA)が多いことであり、PUFA はラジカルと反応することで、それを消去する抗酸化能と同時に、自身が酸化を受けて脂質ラジカルを生成するという2面性をもっている。PUFA の酸化生成物が Syn のアミノ酸残基に付加体を形成し、難分解性の細胞毒性をもつ分子を形成することを見いだした。

PUFA による Syn の修飾は、培養細胞に細胞死を引き起こした。その原因の一つとしてオートファジーの機能低下、特に前期リソソームからオートファゴゾームへの成熟が阻害されていることが見いだされた。LBD 脳で選択的に変性を起こし易い（脆弱性のある）神経細胞において、細胞死に先行して PUFA 由来の酸化脂質の蓄積が認められた。

加齢病態研究室：早川智久、本山 昇  
細胞老化性炎症応答（SASP）における SIRT1 の機能

細胞老化は、テロメア短縮による分裂寿命に加えて、DNA 損傷、がん遺伝子の活性化など種々のストレスによって誘導される。老化細胞は、加齢とともに増加することから、個体老化を誘導すると考えられてきた。恒久的細胞周期の停止のみならず、老化細胞は細胞老化関連分泌表現型（SASP：senescence-associated secretory phenotype）といわれる炎症性サイトカインやケモカインなどの分泌が増強する特徴を有している。SASP 因子は、近隣や周辺の細胞に作用し、微小環境に影響を及ぼすので、SASP は細胞老化と加齢に伴う組織の機能低下、個体老化および老年性疾患を結びつける重要な現象と考えられている。SIRT1 は、NAD<sup>+</sup>依存性タンパク質脱アセチル化酵素で、DNA 損傷にตอบสนองしてクロマチン構造やタンパク質修飾を介して遺伝子の発現を制御する。また SIRT1 は、種々の老年性疾患に対して保護作用があることが報告されている。そこで私たちは、老化細胞誘導時の SASP 因子の発現における SIRT1 の役割について検討した。

細胞老化誘導によって SASP 因子の mRNA およびタンパク質とも発現が増強されることを見出した。一方で SASP 因子の発現変化と相反的に SIRT1 のタンパク質発現が低下することを発見した。SIRT1 発現抑制細胞では control 細胞と比較して、細胞老

化誘導後早い時期から SASP 因子 IL-8、IL-6 タンパク質の発現が認められ、また発現量の著しい増加が見られた。タンパクと同様に SIRT1 発現抑制細胞では control と比較して、早期より SASP 因子 mRNA の発現上昇が認められ、また発現量の著しい増加が見られた。SIRT1 は SASP 因子 IL-8 および IL-6 遺伝子のプロモーター領域に結合していた。しかし細胞老化誘導後、SIRT1 は、それらのプロモーター領域から解離した。SIRT1 の解離と一致して、プロモーター領域のヒストンのアセチル化が亢進することが認められた。SIRT1 発現抑制細胞株では、プロモーター領域のヒストンのアセチル化は細胞老化誘導前から control 細胞と比較して亢進しており、細胞老化誘導後更に高いレベルを示した。これらの結果から、SIRT1 は SASP 因子のプロモーター領域に結合しヒストンの脱アセチル化を介して SASP 因子の発現を抑制しているが、細胞老化に伴いプロモーター領域から解離することで SASP 因子の発現を引き起こすことが示唆された。

Hayakawa T, Iwai M, Aoki S, Takimoto K, Maruyama M, Maruyama W, Motoyama N. SIRT1 suppresses the senescence-associated secretory phenotype through epigenetic gene regulation. PLOS ONE 10(1): e0116480, 2015.

病態制御研究室：龍 訥、能勢 弓、南山 誠  
長寿関連遺伝子 FOXO3 を用いたレビー小体病モデルの開発と治療・  
予防に有効な食品および天然化合物の開発

レビー小体型認知症、パーキンソン病(PD)を代表とするレビー小体病(Lewy body disease (LBD))は、神経伝達の改善を図ることで症状の緩和が可能となってきたが、他の神経変性疾患同様、細胞の変性や死を抑止する治療はまだ実現されていない。当研究室では、LBD の病態解明と細胞治療法の開発のために重要な疾患モデルの開発を行ってきた。現存するモデルは MPTP などの神経毒物による薬剤誘発モデルと alpha-synuclein ( $\alpha$ -syn) など病因関連遺伝子の改変導入モデルがあるが、これらは LBD を完全に再現するものではなく、神経変性疾患の強力な発症進行因子であるはずの加齢が考慮されていない。そこでわれわれは、孤発性および一部の遺伝性 PD の関連遺伝子であり Lewy 小体の主成分でもある  $\alpha$ -syn を導入し、そこに長寿関連遺伝子 FOXO3 の発現低下を加味した新たな LBD モデルを開発してきた。FOXO3 は Insulin / IGF signaling の下流にある遺伝子で、酸化ストレス、オートファジー、アポトーシスなど多彩な作用に関わる転写因子であり、PD 患者剖検脳でのレビー小体との共在の報告から LBD 発症に何らかの役割を果たしている可能性が示唆されている。

LBD モデル細胞として  $\alpha$ -syn を強制発現させた SH-SY5Y (SH-syn)を用い、FOXO3 を siRNA にて発現低下させた

ときの影響を検討した。Cell viability の低下、LDH release の上昇を認め、SH-syn は対照と比較し FOXO3 の発現低下に脆弱であることが示された。FOXO3 の機能低下による細胞障害の機序について探索したところ、オートファジーの機能低下、p62 の発現低下が一要因であることが判明した。また、酸化ストレスについても検討したところ、FOXO3 の発現低下によりグルタチオンの酸化比率の上昇を確認したが、MnSOD やニトロチロシンの関与は認められなかった。

現在、 $\alpha$ -syn トランスジェニック、Foxo3 ノックアウトの各マウスの交配による新たな LBD モデルを作成し、表現型の評価を行っている。開始時の 6 週齢において rotarod の学習が有意に拙劣で、学習記憶障害を示唆する所見が得られている。運動機能障害については、PD モデルの障害の指標として知られている pole test において反応遅延が認められ、経時的な変化について観察が必要である。今後、病理生化学的評価を行い、LBD モデルとしての妥当性について検討を行う予定である。

また、食品成分であるウコンの活性代謝産物、tetra -hydrocurcumin の神経細胞に対する酸化ストレス予防効果について、活性化が確認された作用経路を中心にその薬理作用について引き続き検討を行っている。

## 研究業績（加齢健康脳科学研究部）

### I.論文発表

#### 1.原著

Hayakawa T, Iwai M, Aoki S, Takimoto K, Maruyama M, Maruyama W,  
Motoyama N:

SIRT1 suppresses the senescence-associated secretory phenotype through epigenetic gene regulation.

**PLOS ONE** 10(1): e0116480, 2015.

Wu Y, Karumura K, Maruyama W, Osawa T, Naoi M:

Rasagiline and selegiline suppress calcium efflux from mitochondrial permeability transition pore: a novel anti-apoptotic function for neuroprotection.

**J Neural Transm**, in press

Johmura Y, Shimada M, Misaki T, Naiki-Ito A, Miyoshi H, Motoyama N, Ohtani N, Hara E, Nakamura M, Morita A, Takahashi S, Nakanishi M:

Necessary and sufficient role for a mitosis skip in senescence induction.

**Mol Cell** 55: 73-84, 2014.

#### 2.総説

Naoi M, Riederer P, Maruyama W:

Modulation of monoamine oxidase (MAO) expression in neuropsychiatric disorders: genetic and environmental factors involved in type A MAO expression.

**J Neural Transm**, in press

Maruyama W, Shaomoto-Nagai M, Kato Y, Hisaka S, Osawa T, Naoi M:

Role of lipid peroxide in the neurodegenerative disorders.

**Subcell Biochem** 77:127-36, 2014.

#### 3.著書

丸山和佳子、永井雅代、山岡朗子：クルクミン誘導体、とくにテトラヒドロクルクミンによる寿命延長効果「食品と疾病—クルクミン」Functional Food, フ

ジメディカル出版, 印刷中

本山 昇:「7章 DNA と老化」、石井直明、丸山直紀編、老化の分子生物学、その分子メカニズムから寿命延長まで、化学同人、p115-133, 2014.

#### 4.その他

#### 5.新聞・報道,等

#### 6.特許申請、取得状況

### II.学会・研究会等発表

#### 1. シンポジウム、特別講演

#### 2. 国際学会発表

Maruyama W, Shamoto-Nagai M, Naoi M, Hisaka S, Osawa T, Minamiyama M, Motoyama N

Role of lipid peroxide derived from PUFA in the conformational change of alpha-synuclein and cell death in Parkinson disease.

Society for Neuroscience , Nov. 15-19, 2014, Washington DC

Wu Y, Kazumura K, Osawa T, Maruyama W, Naoi M

Rasagiline prevents calcium release and apoptosis by opening mitochondrial permeability transition pore; Assayed by a novel measurement for cytoplasmic calcium.

Society for Neuroscience , Nov. 15-19, 2014, Washington DC

Shamoto-Nagai M, Naoi M, Osawa T, Motoyama N, Minamiyama M, Maruyama W

DHA induces the dysfunction of cellular proteolysis system and the formation of alpha-synuclein aggregates in SH-SY5Y cells.

Society for Neuroscience , Nov. 15-19, 2014, Washington DC

Long N, Kurokawa-Nose Y, Minamiyama M, Motoyama N, Shamoto-Nagai M, Ibaraki K, Hayakawa T, Yamada H, Kanamori K, Yamaoka A, Naoi M,

Maruyama W

The Involvement of Longevity-Related Gene, FOXO3, in the Lewy Body Disease Model.

Society for Neuroscience, Nov. 15-19, 2014, Washington DC

Motoyama N, Hayakawa T, Iwai M, Aoki S, Maruyama W.

SIRT1 epigenetically regulates DNA damage-initiated pro-inflammatory response.

Molecular Biology of Aging, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, October 1, 2014, Cold Spring Harbor, NY, USA.

Ibaraki K, Sawada M, Sawamoto K, Minamiyama M, Maruyama W, Motoyama N.

Chk2 maintains neural stem cell pool in mouse adult hippocampus during aging.

44<sup>th</sup> Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience2014), Nov 17, 2014, Washington DC, USA

### 3. 国内学会発表

山岡朗子、永井雅代、南山誠、長屋政博、鷺見幸彦、丸山和佳子

鶏肉由来ジペプチド、カルノシンによる高齢者認知症に対する介入研究の試み

第55回日本神経学会学術大会 2014年5月22日 福岡

永井雅代、日坂真輔、大澤俊彦、直井信、南山誠、本山昇、丸山和佳子

alpha-synuclein は細胞内の活性酸素産生を低下させ、タンパク分解系を活性化することで神経細胞を保護している

日本生化学会大会 2014年10月16日 京都

永井雅代、直井信、大澤俊彦、丸山和佳子

alpha-synuclein 過剰発現細胞では脂質過酸化ストレス下でタンパク分解系が活性化する

日本神経化学会 2014年9月29日 奈良

南山 誠、龍 訥、能勢 弓、本山 昇、永井雅代、茨木京子、早川智久、山田洋美、金森久美子、直井 信、丸山和佳子

レビー小体病モデル細胞における長寿関連遺伝子FOXO3の病態機構

第55回日本神経学会学術大会 2014年5月24日 福岡

Minamiyama M, Long N, Kurokawa-Nose Y, Motoyama N, Shamoto-Nagai M, Ibaraki K, Hayakawa T, Yamada H, Yamaoka A, Naoi M, Maruyama W

The downregulation of longevity-related gene, FOXO3 induces the neurodegeneration of the Lewy body disease model cells.

第37回日本神経科学大会 2014年9月13日 横浜

龍 訥、南山 誠、能勢 弓、本山 昇、永井雅代、茨木京子、早川智久、山田洋美、金森久美子、直井 信、丸山和佳子

長寿関連遺伝子FOXO3のレビー小体病発症における役割の解析

第37回日本分子生物学会年会 2014年11月26日、横浜

Hayakawa T, Iwai M, Aoki S, Maruyama W, Motoyama N.

SIRT1 epigenetically regulates senescence-associated secretory phenotype during cellular senescence.

第 37 回日本基礎老化学会大会、2014 年 6 月 26-27 日、大府

Ibaraki K, Sawada M, Sawamoto K, Minamiyama M, Maruyama W, Motoyama N.

Chk2 deficiency accelerates neural stem cell aging in the adult mouse hippocampus.

第37回日本神経科学大会、2014年9月13日、横浜

Long N.

The role of longevity-related gene, FOXO3 in the progress of Lewy body diseases.

第 7 回 NAGOYA グローバルリトリート 2015 年 2 月 13 日、大府

#### 4. その他、セミナー等

### III.競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省

#### 2. 文部科学省

丸山和佳子（分担）300万円

科学研究費補助金、基盤研究（A）

「アルキルアミド型付加体をプローブとした脳内老化評価システムの確立と応用」



本山 昇, (代表) 120 万円

科学研究費補助金、基盤研究 (C)

「老化・代謝制御因子 SIRT1 による細胞老化制御メカニズムの解明」

本山 昇, (分担) 150 万円

次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム (P-DIRECT)

「幹細胞ストレス応答シグナル制御によるがん根治療法の開発における FOXO 活性調節制御機構の解明と化合物探索」

### 3. 財団、その他

内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム

丸山和佳子 (分担) 300 万円

「ホメオスタシス維持機能をもつ農林水産物・食品中の機能性成分多視点評価システム開発と作用機序の解明」

## 運動器疾患研究部

### (1) 構成員

部長 池田 恭治

室長

骨代謝制御研究室 竹下 淳

骨細胞機能研究室 渡邊 研

流動研究員

松岡 和彦

M. Motiur Rahman

研究・事務補助員

鈴木 三恵

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要

近年、骨代謝を実行する破骨細胞と骨芽細胞の間を連携するシグナル分子に注目が集まっている。我々は、骨吸収から骨形成へのカップリング機構が骨リモデリングの基本原理であり、加齢による骨構造・機能の破綻もカップリング機能の低下が主因であると考え、破骨細胞から分泌される液性因子に焦点を絞ってカップリング因子の同定と機構解明を行ってきた。その成果として、遺伝子発現解析から *Cthrc1* を (Takeshita S et al. J Clin Invest 2013)、生化学的アプローチによって補体成分の C3a を同定した (Matsuoka K, Takeshita S et al. J Bone Miner Res 2014)。なかでも *Cthrc1* は破骨細胞が骨を吸収している最中に分泌され、細胞外カルシウムによってその遺伝子発現が誘導されるという特性を有している。竹下室長らは *Cthrc1* と結合す

る膜タンパク分子を同定し、細胞内シグナル伝達から作用メカニズムの解析も進んでいる。この作用を強めることによって、老化によるカップリング機能の低下を防ぐような手立てが生まれる可能性がある。

骨リモデリングの制御機構として、我々はいち早く骨細胞 *osteocyte* に注目し、石灰化した骨基質に埋め込まれた骨細胞が、骨の表面で骨代謝の実行にあたる破骨細胞や骨芽細胞の活性を制御することによって骨代謝全体を司令・統合するとの仮説を提唱した (Cell Metabolism 2007)。骨細胞の機能不全は加齢のみならずさまざまな病態に関与していることが判明しつつある。我々が作製した腎不全のモデルラットでは、骨細胞数の減少と、その特異的産物である SOST の上昇が観察され、これに炭酸ランタンを投与してリン過剰状態を是正すると、SOST 発現の上昇を緩和するとともに、低下した骨形成を改善し、とくに皮質骨に対して顕著なアナボリック作用を発揮することを見出している。透析の進歩によって腎不全患者の寿命は格段に伸びる一方で、高齢患者での骨折が問題になっているなか、腎不全病態における骨細胞の役割が明らかになることで新たな治療戦略の開発へつながるかもしれない。

麓 敏雄、池田 恭治

## 慢性腎臓病の骨代謝異常とリン吸着性ランタンの意義

### 【研究の背景】

慢性腎臓病（CKD）にはミネラル・骨代謝異常が合併するが、透析による延命によって高齢の CKD 患者が増加するにつれて、骨粗鬆症や骨折が大きな問題となっている。

CKD に伴うミネラル・骨異常の中心に高リン血症と FGF-23 の上昇があり、リンを効率良く吸着する炭酸ランタンはこれらの生化学異常の是正に効果があることが知られているが、骨代謝そのものへの影響についてはあまり正確な知見がない。

### 【目的】

CKD に伴う低回転・低骨形成型骨粗鬆症における炭酸ランタンの効果を動物実験で検証する。

### 【方法】

SD ラットで、5/6 腎摘（片側腎と対側の 2/3 切除）によって腎機能低下モデルを作製した。炭酸ランタンは食餌中に混合して（2% w/w）8 週間投与した。ミネラル・骨代謝に対する内因性 PTH の変動の影響を除外するために、実験開始前に甲状腺とともに副甲状腺を摘除し、皮下に移植した osmotic minipump から生理量の PTH を外因性に持続的に補充した。血清・尿の生化学検査、マイクロ CT による骨の 3 次元解析（長崎大学 伊東昌子教授に依頼）、骨形態計測の解析を行った。本研究は、バイエル薬品からの受託研究

として行った。

### 【結果】

炭酸ランタンの投与は、腎機能低下そのものには影響しなかったが、予想どおり尿中へのリンの排泄を顕著に抑制し高リン血症を改善した。腎機能低下に伴う PTH の上昇を抑えることにより、骨代謝回転が抑えられ、腰椎海綿骨における形態計測の結果、骨形成の抑制と骨吸収の低下が確認された。炭酸ランタンの投与により、骨形成が有意に回復し、骨吸収もさらに低下する傾向が認められた。炭酸ランタンのアナボリック作用は皮質骨で顕著であり、皮質骨量も回復した。炭酸ランタンによって、骨細胞の細胞死の抑制と上昇した SOST 遺伝子発現の回復が見られた。

### 【結論】

腎不全患者に投与される炭酸ランタンは、高リン血症の是正だけではなく、低骨形成型骨粗鬆症にも有効であり、とくに皮質への作用は骨折防止に寄与する可能性がある。

### 【論文発表】

Fumoto T, Ito M, Ikeda K: Lanthanum carbonate stimulates bone formation in a rat model of renal insufficiency with low bone turnover. **J Bone Miner Metab** 32: 484-493, 2014

松岡和彦、鈴木三恵、竹下 淳

## 破骨細胞が分泌し骨芽細胞に働くカップリング因子 Cthrc1 の作用機構とシグナル伝達経路の解析

### 【研究の背景】

骨粗鬆症をターゲットとしたこれまでにない創薬開発を目的として、破骨細胞から骨芽細胞へのカップリング機構に着目し、カップリング因子の同定と機能解明により新規治療薬の開発を目指している。我々が独自に同定したカップリング因子 Cthrc1 の受容体を含めたシグナル伝達機構の解明を試みた。

### 【目的】

Cthrc1 の細胞膜結合分子を骨芽細胞株の膜タンパクから生化学的に精製し、それを介したシグナル伝達機構を解明することにより創薬開発に応用する。

### 【方法】

骨芽細胞株 ST2 細胞の膜画分からリコンビナント Cthrc1 に結合するタンパクを分離・精製し、LC-MS/MS を用いて結合分子を同定した。さらに、同定した膜タンパクの機能解析と Cthrc1 刺激によるシグナル伝達機構の解析を行った。

### 【結果】

Cthrc1 の結合分子として細胞膜 1 回貫通の 5T4/Waif1 を同定した。Waif1 は Cthrc1 と同様に骨と脳に発現特異性を認めた。免疫沈降法により Cthrc1 は Waif1 と直接結合することがわかった。ST2 細胞で shRNA を用いて Waif1

をノックダウン (KD) すると Cthrc1 に対する結合能は低下し、Cthrc1 刺激による ALP 活性上昇も消失した。Cthrc1 は Wnt シグナルを制御することが報告されているので Wnt シグナルとの関連性を調べたところ、Cthrc1 は Waif1 を介して PKC $\delta$  と ERK を活性化することで骨芽細胞分化を促進することが明らかとなった。そこで、現在 Waif1 の生体内における機能を解明するために Osx1-cre マウスとの交配により骨芽細胞特異的 cKO マウスを作出し機能解析を行っている。

【結論】Cthrc1 に結合する膜タンパクとして Waif1 を同定し、Waif1 を介して PKC $\delta$  と ERK を活性化し骨芽細胞分化が促進されることが明らかになった。

### 【論文発表】

Matsuoka K, Park K, Ito M, Ikeda K, Takeshita S: Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. **J Bone Miner Res** 29: 1522-1530, 2014  
Takeshita S, Fumoto T, Naoe Y, Ikeda K: Age-related marrow adipogenesis is linked to increased expression of RANKL. **J Biol Chem** 289: 16699-16710, 2014

## 腰部脊柱管狭窄症黄色靱帯のプロテオーム解析

腰部脊柱管狭窄症（LSS）は、腰椎脊柱管が狭小化することで馬尾や神経根を圧迫し、間欠跛行などの神経症状を呈する高齢者に好発し、ADL を著しく低下させる運動器疾患である。脊柱管の狭窄要因としては、主に黄色靱帯の変性肥厚（靱帯性）とそれ以外の狭窄要因（非靱帯性：脊柱管周囲の骨の変形など）があるが、十分な分子病態の理解には至っておらず、外科的手術による狭窄圧の除去以外にエビデンスで支持された治療法の選択肢は限られている。そこでLSSの主因の一つであると考えられている黄色靱帯変性肥厚に着目し、疾患に関与する黄色靱帯変性関連分子群の同定と分子レベルでの靱帯変性機構の検討を行った。

当センター倫理・利益相反委員会の承認のもと、LSS手術により除去された黄色靱帯をバイオバンクより提供受け、2-Dimensional Image Converted Analysis of LC-MS（2DICAL）法を用いたプロテオーム解析を行い、疾患群と対照群で増減を示す蛋白質の抽出を行った。対照群としては、腰部椎間板ヘルニア手術により除去される非変性黄色靱帯を用いた。

顕著な増減を示す蛋白質は主に細胞外マトリックス分子であり、弾性線維組織から変性・肥厚への変遷プロファイルを反映するものと考えられた。その中でも疾患群で有意に増加していたFINC、HTRA1、TENAならびに減少していたASPNについてはMRM法により定量解析を行い、臨床画像計測データとの解析から靱帯の厚さと相関していることを見いだした。これらのタンパク質全てがTGF $\beta$ シグナルと関係があり、TGF $\beta$ シグナル亢進の分子病態が推測された。HTRA1と、疾患群で低下していたMFAP4について共発現系を用いて相互作用解析を行ったところ、HTRA1の発現量の増加に依存してMFAP4の発現量が減少した。一方、HTRA1の活性中心であるSer328をAlaに置換したプロテアーゼ活性欠損変異体ではMFAP4の減少が見られなかったことから、HTRA1の酵素活性がMFAP4の減少に寄与している可能性が考えられた。疾患群で減少していたFBLN5同様、MFAP4は弾性線維形成に重要な分子であり、HTRA1の発現亢進によるMFAP4やFBLN5の分解が、LSS黄色靱帯における弾性線維の変性に関与する可能性を示唆している。

## 研究業績（運動器疾患研究部）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Fumoto T, Takeshita S, Ito M, Ikeda K:

Physiological functions of osteoblast lineage and T cell-derived RANKL in bone homeostasis.

**J Bone Miner Res** 29: 830-842, 2014

Fumoto T, Ishii K, Ito M, Berger S, Schutz G, Ikeda K:

Mineralocorticoid receptor function in bone metabolism and its role in glucocorticoid-induced osteopenia.

**Biochem Biophys Res Commun** 457: 407-412, 2014

Kaneko K, Ito M, Naoe Y, Lacy-Hulbert A, Ikeda K:

Integrin  $\alpha v$  in the mechanical response of osteoblast lineage cells.

**Biochem Biophys Res Commun** 447: 352-357, 2014

Takeshita S, Fumoto T, Naoe Y, Ikeda K:

Age-related marrow adipogenesis is linked to increased expression of RANKL.

**J Biol Chem** 289: 16699-16710, 2014

Matsuoka K, Park K, Ito M, Ikeda K, Takeshita S:

Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. **J Bone Miner Res** 29: 1522-1530, 2014

Fumoto T, Ito M, Ikeda K:

Lanthanum carbonate stimulates bone formation in a rat model of renal insufficiency with low bone turnover.

**J Bone Miner Metab** 32: 484-493, 2014

#### 2. 総説

池田 恭治 :

骨リモデリングの制御機構

日本臨床増刊号 “最新関節リウマチ学” 27: 112-115, 2014

竹下 淳 :

骨吸収から骨形成へのカップリング

実験医学増刊号“骨代謝制御—そのメカニズムと最新治療” 32: 126-132,  
2014

池田 恭治 :

レニン-アルドステロン系と骨代謝

CLINICAL CALCIUM 特集“ホルモン、サイトカインと骨” 24: 83-89,  
2014

Ikeda K, Takeshita S:

Factors and mechanisms involved in the coupling from bone resorption to  
formation: how osteoclasts talk to osteoblasts.

**J Bone Metab** 21: 163-167, 2014

3. 著書

4. その他

5. 新聞・報道,等

6.特許申請、取得状況

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Ikeda K :

PTHrP to bone cell biology.

AEB Metabolism Symposium 4 月 4 日 Yale University, USA

Ikeda K :

What it takes to be an osteoclast.

Daegu Univ Seminar 5 月 29 日 Daegu, Korea

Ikeda K : How osteoclasts talk to osteoblasts. Second Asia-Pacific Bone and  
Mineral Research Meeting 5 月 31 日 Soel, Korea

Takeshita S:

Osteoclast-secreted Coupling Factors.

第 11 回 Bone Biology Forum 8 月 23 日 三島

池田 恭治:

体液調節系と骨代謝

第 2 回臨床骨ネットワーク研究会、2 月 15 日、東京

## 2. 国際学会発表

Matsuoka K, Ikeda K, Takeshita S:

Osteoclast-derived coupling factor Cthrc1 stimulates osteoblast differentiation through Rac1/PKCδ/ERK.

The 36th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 9 月 15 日 Houston, Texas

## 3. 国内学会発表

## 4. その他、セミナー等

## Ⅲ.競争的資金獲得実績

### 1. 厚生労働省

### 2. 文部科学省

池田恭治（代表） 1,521 万円（総額 1,521 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

竹下 淳（代表） 182 万円（総額 182 万円）

挑戦的萌芽研究 破骨細胞の骨基質認識に関わる遺伝子群の網羅的機能解析

### 3. 財団、その他

竹下 淳（代表） 300 万円（総額 300 万円）

公益財団法人 大幸財団 平成 26 年度自然科学系学術研究助成

新しい骨代謝制御機構解明に関する研究

竹下 淳（代表） 100 万円（総額 100 万円）

公益財団法人 鈴木謙三記念医科学応用研究財団 第 34 回調査研究助成金



新しい骨代謝制御機構の解明と新規骨粗鬆症治療薬開発への応用

松岡和彦（代表） 340 万円（総額 340 万円）

上原記念生命科学財団 平成 26 年度上原記念生命科学財団海外留学助成金  
骨肉腫の発症機構の解明

## 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 倉谷 麻依

事務補助員 加藤 記代美

### (2) 平成 26 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）。

当研究部は、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ため、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さねばならなかった。以後、在籍したメンバーの不断の努力によって、研究基盤の整備が進んだ。その結果、平成 22 年の独立行政法人化時には、日常的な研究に関する限りは、かなり自由に実施できる環境を整えることができた。

平成 26 年度は、再生再建医学研究部設立 10 年目にあたる、節目の年であった。当研究部は、以下の課題を中心に研究を進めた。

- ① ヒト筋細胞の特性解明：マウス筋細胞との比較解析
- ② 骨格筋の加齢変化に関する解析
- ③ 加齢に伴うゲノムメチル化の解析

平成 26 年度の研究進捗状況は、論文発表に関しては、まだまだ満足できるレベルに達したとは言えない。しかし、上住室長、下田室長らの積年の努力の結果が、着実に論文として目に見える形になったことは、素直に喜ばしい。

上住室長の加齢に伴うマウス骨格筋の研究は、8 年余りに渡るプロジェクトであり、本年度 Stem Cells 誌に掲載が決まった論文の成果は、その一部に過ぎない。その陰には、まだ膨大なデータの蓄積があり、それらについても、今後、続報として発表されることを期待したい。

下田室長の DNA メチル化に関する論文(PLoS ONE 誌)は、有名専門誌(Cell 誌)に報告された論文の結果が、その通りには再現されないことを示したものである。既に百花繚乱の感さえある、エピジェネティック研究であるが、この分野においては、未だ研究基盤に不確定な部分があることを端的に指摘し、警鐘を鳴らしたものと言えよう。

また、下田室長が昨年度から着手した「DNA メチル化を指標としてアルツハイマー病の早期診断法の開発をめざす研究」は、当センター内の認知症研究者から高い評価を受け、平成 26 年度から、開発研究費に採択された。ゲノムのメチル化状態をアルツハイマー病のバイオマーカーとして意義づけることができるか、今後の解析に

期待したい。

当センター病院（泌尿器科、整形外科）および外部研究機関（国立がん研究センター、国立循環器病研究センター、京都大学、徳島文理大学、熊本大学、神戸学院大学、大阪大学、カリフォルニア大学など）との共同研究については、確実に研究成果が得られており、一部については、平成 26 年度に論文発表に到った。研究成果は、確実に結実しつつある。特に橋本らが確立した不死化ヒト筋細胞については、その有用性が、国内外の研究者に次第に認められるようになってきた。開発者としては、日本発の「ヒト筋前駆細胞の標準株」として、国内外を問わず、広く筋細胞研究に用いられることを望んでいる。今後は、公的細胞バンクを通じて、世界中の研究者に自由に供与可能な状況を作りたいと考えている。

平成 27 年度は、再生再建医学研究部の次なる 10 年の幕開けになる。研究部員一同、今一度気持ちを引き締め、新たな気概を持ってスタートをきる所存である。

再生再建医学研究グループ：  
橋本有弘、倉谷麻依

未分化筋細胞の種特異性に関する研究：  
マウス未分化筋細胞の増殖制御機構

代表的な遺伝性筋疾患ディシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、筋線維に発現するジストロフィン遺伝子の変異を原因とする劣性遺伝病である。DMD における筋萎縮は、筋線維細胞膜が障害を受け、筋線維が壊死することによって生じる。ジストロフィン遺伝子の変異は、ヒトでは重篤な進行性筋萎縮症の発症をもたらすのに対し、同じ遺伝子変異を持つ *mdx* マウスは、全く筋萎縮を示さない。*mdx* マウスの骨格筋を病理学的に解析すると、中心核線維とよばれる再生筋線維が認められることから、*mdx* マウスにおいても筋線維の壊死は起こるものの、筋再生がそれを補う結果、筋萎縮が進行しないものと考えられている。この事実、DMD の発症には、原因である遺伝子変異に加えて、ヒト筋再生機構に固有の性質が深く関わっていることを示唆している。

マウスおよびラットが、ヒトに比べて著しく高い筋再生能力を有することは、経験的に広く認知されている。しかし、ヒトの筋再生能力を実験的に検討することはできないため、ヒトとマウスの筋再生能力の違いが生じる原因および機序については、未だ不明である。我々は、筋再生能力の種間差が生じる機序を分子細胞レベルで解

明することを端緒として、ヒト骨格筋再生機構の特性およびそれに固有の制御機序を明らかにしようと考えた。ヒト骨格筋の特性解明は、DMD のみならず、高齢者におけるサルコペニアなどの筋疾患および身体的フレイルに対する予防法および治療法開発の新たな基盤となることが期待できる。

筋再生は骨格筋特異的組織幹細胞である筋サテライト細胞に依存している。筋サテライト細胞の子孫であるマウス未分化筋細胞（筋前駆細胞、筋芽細胞）の分裂速度は、ヒト未分化筋細胞に比べて速いことが知られており、この高い増殖能力は、マウスにおける筋再生能力を支える要因の一つであると考えられる。

我々は、独自に樹立したマウス未分化筋細胞クローン Ric10 の細胞分裂周期を、Time-Laps ビデオ撮影を用いて、各細胞を追跡し、細胞分裂の間隔を直接計測した。その結果、ヒト未分化筋細胞の細胞分裂周期は 24-28 時間であるのに対し、マウス未分化筋細胞の分裂速度は非常に速く、10-16 時間ごとに細胞分裂を繰り返すことがわかった。このマウス未分化筋細胞の分裂速度は、マウス ES 細胞に匹敵する。

マウス未分化筋細胞の増殖は、市販の増殖因子混合物 (Biosepra,

Ultroser G) に強く依存しており、Ultroser G を培養液に添加しない場合、細胞増殖は著しく低下した。しかし、ヒト未分化筋細胞で見られたような、細胞周期の G1 期における停止(いわゆる G1-arrest) は認められず、全ての細胞が増殖分裂していることが、Time-Laps ビデオ解析および核酸アナログ EdU の長期標識実験から明らかになった。Ultroser G 欠損培養液中で培養すると、細胞周期は約 23 時間に延長した。G1 期から S 期への進行は、G1 チェックポイント機構とよばれる分子機構によって制御されている。上記の結果は、ヒト未分化筋細胞とは異なり、マウス未分化筋細胞では、Ultroser G の作用がなくても G1 チェックポイント機構が活性化されない(されにくい)ことを示している。

ヒト未分化筋細胞および線維芽細胞など、様々な細胞において、酸化ストレスが G1-arrest を誘導することが報告されている。マウス未分化筋細胞に G1-arrest を誘導するため、低濃度の過酸化水素に曝露したところ、細胞増殖は著しく抑制された。しかし、DNA 合成は抑制されず、G1-arrest は誘導されなかった。Time-Laps ビデオ解析の結果、酸化ストレスに曝露されたマウス未分化筋細胞には、明確な細胞周期の停止が認められなかった。しかし、G2 期の遅滞とそれに続く細胞分裂の異常が認められた。これは、mitotic catastrophe とよばれる現象のひとつであり、ヒト未分化筋細胞では全く見られなかった。

以上の結果は、マウス未分化筋細胞では、マウス ES 細胞と同様に、G1 チェックポイント機構が欠けている(あるいは活性化されにくい)ことを示している。ヒトの筋再生能力がマウスに比べて低い原因のひとつは、未分化筋細胞の増殖速度が遅いためであると考えられる。

本研究の結果から、実験動物(マウス)を用いて得られた結果を、ヒト筋疾患に対する予防法および治療法の開発に発展させるためには、ヒト筋細胞およびヒト筋再生機構の特性解明が必須であると考えられる。

#### 参考文献

1. Hashimoto, N, et al.  
Immortalization of human myogenic progenitor cell clone retaining multipotentiality.  
**Biochem Biophys Res Commun** 348(4): 1383-1388, 2006.
2. Wada, MR, et al.  
Generation of different fates from multipotent muscle stem cells.  
**Development**, 129(12): 2987-2995, 2002.
3. Hashimoto, N, et al.  
Osteogenic Properties of Human Myogenic Progenitor Cells.  
**Mech Dev**, 125 : 257-269, 2008.
4. Shiomi, K., et al.  
Cdk4 and cyclin D1 allow human myogenic cells to recapture growth

property without compromising differentiation potential.

**Gene Therapy** 18:857-866, 2011.

5. Shiomi, K., et al.  
Differential Impact of the Bisphosphonate Alendronate on Undifferentiated and Terminally Differentiated Human Myogenic Cells.  
**J Pharmacy Pharmacol.** 66:418-427, 2013.

6. Zeng, W., et al.  
Genetic and epigenetic characteristics of FSHD-associated 4q and 10q D4Z4 that are distinct from non-4q/10q D4Z4 homologs.  
**Hum Mutat**, 35(8):998-1010, 2014.

7. Ogawa, R. et al.  
Doublecortin marks a new population of transiently amplifying muscle progenitor cells and is required for myofiber maturation during skeletal muscle regeneration  
**Development** 142(1): 51-61, 2014.

## 細胞再生研究室：上住 円

### Pro-IGF-II 補充による老化骨格筋再生能力改善効果の検討

サルコペニア（加齢に伴う筋肉量および筋機能の低下）は高齢者に転倒や骨折のリスクを増加させ、それらに伴う筋損傷からの速やかな回復はフレイルや要介護状態への進行を防ぐために必須である。成体筋組織の再生は、骨格筋特異的な幹細胞である筋衛星細胞が担っているが、我々は、加齢に伴う筋再生能力の低下が、筋衛星細胞自体の質の劣化より、骨格筋内環境の悪化が原因であることを明らかにしている。そこで、このような環境因子を同定するため、老化マウス（24-30ヶ月齢）と若齢マウス（2-3ヶ月齢）の再生過程骨格筋組織を用いてサイトカイン抗体アレイ解析を実施し、老化で発現減少していたIGF-IIに着目した。ウエスタンブロットによる発現確認から、IGF-IIは筋損傷により誘導され、再生過程骨格筋では mature IGF-IIではなく pro-および big-IGF-IIが発現していることが分かった。そして、老化によりその発現誘導が遅れるだけでなく絶対量も減少していることが明らかとなった。そこで、老化マウスに pro-IGF-II を補充することにより筋再生能力が改善されるかどうか調べた。浸透圧ポンプを用いて筋損傷4日目から7日間 pro-IGF-II を持続投与した。pro-IGF-II 投与老化マウスではコントロール老化マウスに比べ、壊死線維の顕著な減少や再生筋線維数の有意な増加が見られ、組織像の改善が認

められた。また、これらは pro-IGF-II による筋衛星細胞増殖促進や血管新生促進、間葉系前駆細胞の異所性脂肪分化抑制効果のためであることを明らかにしている。さらに、この間葉系前駆細胞の脂肪分化抑制は mature IGF-II では見られず、pro-IGF-II に特異的な効果であることも見出した。以上の結果から、pro-IGF-II の補充は老化骨格筋損傷に対する有効な治療法の一つとなりうることが示唆された。

## 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

高齢者疾患最大のリスクファクターは加齢といわれ、加齢に伴う何らかの生体内分子の構造変化が高齢者疾患の下地を作ると予想される。組織・器官の暦年齢を反映するバイオマーカーの中には高齢者疾患の発症前診断に役立つものが含まれると予想され、またそのようなバイオマーカーから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。その候補の一つが DNA のメチル化で、最近ではヒトの血液 DNA からその人の年齢をかなり正確に算出できるようにまでなった。私は加齢に伴うメチル化レベルの変化をゼブラフィッシュにおいて解析し、これまでの研究からゼブラフィッシュゲノムにおいて「CpG アイランドショア」と名付けられた限られた領域が加齢依存的に低メチル化することがわかり、DNA メチル化が魚類においてもエイジングのバイオマーカーになり得ることを確認した。

結果及び考察

本年度は以下の 2 項目を行った。

(1) ゼブラフィッシュの加齢に伴う DNA メチル化の減少のメカニズム

2008 年の Cell 誌にゼブラフィッシュの脱メチル化に AID、MBD4、GADD45 という三つの因子が協調した脱メチ

ル化機構の報告があり、その再現実験を試みたが予想に反してその論文のほとんどすべての結果が再現できず、その報告が誤りであると結論し、報告した (PLoS ONE, 2014)。したがって加齢に伴う DNA メチル化の減少にはこれらの因子に依らない経路が関与していると考えられた。

(2) アルツハイマー病のエピジェネティック診断法の開発

加齢変化する DNA メチル化部位の中にはアルツハイマー病の発症とリンクしたものが含まれるのではないかとする仮説に基づき、NCGG バイオバンクよりアルツハイマー病患者及び高齢健常人の血液 DNA を入手した。今後、二つのサンプル間でのメチル化レベルを比較する予定である。メチル化レベルが、健常人集団にくらべ罹患者集団の方で有意に変化している領域が同定できれば、血液 DNA のメチル化解析によるアルツハイマー病早期診断法の開発への手がかりを見いだせると期待している。

参考文献

Shimoda, N., et al. No evidence for AID/MBD4-coupled DNA demethylation in zebrafish embryos. **PLoS ONE**, 9(12):e114816, 2014..



## 研究業績（再生再建医学研究部）

### I. 論文発表

#### 原著

Ogawa, R., Ma, Y. Yamaguchi, M., Ito, T., Watanabe, Y., Ohtani, Satoshi Murakami, Shizuka Uchida, Piera De Gaspari, Akiyoshi Uezumi, Miki Nakamura, T., Miyagoe-Suzuki, Y., Tsujikawa, H., Hashimoto, N., Braun, T., Tanaka, T., Takeda, S., Yamamoto, H. and So-ichiro Fukada :  
Doublecortin marks a new population of transiently amplifying muscle progenitor cells and is required for myofiber maturation during skeletal muscle regeneration  
**Development** 142(1), 51-61, 2015.

Zeng, W., Chen, Y. Y., Newkirk, D. A., Wu, B., Balog, J., Kong, X., Ball, A. R., Jr., Zanotti, S. , Tawil, R. , Hashimoto, N., Mortazavi, A., van der Maarel, S. M., and Yokomori, K.:  
Genetic and epigenetic characteristics of FSHD-associated 4q and 10q D4Z4 that are distinct from non-4q/10q D4Z4 homologs.  
**Hum Mutat**, 35(8), 998-1010, 2014.

Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Yamamoto H, Yamamoto N, Shiomi K, Hashimoto N:  
Pro-insulin-like growth factor-II ameliorates age-related inefficient regenerative response by orchestrating self-reinforcement mechanism of muscle regeneration.  
**Stem Cells**, 2015. *in press*.

Yamakoshi K, Katano S, Iida M, Kimura H, Okuma A, Ikemoto-Uezumi M, Ohtani N, Hara E, Maruyama M:  
Dysregulation of the Bmi-1/p16<sup>Ink4a</sup> pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function.  
**Aging Cell**, 2015. online published.

Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Ikemoto-Uezumi M, Nakatani M, Morita M, Yamaguchi A, Yamada H, Nishino I, Hamada Y, Tsuchida K:  
Identification and characterization of PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> mesenchymal progenitors in

human skeletal muscle.

**Cell Death Dis**, 5: e1186, 2014.

Shimoda, N., Hirose, K., Kaneto, R., Izawa, T., Yokoi, H., Hashimoto, N., Kikuchi, Y :

No evidence for AID/MBD4-coupled DNA demethylation in zebrafish embryos.

**PLoS ONE**, 9(12):e114816, 2014

## 2. 総説

上住 円、上住 聡芳 :

サルコペニア予防のための骨格筋再生.

**Geriat. Med**, 52(4): 407-411, 2014 年

## 3. 著書

橋本有弘

基礎：筋の構造と機能

「ベッドサイドの高齢者運動器の診かた」、48-50, 南山堂, 2014 年

## 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. 国際学会発表

なし。

### 3. 国内学会発表

橋本有弘

ヒト骨疾患における骨格筋幹細胞（筋サテライト細胞）の役割

第 32 回日本骨代謝学会学術集会、7 月 26 日、大阪

川田茂雄、橋本有弘

骨粗鬆症治療薬 Alendronate がマウス骨格筋再生に及ぼす影響

第 69 回日本体力医学会大会、9 月 20 日、長崎

倉谷麻依、橋本有弘

マウス未分化筋細胞の増殖制御機構：ステロイドおよび成長因子応答性の解析  
第 37 回日本分子生物学会年会、11 月 27 日、横浜

川田茂雄、橋本有弘

骨粗鬆症治療薬 Alendronate は、筋再生を阻害する  
第 37 回日本分子生物学会年会、11 月 26 日、横浜

上住 円.

Pro-IGF-II は老化筋再生不良を改善させる.  
第 2 回 若手による骨格筋細胞研究会、11 月 3-4 日.

上住 円、上住聡芳、土田邦博、深田宗一郎、橋本有弘.

Pro-IGF-II の補充による老化骨格筋再生能力改善効果の検討.  
第 14 回 Conference for BioSignal and Medicine (CBSM)、11 月 22-23 日.

上住 円、上住聡芳、土田邦博、深田宗一郎、橋本有弘.

Pro-IGF-II 補充による老化骨格筋再生不良改善効果の検討.  
第 14 回 日本再生医療学会総会、3 月 19-21 日.

下田修義、廣瀬健太郎、菊池裕、橋本有弘

ゼブラフィッシュ胚で AID と MBD4 がカップルした脱メチル化は起こるのか？  
第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、5 月 27 日、東京

下田修義、廣瀬健太郎、井澤俊明、横井勇人、橋本有弘、菊池裕

加齢依存性 DNA 低メチル化における組織再生と 5 ヒドロキシメチルシトシンの関与の可能性  
第 37 回日本基礎老化学会年会、6 月 26 日、愛知

4. その他、セミナー等  
なし。

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

橋本有弘（分担）100 万円

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合）

加齢による運動器への影響に関する研究－サルコペニアに関する包括的検討－

2. 文部科学省

橋本有弘（分担）50 万円（未確定）

科学研究費助成事業（基盤研究 C）

ヒト膀胱平滑筋細胞の不死化に関する研究

上住 円,（代表）130 万円

科学研究費助成事業（若手研究(B)）

サルコペニアの予防法開発を目指した加齢に伴う骨格筋幹細胞数減少機序の解明

3. 財団、その他

橋本有弘（分担）150 万円

国立精神・神経疾患医療研究センター

精神・神経疾患研究開発費.

筋ジストロフィーモデル動物を用いた新たな治療法の開発

下田修義、（代表）400 万円（総額 400 万円）

長寿医療研究開発費

血中 DNA のメチル化を指標としたアルツハイマー病早期診断法の開発

## 口腔疾患研究部

### (1) 構成員

部長 松下 健二

室長

口腔機能再生研究室

口腔感染制御研究室 渡邊 裕

流動研究員

萩原 真

森下 志穂

研究生

加藤 佳子

石田 直之

高田 鮎子

研究補助員・事務補助員

王 静舒

小暮 宏実

池口 智子

奥村 圭子

杉浦 優子

### (2) 平成 26 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 12 名の構成員で研究活動を行っている。当研究部では、高齢者における歯の喪失の問題を血管生物学的、細菌学的、免疫学的、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。また、口腔機能の改善、向上による高齢者の QOL 向上の取り組みを行なっている。

部長研究グループは、歯周病と老年

病との因果関係を明らかにする研究を行い、歯周病がアルツハイマー病の増悪因子になりえることをマウスモデルで明らかにした。

また、口腔細菌が歯周組織あるいは肺組織に持続感染する機序およびその制御機構の一端を明らかにした。加えて、全国 6 校の歯科大学に連携講座を開設し、教育・研究の連携を推進している。さらに、東海地区の大学・企業と連携し、動脈硬化早期診断装置の開発等、産学官で協力して研究開発を行なっている。

口腔感染制御研究室の渡邊裕室長のグループは東京都健康長寿医療センター、名古屋学芸大学、駒沢女子大学と共同で口腔機能の向上と栄養改善による高齢者の食の自立と健康で意欲的な生活基盤の確立を目的とし、全国の地域在住の健康高齢者から介護施設入所の要介護高齢者までを対象とした疫学調査を実施している。特に平成 26 年度は厚生労働科学研究費において介護予防における口腔と栄養の複合プログラムの効果を検証するとともに、老人保健健康増進等事業「介護保険施設における口腔と栄養のサービス連携に関する調査研究事業」で、平成 27 年度介護報酬改定の経口維持加算の充実に関する根拠を提出した。

口腔疾患研究部：松下健二、萩原真、  
王静舒、加藤佳子、石田直之、高田鮎子

## 口腔感染症の制御による健康寿命延伸の試み

### 1. アルツハイマー病の増悪因子としての歯周病の解析

超高齢社会に突入した我が国では認知症患者数は 460 万人を越え、MCI を含めると 800 万人を超えると推計されている。認知症の発症予防・治療法開発は急務であるが、その半数以上を占めるアルツハイマー病 (AD) の根本的な予防・治療法はない。病因分子 A $\beta$  沈着は認知機能の正常な高齢者にも認められること、最近のアミロイド・イメージング研究から、認知機能障害発症前に脳内 A $\beta$  蓄積が出現することが明らかになり、AD を A $\beta$  蓄積の慢性疾患として捉えることが可能となっている。こうした考え方に一致して、近年孤発性 AD の後天的危険因子として糖尿病・脂質異常症や歯周病といった生活習慣病との関連性が指摘されている。我々は、これまで AD 病態形成における歯周病の関与に着目し、脳外に病態の首座を持つ歯周病が脳内 AD 分子病態に関与する可能性についてマウスモデルで検討してきた。その結果、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の接種によって歯周病を発症した APP-Tg マウスにおいて、認知機能が低下するとともに、脳内 A $\beta$  沈着の増加および炎症性サイトカインの増加が認められることを明らかにし、歯周病がアルツハイマー病を増悪する可能性を確認した。加えて、*P.*

*gingivalis* が脳内に移行して、炎症を惹起する可能性が示唆された。本研究成果は、米国サンフランシスコ市で行われた第 100 回米国歯周病学会総会において高く評価され、Basic Research Award と Clinical Impact Award を受賞した。

### 2. 歯周病原細菌等の細胞内侵入機構の解明

歯周病関連細菌 *P. gingivalis* が細胞内へ侵入することにより、様々な細胞機能傷害等を引き起こすとの報告があるが、詳細な細胞内侵入のメカニズムは明らかにされていない。細菌の侵入経路の一つとしてエンドサイトーシスがあり、その早期経路において重要な制御因子である低分子 G タンパク質の Rab5 が知られている。Rab5 には活性型と不活性型が存在し、この活性変化により高度にエンドサイトーシスが制御されている。そこで本研究では、Rab5 に着目し、歯肉上皮細胞内への *P. gingivalis* の侵入機構を検討した。その結果、TNF- $\alpha$  で刺激した歯肉上皮細胞では、同菌の細胞内侵入が増加することが明らかになったが、それには ICAM-1 と Rab5 の活性化が関与していた。すなわち、ICAM-1 中和抗体の投与によって同菌の細胞内侵入が抑制された。また、活性型 Rab5 を発現させた Ca9-22 細胞では、

*P. gingivalis* と Rab5 の共局在を認めた。一方、不活性型変異体を発現させた Ca9-22 細胞では Rab5 と *P. gingivalis* の共局在みられなかった。また、塗抹法により細胞内に侵入した菌数を比較したところ、活性型 Rab5 を発現させた細胞では、不活性型 Rab5 を発現させた細胞に比べ高い値を示した。以上の結果から、*P. gingivalis* の細胞内侵入には、Rab5 と ICAM-1 が関与していることが明らかにになった。

### 3. ファゴサイトーシスによる細菌排除機構の解明

口腔清掃の不良や唾液分泌の低下は口腔内細菌の増加や細菌叢の変化を引き起こし、う蝕、悪化によって歯周病などの口腔疾患を誘発するとともにを発症し、全身における種々の疾患のリスクを高めることが知られている。特に高齢者においては、日常生活活動度の低下による不十分な口腔ケアや加齢による免疫能の低下に伴い日和見菌が増加する。*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) は口腔衛生の悪化に伴って増殖しやすいこのような日和見菌の一種であり、口腔内における細菌であり、歯周病患者の歯垢から検出されることが多い細菌の一つである。近年、歯周病における同菌の増加は高齢者の *S. aureus* の増殖と高齢者の死因上位である肺炎や敗血症などの発症には相関性があることがリスクを高めることが報告されている。また、高齢者施

設における MRSA (多剤耐性黄色ブドウ球菌) の蔓延から対策が喫緊の課題であることは周知のとおりである。一方、生体にはマクロファージなどが細菌を貪食 (ファゴサイトーシス) することによって細菌を除去排除する機構が備わっており、この機構を解明することは、生体の細菌感染に対する自然免疫機能を理解する上で重要である。加えて、同機構を応用した口腔内疾患や肺炎等の新しい予防・治療法を開発できる可能性がある。そこで、本研究ではファゴサイトーシスによる細菌排除機構、特に一酸化窒素 (NO) の関わりについて解析した。マクロファージ様細胞である RAW264 細胞に NO ドナーである GSNO を添加し、ファゴサイトーシスと一酸化窒素 NO との関連性について検討した。その結果、NO の添加によって RAW264 細胞による *S. aureus* のファゴサイトーシスが促進することが明らかとなった。また、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) と Rab5 が結合し、細胞内で共局在することが明らかになった。さらに、NO は Rab5 を s-ニトロシル化することで同分子を活性化し、*S. aureus* のファゴサイトーシスを活性することが示唆された。以上の結果より、一酸化窒素が Rab5 を介してファゴサイトーシスを調節し、マクロファージなどにおける細菌排除能力を上昇させている可能性が示唆された。現在、上記の結果を踏まえて、*S. aureus* 感染マウスモデルを用いて個体レベルでの NO の役割を検討している。

## 口腔感染制御研究室：渡邊 裕

### 健康長寿を達成するための効果的な口腔と 栄養に関する支援法の確立

#### 1. 高齢者の食の自立を守るための口腔と栄養に関する長期介入研究

本事業では平成24年11月から通所介護事業所利用者217名(同意採取者)を対象に口腔機能向上と栄養改善に関して、無作為化比較試験による介入調査を、また特別養護老人ホームの入所者495名(同意採取者)を対象に、「高齢者のための自立摂食維持マニュアル」を用いた介入調査を開始した。

通所介護事業所での調査では、同意が得られた利用者に対して事前調査を行い、無作為に、①口腔機能向上のみ、②栄養改善のみ、③口腔機能向上および栄養改善の複合サービス、④最初の3ヶ月間はいずれのサービスも行わず、3ヶ月後の評価の後から①～③のいずれかのサービスを実施する、の4群に分け介入を行った。

平成26年度は平成24年度からの介入調査を継続している4つの通所事業所の利用者89名に対して平成26年10月に介入開始後2年後の調査を実施し、口腔機能向上と栄養改善の両サービスと、それらを複合的に提供するサービスの長期効果について、比較検討を行った。また、サービス提供のためのツールも前年度作成した手帳を改訂し、運動器の機能向上も含めた健康長寿塾マニュアルを完成させた。

特別養護老人ホームでの調査においては同意が得られた利用者に対し

て事前調査を行い、その後施設職員に対して「高齢者のための自立摂食維持マニュアル」に関する研修会を実施し、そのマニュアルに基づいて入所者の食事や口腔・栄養に関する支援を行ない、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後、2年後に入所者への効果を検証した。

結果、食事の姿勢の改善や身体準備の改善などの食支援が行われ、食行動と食事時間は有意に改善し、「高齢者のための自立摂食維持マニュアル」の効果が示唆された。

本研究結果の一部は平成26年11月6日に開催された第113回社会保障審議会介護給付費分科会資料 資料3 施設系サービスの口腔・栄養に関する報酬・基準について(案)に提出した。

#### 2. 介護保険施設における口腔と栄養のサービス連携に関する調査研究事業

本事業では①介護保険施設における口腔と栄養管理の連携に関する実態調査において、全国の介護保険施設での口腔と栄養のサービスに関する各専門職種の連携状況を調査し、②介護保険施設における口腔と栄養管理の連携に関する介入調査において口腔と栄養に関するサービスにおける専門職種の連携の在り方とその効果および問題点を明かにすることを目的とした。



## ①介護保険施設における口腔と栄養管理の連携に関する実態調査

全国の全介護保険施設から、層化多段階抽出した2500施設（全施設の20%）のうち745件（回収率29.8%）から回答を得て、集計分析を行った。介護保険施設入所者の約4割が経口摂取に関する支援が必要で、低栄養者が約3割いるとの結果から、栄養や経口摂取に対する専門職の支援が必要であることが明らかになった。また、ほとんどの施設は口腔機能維持管理のメリットがあると回答し、歯科衛生士が勤務していた方がいいとする施設が7割を超えていた。入所者の食事や栄養の問題に管理栄養士と歯科衛生士が連携している施設は4割あり、連携の効果も6割強があると回答していた。連携に必要なことは、効果に関する根拠や報酬、共同するためのマニュアルとの回答が多かった。

歯科衛生士に対する調査では184件（回収率92.0%）から回答を得て、集計分析を行った。結果、介護保険施設に訪問している歯科衛生士は口腔機能の維持管理に関して、十分な経験と知識、技術を有し、入所者の口腔機能の維持管理だけでなく、経口移行や維持にも関与し、栄養や食事に関するカンファレンスにも参加している歯科衛生士が多くいることが分かった。一方、96.3%の歯科衛生士は口腔機能維持管理加算の算定で苦慮しているという結果が得られた。本研究結果の一部は平成27年度

介護報酬改定時の口腔衛生管理体制加算と口腔衛生管理加算の改訂の参考資料として提出した。

## ②介護保険施設における口腔と栄養管理の連携に関する介入調査

歯科衛生士の関与がない介護保険施設2施設、歯科衛生士の関与があるが、管理栄養士との連携がない介護保険施設5施設、歯科衛生士と管理栄養士が連携している介護保険施設3施設の口腔と栄養に関する比較検討を行った。歯科衛生士と管理栄養士の連携がない施設の入所者は、連携のある施設と比較して、体重減少のリスクが5.14倍高いことが示唆された(OR: 5.14)。また、歯科衛生士と管理栄養士の連携による食事に対する積極的な支援は、施設入所者の体重減少を抑制する可能性が示唆された。

歯科衛生士13名と管理栄養士11名を対象に行った口腔と栄養管理の連携に関するタイムスタディ・ヒアリング調査では、ミールラウンドなど直接連携している時間以外に連携で生じた業務を行うための時間が20%前後必要であることが分かった。平成27年度介護報酬改定の内容に関しては、対象者の明確化やミールラウンドやカンファレンス実施に関する書類の書式を明確にしてほしい等の意見や、高度な支援を行う必要がある入所者への対応をもっと評価してほしいとの意見が多くみられた。

本研究結果の一部は平成26年11月6日に開催された第113回社会保障審

議会介護給付費分科会資料 資料3  
施設系サービスの口腔・栄養に関する  
報酬・基準について(案)に提出した。

## 研究業績(口腔疾患研究部)

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Kato Y, Hagiwara M, Ishihara Y, Isoda R, Sugiura S, Komatsu T, Ishida N, Noguchi T and Matsushita K

TNF- $\alpha$  augmented *Porphyromonas gingivalis* invasion in human gingival epithelial cells through Rab5 and ICAM-1.

**BMC Microbiology**, 14:229, 2014.

Hagiwara M and Matsushita K

Epigallocatechin gallate suppresses LPS endocytosis and nitric oxide production by reducing Rab5-caveolin-1 interaction.

**Biomed Res**. 35:145-151, 2014.

Hagiwara M, Kokubu E, Sugiura S, Komatsu T, Tada H, Isoda R, Tanigawa N, Kato Y, Ishida N, Kobayashi K, Nakashima M, Ishihara K, Matsushita K

Vinculin and Rab5 Complex is Required for Uptake of *Staphyrococcus aureus* and Interleukin-6 Expression.

**PLOS ONE** 9:e87373, 2014

Sato E, Hirano H, Watanabe Y, Edahiro A, Sato K, Yamane G.Y, Katakura A  
Detecting signs of dysphagia in patients with Alzheimer's disease with oral feeding in daily life.

**Geriatr Gerontol. Int.** 2014 Jul;14(3):549-55. doi: 10.1111/ggi.12131.

Ogura M, Watanabe Y, Sanjo Y, Edahiro A, Sato K, Katakura A

Mirror neurons activated during swallowing and finger movements: An fMRI study.

**J Oral Maxillofac Surg Med Pathol.** 26(2014) 188-197

Takeyasu Y, Yamane G.Y, Tonogi M, Watanabe Y, Nishikubo S, Serita R, Imura K

Decreasing the Risk of Ventilator-Associated Pneumonia by Oral Health Care Using an Oral Moisture Gel.

**Bull Tokyo Dent Coll.** 2014;55(2):95-102.

Saito H, Watanabe Y, Sato K, Ikawa H, Yoshida Y, Katakura A, Takayama S, Sato M

Effects of professional oral health care on reducing the risk of chemotherapy-induced oral mucositis.

**Support Care Cancer**, 2014 Nov;22(11):2935-40. doi: 10.1007/s00520-014-2282-4. Epub 2014 May 23.

Murakami M, Hirano H, Watanabe Y, Sakai K, Kim H, Katakura A  
Relationship between chewing ability and sarcopenia in Japanese community-dwelling older adults.

**Geriatr Gerontol Int**. 2014 Nov 3. doi: 10.1111/ggi.12399. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25363233.

Ohara Y, Hirano H, Watanabe Y, Obuchi S, Yoshida H, Fujiwara Y, Ihara K, Kawai H, Mataka S

Factors associated with self-rated oral health among community-dwelling older Japanese: A cross-sectional study.

**Geriatr Gerontol Int**. 2014 Sep 20. doi: 10.1111/ggi.12345. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25244626.

Ohno T, Morita T, Tamura F, Hirano H, Watanabe Y, Kikutani T

The need and availability of dental services for terminally ill cancer patients: a nationwide survey in Japan. **Support Care Cancer**. Accepted: 22 February 2015 DOI 10.1007/s00520-015-2734-5

森戸光彦、渡邊 裕、菅 武雄、片倉 朗、片山正輝、戸原 玄、吉田光由

脳卒中患者の歯科治療時のリスク評価に関する研究

日本歯科医学会誌 33 59-63 2014.03

小原由紀、高城大輔、枝広あや子、森下志穂、渡邊 裕、平野浩彦

認知症グループホーム入居高齢者における認知症重症度と口腔機能および栄養状態の関連

日衛学誌, 9, 69-79, 2015

## 2. 総説

松下健二

機能的口腔ケアのすすめ

へるすあっぷ 21 1:40, 2015

松下健二

肺炎・ドライマウスを予防する唾液の役割

へるすあっぷ 21 11:41, 2014.

松下健二

歯周病は動脈硬化を促進する?!

へるすあっぷ 21 9:41, 2014.

松下健二

歯の喪失とがん・認知症の関連

へるすあっぷ 21 6:41, 2014.

松下健二

血管病としての歯周病とその対策

日本歯先技研会誌 20:159-162, 2014.

Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Tada H, Kato Y, Isoda R, Hagiwara M, Michikawa M, Noguchi T, and Matsushita K

Chapter 26. Periodontal disease as a possible risk factor for Alzheimer's disease, in Innovative Research on **Biosis-Abiosis Intelligent Interface** 2014 (Sasaki K, Suzuki O, and Takahashi N eds), 237-244, Springer Japan, 2015.

Tada H, Shimauchi H, Takada H, and Matsushita K

Chapter 31. *Porphyromonas gingivalis* induced IL-33 in human gingival epithelial cells, in Innovative Research on **Biosis-Abiosis Intelligent Interface** 2014 (Sasaki K, Suzuki O, and Takahashi N eds), 293-304, Springer Japan.

Watanabe Y, Hirano H, Matsushita K

How masticatory function and periodontal disease relate to senile dementia.

**Japanese Dental Science Review**. 2015 Feb;51(1):34-40.

doi:10.1016/j.jdsr.2014.09.002.

渡邊 裕

口腔ケアをもっと効果的に行なうための3つの視点、口腔ケアを拒否されたらどうする？

月刊ナーシング Vol.34 No.8 2014.7 P68-74

渡邊 裕

感染症対策としての口腔ケアを考える

難病と在宅ケア Vol.20 No.6 2014.9 P53-56

渡邊 裕

高齢者の口腔衛生状態維持(口腔ケア)の重要性

化学療法の領域 Vol.30 No.9 2014 P75-82(1727-1734)

### 3. 著書、Chapters

Watanabe Y

Age Changes in Oral Function, In Reference Module in Biomedical Sciences, Elsevier, 2014. doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.00041-6 Available online 28 October 2014

鈴木隆雄、島田裕之、大淵修一 監修、渡邊 裕(著分担)

完全版介護予防マニュアル 12章 口腔機能向上プログラム 3サービスメニュー  
P400-425 法研 東京 2015

### 4. その他

渡邊 裕

口腔ケアをもっと効果的に行なうための3つの視点、薬だけじゃない、乾燥の原因別の対策で口腔乾燥をもっと防ぐ！

月刊ナーシング Vol.34 No.8 2014.7 P66-67

### 5. 新聞・報道等

松下健二

質疑応答(臨床一般) ー加齢による歯と血管の変化  
週刊日本医事新報 印刷中

松下健二

体とこころの通信簿 ー唾液が少ない  
朝日新聞平成 27 年 1 月 5 日夕刊

松下健二

老年期・衰退期を想定した歯科医学の推進  
厚生科学 WEEKLY 巻頭言 665 号, 2014

松下健二

平均寿命より「元気に5歳」長生きする5つの最重要スキル ―歯 1 本で寿命が1年延びるという生存率2倍の口腔ケア情報―  
週刊新潮 8/7 号 p134-135, 2014

松下健二

歯を大切にすると人は認知症になりにくい  
文芸春秋 Special 季刊春号 p44-47, 2014

## 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

Kenji Matsushita

Periodontitis induced by Porphyromonas gingivalis infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice. Symposium #29  
Lessons from a downward spiral of the periodontitis and diabetes into Alzheimer's disease (AD): Emerging roles of the senescent-type microglia in the link between low-grade systemic inflammation and AD.  
The 88th Annual Meeting of The Japanese Pharmacology Society, March 20, 2015, Nagoya.

松下健二

医療保険者における歯科保健の重要性 ―口腔と全身の関わりから考える―  
第 159 回関西社会保険特別研究会 2015/3/16 大阪

Matsushita K

Periodontal disease as a possible risk factor for Alzheimer's disease.  
62nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research. Dec 4, 2014, Osaka.

松下健二

医療保険者における歯科保健の重要性 ―口腔と全身の関わりから考える―  
第 219 回中部社会保険特別研究会特別講演 2014/12/18 名古屋

松下健二

歯周病とアルツハイマー病の関連性  
名古屋市歯科医師会学術講演会 2014/10/23 名古屋

松下健二

口腔ケアと先端技術  
九州大学歯学府大学院・地域口腔保健開発学分野集中講義 2014/10/21 福岡

松下健二

アルツハイマー病増悪因子としての歯周病の可能性. サテライトシンポジウム 1「歯周病・糖尿病・アルツハイマー病の負のスパイラルを断ち切る:口腔からの健康寿命延伸戦略」

第 56 回歯科基礎医学会学術大会・総会 2014/9/25 福岡

渡邊 裕

共催セミナー「周術期口腔機能管理に必要な顎口腔領域の基礎知識」  
第 68 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会 2014/5/9 東京

渡邊 裕

シンポジウム「高齢者の口腔機能低下」  
第 29 回日本老年学会総会 2014/6/14 福岡

## 2. 国際学会発表

Hagiwara M, Ishida N, Wang J, Matsushita K

Nitric oxide regulates phagocytosis in macrophage-like RAW264 cells  
第 7 回 NAGOYA グローバルリトリート 2015/2/13 大府

Wang J, Kobayashi K, Hagiwara M, Ishida N, Matsushita K

Analysis of the Regulatory Mechanism by which Shear Stress and Stretch Force Induce Nitric Oxide Production in Endothelial Cells.  
ASCB/IFCB meeting. Dec 9, 2014, Philadelphia, USA

Hagiwara M, Ishida N, Wang J, Matsushita K

Nitric oxide regulates phagocytosis by S-nitrosylation of Rab5.



ASCB/IFCB meeting. Dec 8, 2014, Philadelphia, USA

Wang J, Kobayashi K, Hagiwara M, Ishida N, Matsushita K

Analysis of Intracellular Signal Transduction Induced by Shear Stress and Stretch Force in Endothelial Cell Cultures.

15th IUBMB -24th FAOBMB-TSBMB. Oct 23-24, 2014, Taipei, Taiwan.

Hagiwara M, Ishida N, Wang J, Matsushita K

Nitric oxide regulates phagocytosis.

15th IUBMB -24th FAOBMB-TSBMB. Oct 21-22, 2014, Taipei, Taiwan.

Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Tada H, Kato Y, Hagiwara M, Michikawa M, Noguchi T, Matsushita K

Periodontitis Induced by Porphyromonas Gingivalis Infection Exacerbates Features of Alzheimer's Disease in Transgenic Mice.

100th Annual Meeting of American Academy of Periodontology. Sep 20, 2014, San Francisco, USA.

Yamada K, Kanekura T, and Matsushita K

High concentration glucose ameliorates atopic dermatitis through active HMGB1 release.

The 12th Congress of the European Society of Contact Dermatitis. June 27, 2014, Barcelona, Spain.

### 3. 国内学会発表

多田浩之、松下健二、長岡 功、高田春比古

Porphyromonas gingivalis ジンジパインは IL-33 誘導を介してヒト歯肉上皮細胞の CAP18/LL-37 産生をダウンレギュレーションする

第 20 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会 2014/12/6 東京

萩原真、石田直之、王静舒、松下健二

NO 修飾のファゴサイトーシスへの関与

第 37 回日本分子生物学会年会 2014/11/27 横浜

王静舒、小林かおる、萩原真、石田直之、松下健二

ずり応力と引張応力による血管内皮細胞のシグナル伝達機構の解析

第 37 回日本分子生物学会年会 2014/11/26 横浜

徳田雅行、川井絢矢、作田哲也、小山徹、宮下桂子、藤澤真理、江本真規子、森元陽子、鳥居光男、松下健二

ヤマブシタケ抽出物の抗菌活性ー試験管内およびヒト口腔内における検討  
日本歯科保存学会 2014 年度秋季学術大会 2014/10/30 山形市

多田浩之、松下健二、高田春比古

Porphyromonas gingivalis によるヒト歯肉上皮細胞の LL-37 発現誘導は IL-33 により下方制御される

第 56 回歯科基礎医学会学術大会・総会 2014/9/27 福岡

萩原真、石田直之、王静舒、松下健二

NO は化学修飾を介してファゴサイトーシスを調節する

光イメージングに興味のある若手研究者の会 2014/9/6-7 明石

萩原真、石田直之、王静舒、松下健二

細菌感染防御機構における一酸化窒素の新規な作用機構

第 9 回トランスポーター研究会 2014/6/14-15 名古屋

木下かほり、朝倉三恵子、小出由美子、間瀬広樹、金子康彦、渡邊裕、佐竹昭介、山岡朗子

当院の認知症患者における拒食に対する介入例

第 30 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 2015/2/11 兵庫

小島香、尾崎健一、野本恵司、伊藤直樹、神谷正樹、細見梓、渡邊裕、近藤和泉

当院回復期病棟における経管栄養患者の帰結の検討

第 20 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会 2014/9/26 東京

枝広あや子、平野浩彦、小原由紀、渡邊裕、森下志穂、高城大輔

認知症重度化にともなう摂食嚥下機能の変化ーunctional Assessment Staging (FAST)を基準にー

第 20 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会 2014/9/26 東京

高城大輔、平野浩彦、枝広あや子、小原由紀、渡邊裕、森下志穂、村上浩史、弘中祥司

認知症重症度と摂食嚥下機能・栄養状態との関連についてーClinical Dementia Rating (CDR)を基準とした検討ー

第 20 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会 2014/9/26 東京

鰐原賀子、平野浩彦、枝広あや子、小原由紀、渡邊裕、森下志穂、本橋佳子、菅武

雄、村上正治、植田耕一郎、菊谷武

要介護高齢者の口腔湿潤度ならびに口腔内細菌に関する実態調査報告

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/14 福岡

小原由紀、大淵修一、吉田英世、渡邊裕、平野浩彦

地域在住高齢者における口腔乾燥感と唾液分泌量低下に関連する要因の検討 ―2 年間の横断データから―

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/14 福岡

桐原浩輔、岩佐康之、森下志穂、渡邊裕

高齢者における体重変化と口腔機能および全身状態の関係

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/14 福岡

森下志穂、平野浩彦、渡邊裕、枝広あや子、小原由紀、村上正治、菊谷武

地域在住高齢者を対象とした大規模口腔機能実態調査報告

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/14 福岡

村上正治、平野浩彦、渡邊裕、枝広あや子、小原由紀、森下志穂、片倉朗

日本人地域在住高齢者における咀嚼機能の低下がサルコペニアの重度化に及ぼす影響について

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

高城大輔、平野浩彦、渡邊裕、枝広あや子、小原由紀、森下志穂、村上正治、弘中祥司

地域在住高齢者の咀嚼機能低下と咀嚼困難感の背景因子の検討

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

奥村圭子、徳留裕子、渡邊裕、森下志穂、本橋佳子、平野浩彦、枝広あや子、小原由紀、村上正治、鈴木隆雄

地域在住二次予防高齢者における食欲と栄養障害リスクを改善する複合プログラムの検討

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

本橋佳子、渡邊裕、木村絵美子、平野浩彦、枝広あや子

高齢者ブレインバンクでのレビー小体型認知症診断症例における摂食嚥下障害の状況について(第一報)

日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

枝広あや子、平野浩彦、小原由紀、渡邊裕、森下志穂、村上正治、高城大輔  
認知症重度化にともなう口腔関連機能の変遷－Functional Assessment  
Staging(FAST)を基準にした検討－  
日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

高城大輔、平野浩彦、渡邊裕、枝広あや子、小原由紀、森下志穂、大堀嘉子  
アルツハイマー型認知症高齢者の摂食嚥下機能と栄養状態に関する報告  
日本老年歯科医学会第 25 回学術大会 2014/6/13 福岡

#### 4. その他、セミナー等

Matsushita K  
Recent topics in my Lab.  
Aab cardiovascular research center seminar. Dec 10, 2014, Rochester,  
USA.

松下健二  
超高齢社会における口腔の健康の考え方 ～老化・老年病と歯周病・歯周病原  
細菌の関連性～  
東北大学歯学部口腔微生物学分野特別講義 2014/10/10 仙台

松下健二  
第 28 回健康食品セミナー「口腔ケアと健康長寿」  
NPO 法人健康食品フォーラム 2014/7/24 東京

松下健二  
歯周病と認知症  
平成 26 年度名古屋市立大学第一期オープンカレッジ 2014/7/4 名古屋

松下健二  
超高齢社会における口腔の健康の考え方 ～老化・老年病と歯周病・歯周病原  
細菌の関連性～  
北海道大学歯学部口腔生化学講座特別講義 2014/6/9 札幌

渡邊 裕  
高齢者の心身の特徴・口腔の特徴、低下した口腔機能向上プログラムの実際、本件  
研究事業における歯科衛生士の役割  
愛知県歯科衛生士会研修会 2015/3/1 愛知

渡邊 裕

高齢者の心身の特徴・口腔の特徴、低下した口腔機能向上プログラムの実際、本件研究事業における歯科衛生士の役割

愛知県歯科衛生士会研修会 2015/2/8 愛知

渡邊 裕

在宅・施設高齢者のための歯科保健指導のならびに病診連携に必要な知識とは  
平成 26 年度在宅歯科衛生士研修会 2015/1/25 前橋市

渡邊 裕

介護予防口腔機能向上プログラム.

鋸南町介護予防従事者研修会 2015/1/23 千葉

渡邊 裕

介護予防マニュアル 口腔機能向上プログラム

平成 26 年度神奈川県介護予防従事者研修 2015/1/18 横浜市

渡邊 裕

第 3 回 認知症の人の食支援研究会 2014/12/20 福岡

渡邊 裕

知的活動による脳活性化プログラム ～コグニスクール～

脳活教室:第 3 回市民健康講座 2014/12/3 愛知

渡邊 裕

健康な日常生活を過ごすために必要な口の健康について

脳活教室:第 2 回市民健康講座 2014/10/31 愛知

渡邊 裕

肺炎とたたかう！実践的口腔ケア

医学の友社口腔ケアセミナー 2014/5/17 東京

渡邊 裕

肺炎とたたかう！実践的口腔ケア

医学の友社口腔ケアセミナー 2014/4/19 兵庫

### III. 競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省

渡邊 裕:(分担) 400 万円(総額 1,800 万円)

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業).  
要介護高齢者等の口腔機能および口腔の健康状態の改善ならびに食生活の質の向上に関する研究.

渡邊 裕:(分担) 216 万円(総額 2,000 万円)  
平成 26 年度厚生労働科学研究委託費(長寿・障害総合研究事業).  
在宅高齢者の口から食べる楽しみの支援の在り方に関する調査研究事業.

渡邊 裕:(代表) 1,300 万円(総額 1,300 万円)  
平成 26 年度老人保健事業推進費等補助金(老人保健健康増進等事業分).  
介護保険施設における口腔と栄養のサービス連携に関する調査研究事業.

渡邊 裕:(委員) 36 万円(総額 6,000 万円)  
平成 26 年度歯科保健サービスの効果実証事業.

## 2. 文部科学省

松下健二:(代表)470 万円(総額 500 万円)  
平成 26 年度科学研究助成事業(基盤研究B)  
アルツハイマー病の病態増悪に関与する歯周病分子機構の解明

松下健二:(分担)20 万円  
平成 26 年度科学研究助成事業(基盤研究B)  
「食」からはじめる施設入居高齢者の生活再構築支援モデルの開発

松下健二:(代表)120 万円(総額 170 万円)  
平成 26 年度科学研究助成事業(挑戦的萌芽研究)  
酸化的修飾タンパク質と歯周病病態との関連 -アダクトミクス応用による網羅的解析 -

渡邊 裕:(代表) 140 万円(総額 140 万円)  
平成 26 年度科学研究費助成事業(基盤研究C)  
ミラーニューロンから認知症患者の食行動関連障害を解明する

萩原 真:(代表) 100 万円  
平成 26 年度科学研究費助成事業(若手研究B)  
口腔組織の炎症によって発生する気体分子と細胞機能の破綻

萩原 真:(分担)30 万円(総額 500 万円)

平成 26 年度科学研究助成事業(基盤研究B)  
アルツハイマー病の病態増悪に関与する歯周病分子機構の解明

萩原 真:(分担)20 万円(総額 170 万円)  
平成 26 年度科学研究助成事業(挑戦的萌芽研究)  
酸化的修飾タンパク質と歯周病病態との関連 -アダクトミクス応用による網羅的解析

### 3. 財団、その他

松下健二:(代表)150 万円 (総額 300 万円)  
長寿医療研究開発費  
歯周病がアルツハイマー病の分子病態ならびに認知機能障害を増悪させる機序の  
解明

松下健二:(分担)200 万円  
長寿医療研究開発費  
近赤外光・レーザー等を用いた新たな歯科疾患診断・治療機器の開発に関する研究

松下健二:(分担)4,144,149 円  
公益財団法人 科学技術交流財団(知の拠点重点研究プロジェクト)  
脳・心臓・血管系等に関連する生体情報を無侵襲・低侵襲で継続的に計測するた  
めの高感度な計測技術とデバイスの開発(アルツハイマー病修飾因子としての歯周病  
の可能性に関する研究)

渡邊 裕:(代表) 300 万円(総額 300 万円)  
長寿医療研究開発費  
高齢者の食の自立を守るための口腔と栄養に関する長期介入研究

## 老化機構研究部

### (1) 構成員

部長 丸山 光生

室長

代謝研究室 山越 貴水

免疫研究室

流動研究員

直江 吉則

松田 剛典

岩下 雄二

外来研究員

赤津 裕康

客員研究員

丸山 直記

山田 潤

島田 順一

勝見 章

研究生

岸本磨由子

石澤 和也

鄒 岑

原田 種展

新井 聡 (10 月～)

桐浴 隆嘉(3 月)

研究補助員・事務補助員

早川 朋子(～1 月)

木村 広美

菊池 エミ(4 月)

松井 直美

飯田 万由

土屋由加子

岡山美和子

長坂 真有

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要

加齢に伴って変化する生体機能や老化のメカニズムについて、分子、細胞、組織、個体レベルで研究を進め、今年度は具体的に以下のような成果を示すことができた。①脾臓内において辺縁帯 B 細胞の割合が低下していた事を明らかにした Ziz2 遺伝子欠損マウス(KO)の同細胞の局在を解析し、存在する領域の幅が薄くなっていることを明らかにした。②細胞老化関連遺伝子 TARSH においては恒常性機能の破綻が原因ともいわれる老化と加齢に伴い発症のリスクが増す腫瘍細胞株、組織において発現抑制されるメカニズムの解析を中心に研究し、TARSH の発現機構の解析については転写制御領域の同定、ならびに p53 遺伝子発現の T/N 比において正の相関関係を示唆する知見を得ている。③代謝研究室では加齢に伴う唾液分泌量の減少が唾液分泌機能を低下させ、高齢者の QOL にも影響を及ぼすことに注目し、唾液腺機能を低下させる仕組みについて研究を発展させた。Bmi-1KO に加え p16 遺伝子を欠損したダブル KO を作製し解析したところ、唾液分泌量や顎下腺細胞数の減少等 Bmi-1KO で見られていた表現型の一部が回復したことから、Bmi-1/p16 制御経路は顎下腺のホメオスタシス維持において非常に重要な生理的な役割を果たしていることを明らかにした。



部長グループ：丸山光生、松田剛典、築瀬正伍、新井 聡、鄒 岑  
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**

近年、腸管免疫系（腸内細菌叢と自己免疫疾患、感染症を含む各種疾患との関連性）をはじめ、獲得免疫系、自然免疫系との相互関係が注目されており、加齢に伴う免疫機能低下が高齢者の抱え込む多くの疾患の罹患率や経過、予後とどのように関わっているかが高齢社会の抱える喫緊の課題の一つにもなっている。その予防や賦活化に有効な方策を検討していくために生体内の種々の免疫系に特異的な細胞集団やその細胞が発現する遺伝子や分泌するサイトカインの変化からそのメカニズムを検討し、高齢者の免疫力維持、さらには栄養介入を視野に入れた腸管免疫の加齢変化と生体防御機能の改善に関する基礎研究を推進する事は健全な高齢化社会を築く上でも不可欠な研究として位置づけている。

**研究結果と考察**

新規グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF)であり、T細胞依存的抗原刺激後のマウス脾臓胚中心成熟Bリンパ球で高発現する免疫老化関連遺伝子として我々が同定した Zizimin2(Ziz2)遺伝子の分子機能を免疫老化との関連を中心に解明する過程で、今年度は Ziz2 遺伝子欠損マウス(KO)またはファミリー遺伝子 Zizimin3 (Ziz3)KO の骨髓、脾臓、胸腺内のB細胞ならびにT細胞の割合をフローサイトメトリー(FACS)で解析

した。その結果 Ziz2KO ならびに Ziz3KO の骨髓ではB分画とよばれる集団がともに減少していた。脾臓内において辺縁帯B細胞の割合が低下しており、その局在を検討した結果、その厚みが有意に薄くなっていた事が判明した。しかし、辺縁帯B細胞と同様の機能があるとされる B1a 細胞においては両 KO マウスとも有意な変化は認められなかった。辺縁帯B細胞に関しては、肺炎球菌等への感染に重要な働きを有していることが知られているので、Ziz2KO または Ziz3KO の細菌感染と野生型マウスのそれらとの間で罹患率や重篤化に違いがあるのかを検証していく必要がある。また、腹腔内 B1a 細胞の割合について、減少傾向は見られるものの有意な差には至っていない。この点に関しては Ziz2 と Ziz3 が共通の機能を有している可能性が考えられるため、今後は Ziz2KO、Ziz3KO に加えて、Ziz2,3 Double KO(DKO) を用いた解析を進め、免疫応答と免疫老化における Zizimin ファミリー遺伝子の機能解明を続けたい。最後に、現在 Ziz2 遺伝子の転写制御領域の解析も行っており、これまでにプロモータ上流領域を用いて、転写制御領域の絞り込みを進めている。

## 部長グループ：丸山光生、原田種展、岩下雄二、石澤和也、松田剛典 細胞老化関連遺伝子 TARSH の機能解析に関する研究

### 研究目的と背景

私たちの体を構成する細胞の分裂回数には寿命があり、細胞老化と呼ばれる不可逆的な増殖停止状態に陥ることが知られている。生理学的にはこの増殖停止は細胞がアポトーシス（細胞死）を免れ、かつ癌に対する生体防御機構であるとも考えられ、p53 などの多くのがん抑制遺伝子が細胞増殖、細胞老化や細胞周期の停止と関連づける報告も多く、細胞のがん化と細胞老化には共通した細胞の増殖調節機構が関与している可能性が示唆されている。本研究ではこうした細胞老化と個体老化との関連も含め、マウス胚性繊維芽細胞 (MEFs) の継代培養から細胞老化早期に一過的に強発現する細胞老化関連遺伝子として同定した TARSH (target of NESH/Abi3bp) タンパク質の増殖、転移能等を含めた癌抑制メカニズムにおける役割を明らかにし、細胞老化と個体老化を絡めた生体内での生理的意義を議論する。

### 研究結果と考察

TARSH はがんの異所性転移に対して抑制的に働く分子である NESH の SH3 ドメインに会合する分子として単離され、ヒト及びマウス TARSH 遺伝子 (hTARSH、mTARSH) は正常肺特異的に発現すること、がんや悪性甲状腺がんの患者で顕著な発現低下を示すことが報告されている。一方で、これまでの我々の解析により、TARSH 遺伝子の発

現を抑制した MEF は細胞増殖能が低下し、p53 依存的なアポトーシス経路の活性化を示すことから、TARSH が細胞老化のみならずがん化にも関与する分子であることが示唆されている。今年度は TARSH の肺がん細胞株、組織において発現抑制されるメカニズムの解析を中心に研究し、TARSH の発現機構の解析、ならびに p53 との発現の相関についての解析を進めた。mTARSH 遺伝子プロモーター領域の同定並びにそこに結合する転写因子の同定については UCSC ゲノムブラウザで Encode クロマチン状態を参考に TARSH 遺伝子の発現制御能を担うと期待できる領域の候補として 2~3Kb を 5 領域選定した。今後はこれらの領域の選定基準を精査しつつ、ルシフェラーゼレポーター解析により、転写能制御領域を絞り込み、転写調節を行う因子とがん化との関連を考察していく。また TARSH と p53 の発現の相関についてはヒト肺がん部位 (T) 由来の cDNA サンプルを落居て同一正常部位 (N) における TARSH 遺伝子の発現抑制と p53 の発現に相関があるか TaqMan プローブを用いてリアルタイム PCR 解析を行い、予備的に TARSH と p53 遺伝子発現の T/N 比において正の相関関係がある傾向を示している。今後は p53 遺伝子に見られる変異を考察した T/N 比も含めて解析を続けたい。

代謝研究室：山越貴水、飯田万由、木村広美  
顎下腺ホメオスタシス維持機構の破綻に関する研究

加齢に伴う口腔乾燥症状（ドライマウス）は、唾液分泌機能を有する唾液腺の機能低下によって唾液分泌量が減少することが一つの原因と考えられている。加齢による唾液腺機能の低下を抑制することは高齢者の QOL を向上させる可能性があることから、唾液腺機能を低下させる仕組みについての研究の進展が望まれている。私達はこれまでに、動物の生体内で遺伝子発現を可視化できるインビボ・イメージング技術を用いて、細胞老化の誘導に関わる癌抑制遺伝子 p16 の発現動態をリアルタイムに観察できるシステムを開発している（J. Cell Biol., 2009）。

加齢に伴う生体組織機能の低下には多くの場合、成体幹細胞の質や量の低下による組織のホメオスタシス維持機構の破綻が原因となっていると考えられることから、私達は前年度までに、幹細胞性の維持に非常に重要な役割を果たすポリコーン蛋白質 Bmi-1 を欠損したマウスと上述の p16 生体内可視化システムを組み合わせ、唾液腺の一つである顎下腺の恒常性維持に Bmi-1/p16 制御経路が重要であることを見出している。また、加齢過程では顎下腺幹 / 前駆細胞において Bmi-1/p16 経路が働かなくなり、顎下腺幹 / 前駆細胞が機能低下を起こすことで顎下腺のホメオスタシス維持機能

が破綻することも見出している。

今年度、顎下腺における Bmi-1/p16 制御経路の生理的意義を明らかにするため、Bmi-1 遺伝子欠損に加え p16 遺伝子を欠損したダブルノックアウトマウスを作製し、Bmi-1 遺伝子欠損マウスで認められる表現型が回復するかどうかについて解析を行ったところ、Bmi-1 と p16 のダブルノックアウトマウスは Bmi-1 ノックアウトマウスの唾液分泌量減少、顎下腺細胞数減少等の表現型を一部回復した。また、加齢過程で Bmi-1 による p16 発現抑制機能が失われるメカニズムを調べたところ、加齢により Bmi-1 はリン酸化修飾を受けることで p16 遺伝子領域に結合しにくくなることが分かった。以上のことから、Bmi-1/p16 制御経路は顎下腺のホメオスタシス維持において非常に重要な役割を果たしていることが明らかになった（Aging Cell, 2015）。

[参考文献]

Yamakoshi, K. *et al.*, Real-time in vivo imaging of p16<sup>INK4a</sup> reveals cross talk with p53. J. Cell Biol., 10, 186(3), 393-407 (2009)

Yamakoshi, K. *et al.*, Dysregulation of the Bmi-1/p16<sup>INK4a</sup> pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function. Aging Cell, (2015), DOI: 10.1111/accel.12337

## 研究業績（老化機構研究部）

### I.論文発表

#### 1.原著

Doi R, Endo M, Yamakoshi K, Yamanashi Y, Nishita M, Fukada S, Minami Y.  
Critical role of Frizzled1 in age-related alterations of Wnt/ $\beta$ -catenin signal in myogenic cells during differentiation.

**Genes Cells**. 2014 Apr;19(4):287-96

Kishimoto M, Matsuda T, Yanase S, Katsumi A, Suzuki N, Ikejiri M, Takagi A, Ikawa M, Kojima T, Kunishima S, Kiyoi H, Naoe T, Matsushita T, Maruyama M.  
RhoF Promotes Murine Marginal Zone B Cell Development.

**Nagoya Journal of Medical Science**. Vol.76, No.3,4

Sekiyama K, Waragai M, Akatsu H, Sugama S, Takenouchi T, Takamatsu Y, Fujita M, Sekigawa A, Rockenstein E, Inoue S, La Spada AR, Masliah E, Hashimoto M.  
Disease-Modifying Effect of Adiponectin in Model of  $\alpha$ -Synucleinopathies.

**Ann Clin Transl Neurol**. 2014 Jul 3;1(7):479-489.

Uhm KO, Kim MJ, Kawaguchi M, Akatsu H, Miura Y, Misumi S, Hida H, Choi EK, Kim YS, Michikawa M, Jung CG.

ATBF1 is a Novel Amyloid- $\beta$  Protein Precursor (A $\beta$ PP) Binding Protein that Affects A $\beta$ PP Expression.

**J Alzheimers Dis**. 2014 Jul 30.

Yuki D, Sugiura Y, Zaima N, Akatsu H, Takei S, Yao I, Maesako M, Kinoshita A, Yamamoto T, Kon R, Sugiyama K, Setou M.

DHA-PC and PSD-95 decrease after loss of synaptophysin and before neuronal loss in patients with Alzheimer's disease.

**Sci Rep**. 2014 Nov 20;4:7130.

Hayakawa T, Iwai M, Aoki S, Takimoto K, Maruyama M, Maruyama W, Motoyama N.  
SIRT1 suppresses the senescence-associated secretory phenotype through epigenetic gene regulation.

**PLoS One**. 2015 Jan 30;10(1):e0116480.

Akatsu H, Nagafuchi S, Kurihara R, Okuda K, Kanesaka T, Ogawa N, Kanematsu T, Takasugi S, Yamaji T, Takami M, Yamamoto T, Ohara H, Maruyama M.

Enhanced vaccination effect against influenza by prebiotics in elderly patients receiving enteral nutrition.

**Geriatr Gerontol Int**. 2015 Jan 22. doi: 10.1111/ggi.12454.

Matsuda T, Yanase S, Takaoka A, Maruyama M.

The immunosenescence-related gene Zizimin2 is associated with early bone marrow B cell development and marginal zone B cell formation.

**Immunity and Ageing.** 12(1), 2015 Feb 22

Kato T, Konishi Y, Shimohama S, Beach TG, Akatsu H, Tooyama I.

Alpha1-chimaerin, a Rac1 GTPase-activating protein, is expressed at reduced mRNA levels in the brain of Alzheimer's disease patients.

**Neurosci Lett.** 2015 Feb 9;591C:19-24.

Yamakoshi K, Katano K, Iida M, Kimura H, Okuma A, Ikemoto-Uezumi M, Ohtani N, Hara E, Maruyama M.

Dysregulation of the Bmi-1/p16Ink4a pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function

**Aging Cell.** 2015 Mar 31. doi: 10.1111/accel.12337. [Epub ahead of print]

## 2. 総説

山田 潤

レドックス環境と眼のアンチエイジング（坪田一男・木下茂編）

あたらしい眼科 31(4):497-504, 東京, メディカル葵, 2014.

岩下雄二、原田種展、松田剛典、杉本昌隆、丸山光生

老化関連遺伝子TARSH の細胞増殖と癌転移における関与

基礎老化研究 38（3）；39 - 41 , 2014

丸山光生

第 37 回日本基礎老化学会大会を終えて

基礎老化研究 38（3）；51 - 52 , 2014

岩下雄二、丸山光生

2014 日韓シンポジウム及び韓国基礎老化学会に参加して

基礎老化研究 38（3）；59 , 2014

松田剛典、丸山光生

2014 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Molecular Genetics of Aging.

基礎老化研究 39(1)；51-52, 2015.

松田剛典、丸山光生

老化にともなう免疫能変化 (Variation in immune response with aging)

**Surgery Frontier** Vol.21 No.3 pp25-29, 2014

### 3. 著書、Chapters

山田 潤

アレルギーが関与する他の眼表面疾患. (福島敦樹編)

Monthly Book OCULISTA 24 眼科アレルギー診察:48-54, 東京, 全日本病院出版会, 2015.

### 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

山越貴水

唾液腺機能の制御機構と老化

第 56 回日本老年医学会学術集会, 2014 年 6 月 12 日, 福岡

Maruyama M

Functional analysis of Zizimin family in immune response and immunosenescence  
2014 Korea-Japan Joint Symposium and Annual Meeting of Korean Society for Gerontology, June 21, 2014, Jeju Island, South Korea

Iwashita Y, Harada T, Matsuda T, Sugimoto M, Maruyama M.

Putative function of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cell proliferation and cancer metastasis

2014 Korea-Japan Joint Symposium and Annual Meeting of Korean Society for Gerontology, June 21, 2014, Jeju Island, South Korea

Maruyama M

Physiological implication of cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cancer proliferation and metastasis.

2014 Mini-symposium on "Aging and Oxidative stress" Oct. 17, 2014, Chuncheon, Gangwon-do Korea

山越貴水

癌抑制と老化

豊秋奨学会平成 26 年度交流同窓会記念講演, 2014 年 11 月 7 日, 名古屋市

Maruyama M

Physiological functional of Immunosenescence-associated gene, Zizimin2

The 4th International Symposium of Asian Society for Aging Research, November 9, 2014, Beijing, China

## 2. 国際学会発表

Mukai A, Asada K, Toda M, Yamada J, Hatanaka H, Yamagishi T, Nagata K, Ueno M, Hamuro J, Kinoshita S.

The role of cell to cell interaction through extracellular microvesicles, miRNA and exosome in deregulated functions of RPE and macrophages.

86th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology), May 4, 2014, Orlando. FL. U.S.A.

Yamada J, Kimura K, Mukai A, Hamuro J, Kinoshita S.

The role of IL-6 and TNF-alfa in generating the vicious inflammatory cycle between macrophages and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration.

86th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology), May 6, 2014, Orlando. FL. U.S.A.

Matsuda T, Yanase S, Hayakawa T, Matsui N, Takaoka A, Maruyama M.

Immunosenescence-associated gene Zizimin2 is involved in marginal zone B cell localization through down-regulating migratory activity towards CXCL13.

Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Cold Spring Harbor, NY, USA, September 30, 2014.

Iwashita Y, Harada T, Matsuda T, Terauchi K, Shimada J, Sugimoto M, Maruyama M.

Functional role of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cell proliferation and cancer metastasis

Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Cold Spring Harbor, NY, USA, September 30, 2014

Matsuda T, Yanase S, Hayakawa T, Matsui N, Matsushita T, Takaoka A, Casola S, Maruyama M.

IMMUNOSENESCENCE-RELATED GENE ZIZIMIN2 REGULATES MARGINAL ZONE B CELL LOCALIZATION

The 2015 Ageing Summit, February 11, 2015, London, UK

### 3. 国内学会発表

丹羽 篤、伊井裕一郎、高瀬伸一、前田正幸、赤津裕康、橋詰良夫、富本秀和  
剖検脳 ex vivo MRI の至適撮像条件；温度と組織コントラストの関連  
第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2014 年 6 月 6 日, 東京

赤津裕康、堀 映、栗原リナ、斎藤友紀子、小川倫弘、兼坂岳志、谷口知恵、山本孝之、高尾昌樹、村山繁雄、橋詰良夫  
福祉村 Brain Bank 2013 年次報告  
第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2014 年 6 月 6 日, 東京

小幡真希、村山繁雄、高尾昌樹、初田裕幸、隅蔵大幸、野上 茜、内野彰子、中野雄太、赤津裕康、斎藤祐子  
高齢者ブレインバンク 2013 年次報告  
第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2014 年 6 月 6 日, 東京

橋詰良夫、赤津裕康、堀 映、斎藤友紀子  
高齢者剖検例における脊髄病変の検討  
第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2014 年 6 月 6 日, 東京

丸山直記  
日本基礎老化学会がめざす老化研究  
第 14 回日本抗加齢医学会総会, 2014 年 6 月 7 日, 大阪

赤津裕康、山本孝之、大原弘隆  
アルツハイマー病とアンギオテンシン変換酵素遺伝子多型の関連（連続剖検脳症例を用いて）  
第 56 回日本老年医学会学術集会・総会, 2014 年 6 月 12 日～14 日, 福岡

Matsuda T, Yanase S, Iwashita Y, Hayakawa T, Matsui N, Takaoka A, Maruyama M.  
Zizimin2 Promotes Marginal Zone B Cell Development.  
第 79 回インターフェロン・サイトカイン学会, 2014 年 6 月 19 日、北海道

松田剛典、岸本磨由子、築瀬正吾、勝見 章、松下 正、丸山光生  
マウス RhoF は辺縁帯 B 細胞の形成を促進する  
第 79 回インターフェロン・サイトカイン学会, 2014 年 6 月 19 日、北海道

飯田万由、片野 諭、木村広美、丸山光生、山越貴水  
The role of p16 in the age-related functional decline of the submandibular gland.  
第 37 回日本基礎老化学会大会, 2014 年 6 月 27 日, 愛知

赤津裕康、筒井陽仁、山本孝之、橋詰良夫、大原弘隆、豊岡利正、井之上浩一  
アルツハイマー病脳での低分子代謝産物発現解析  
第 37 回日本基礎老化学会大会, 2014 年 6 月 27 日, 愛知



Matsuda T, Yanase S, Iwashita Y, Hayakawa T, Matsui N, Casola S, Maruyama M.  
Zizimin2 Promotes Marginal Zone B Cell Development  
第 37 回日本基礎老化学会, 2014 年 6 月 27 日, 愛知

Iwashita Y, Harada T, Matsuda T, Sugimoto M, Maruyama M.  
Implication of a cellular senescence-related gene, TARSH in cell proliferation and cancer metastasis  
The 37th Annual Meeting of Japan Society for Biomedical Gerontology, June 27, 2014, Aichi

岸本磨由子、松田剛典、築瀬正伍、鈴木伸明、池尻 誠、高木明、國島伸治、小嶋哲人、直江知樹、丸山光生、勝見 章、松下 正  
RhoF の B 細胞分化に関する生体内での機能の解析  
第 76 回日本血液学会学術集会 2014 年 10 月 31 日 大阪市

Iwashita Y, Harada T, Ishizawa K, Matsuda T, Terauchi K, Shimada J, Sugimoto M, Maruyama M.  
Implication of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cellular proliferation and lung cancer metastasis  
第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 25 日、横浜市

Ishizawa K, Iwashita Y, Matsuda T, Sugimoto M, Maruyama M.  
Analysis of functional promoter region of a cellular senescence-related gene, TARSH  
第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 27 日、横浜市

Cen Zou, Matsuda T, Iwashita Y, Sugimoto M, Maruyama M.  
Investigation and Functional Analysis of Promoter Region for Murine Immunosenescence-Associated Gene, Zizimin2  
第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 27 日、横浜市

井之上浩一、赤津裕康、山本 誠、土屋浩史、宮崎康人、松川則之、橋詰良夫、道川誠、山本孝之、豊岡利正  
質量分析を基盤とする認知症患者病理資料のノンターゲット多変量解析  
第 33 回日本認知症学会学術集会、2014 年 11 月 29 日~12 月 1 日、横浜市

原 範和、菊池正隆、宮下哲典、初田裕幸、齊藤祐子、村山繁夫、赤津裕康、池内健、桑野良三  
ヒト剖検脳を用いたアルツハイマー病関連マイクロ RNA の解析  
第33回日本認知症学会学術集会、2014年11月29日~12月1日、横浜市

Matsuda T, Maruyama M

Zizimin2 and Zizimin3 are Involved in Marginal Zone B Cell Localization through Down-Regulating Migratory Activity Towards CXCL13

日本免疫学会総会、2014年12月11日、京都市

山田 潤, 羽室淳爾, 篠宮克彦, 寒川裕之, 堀内稔子, 木下 茂

アロ角膜内皮細胞移植マウスモデルを用いたアロ感作と免疫寛容の検討

第39回日本角膜学会総会・第28回日本角膜移植学会, 2015年2月12日, 高知

岩下雄二、原田種展、石澤和也、松田剛典、寺内邦彦、島田順一、杉本昌隆、丸山光生

Investigation of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cellular proliferation and lung cancer metastasis

第7回 NAGOYA グローバルリトリート、2015年2月13日、愛知

石澤和也、岩下雄二、松田剛典、杉本昌隆、丸山光生

Analysis of functional promoter region of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp

第7回 NAGOYA グローバルリトリート、2015年2月13日、愛知

その他、セミナー等

山越貴水

癌抑制と老化の制御に果たす p16 の役割 (Role of p16 in cancer and aging)

神戸大学大学院特別講義

2014年5月22日, 神戸

丸山光生

B細胞応答と免疫記憶

名古屋大学医学部講義 「免疫と生体防御」2014年5月30日 名古屋市

赤津裕康

特別講演 「在宅医療の中での地域連携・教育・褥瘡管理の基本」

第8回日本褥瘡学会 在宅褥瘡セミナーin 愛知, 2014年6月15日

赤津裕康

「多職種連携における栄養士の役割」

「緑区栄養士連絡会」平成26年度総会, 2014年6月21日

赤津裕康

認知症のすべて

一臨床症状、神経病理、予防・治療薬開発の最前線、精神症状から介護まで  
名市大 第一期オープンカレッジ 第4回 他の認知症 病理, 2014年6月27日

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 26 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 2014 年 7 月 5 日  
名古屋市

赤津裕康

高齢者の栄養管理：腸内環境・免疫学的視点から

第 12 回知多半島栄養サポートフォーラム 特別講演 2014 年 7 月 5 日 常滑市

Iwashita Y, Maruyama M

Functional role of a cellular senescence-related gene, TARSH/Abi3bp in cell proliferation and cancer metastasis

VCU progress report Oct 07, 2014, Richmond, VA USA

丸山光生

ELISAを用いた免疫老化の解析

名古屋大学大学院医学系研究科講義「ベーシックトレーニング」

2014年10月29、30日 大府市

丸山光生

生体防御論

至学館大学 健康科学部栄養科学科 3 年講義、2014 年 11 月 18 日、大府市

赤津裕康

コミュニティーヘルスケアについて学びましょう

名古屋市立大学市民公開講座 第 1 講座：医学研究科 健康寿命をのばすためにできること、2014年11月22日、名古屋市

丸山光生

生体防御論

藤女子大学 人間生活学部食物栄養学科第5限、2014年12月5日、石狩

赤津裕康

高齢者の特徴と在宅支援

名市大病院看護部 高齢者看護推進 プロジェクト 看護セミナー、2015年1月20日、名古屋市

丸山光生

生体防御論

藤女子大学人間生活学部食物栄養学科第 5 限、2015 年 1 月 23 日、北海道

赤津裕康

拠点形成事業の進捗と展望

リサーチマインドを持った総合診療医の養成 第二回合同公開フォーラム セッション2、2015年1月30日、大阪市

Maruyama M, Matsuda T

Physiological role of immunosenescence-associated gene, Zizmin2 and its family (Overall & Recent works)

Seminar at Leibniz Institute for Age Research (Prof. Dr. Karl Lenhard Rudolph), February 9, 2015, Jena, Germany

Maruyama M, Matsuda T

Physiological role of immunosenescence-associated gene, Zizmin2 and its family (Overall & Recent works)

Seminar at University College London (Prof. Dr. David Gems), February 13, 2015, London, UK

Maruyama M, Matsuda T

Physiological role of immunosenescence-associated gene, Zizmin2 and its family (Overall & Recent works)

Seminar at Ludwig-Maximilians University of Munich (Prof. Dr. Annette Mueller-Taubenberger), February 16, 2015, Munich, Germany

### III. 競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省

なし

#### 2. 文部科学省

丸山光生（代表）182 万円（総額 377 万円）

科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 挑戦的萌芽研究  
細胞老化関連遺伝子 TARSH を用いた肺癌の治療と予防

松田剛典（代表）195 万円（総額 351 万円）

若手 B 研究経費

Zizmin ファミリー遺伝子を介した免疫老化機構の解明

直江吉則（代表）247 万円（総額 520 万円）

科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究(C)  
ヘルパーT細胞機能発現の機序解析

飯田万由（代表）60 万円（総額 60 万円）

日本学術振興会 科学研究費補助金（奨励研究）

自律神経バランスの調節による唾液腺機能回復効果

### 3. 財団、その他

丸山光生（代表）149.6 万円（総額 149.6 万円）

牛乳乳製品健康科学学術研究

免疫系の加齢変化における牛乳摂取効果に関する研究

丸山光生（代表）36.2 万円（総額 36.2 万円）

北海道大学遺伝子病制御研究所一般共同研究 研究経費

Zizimin ファミリーの自然免疫系における機能と役割の解明

山越貴水（代表）200 万円（総額 200 万円）

公益財団法人 豊秋奨学会

炎症環境の構築における糖蛋白質の役割

山越貴水（代表）200 万円（総額 200 万円）

公益財団法人 長寿科学振興財団

口腔乾燥症の発症における唾液粘性物質の役割

岩下雄二（代表）200 万円（総額 200 万円）

公益財団法人 長寿科学振興財団

細胞老化を制御する long non-coding RNA を用いた細胞老化状態からの回復

赤津裕康（代表）280 万円（総額 280 万円）

本庄国際奨学財団 研究経費

エネルギー代謝産物、関連遺伝子の発現を指標にした高齢者腸内環境への栄養介入の検討

## 老化制御研究部

### (1) 構成員

部長 今井 剛

室長

遺伝子治療研究室 中西 章

流動研究員

梅田 真

吉田 和央

特任研究員

上尾 達也

実験補助員

田崎 秀尚

周 妍

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要 要約；査読付き学術論文 3 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。まだ、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。東京大学病院・工学部との共同研究も行っている。さらには、部長は平成 26 年度も東京医科大学客員教授・中部大学客員教授として研究・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人工ウイルスベクター

この 2 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:梅田真、上尾達也、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 の新規標的因子を同定・解析した。同因子遺伝子改変マウスは骨代謝異常を示した。

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 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、骨芽細胞分化マーカーであるオステオカルシンの転写の解析を行った。方法は PPRE と同様に OG2-luciferase vector を MC3T3-E1 にトランスフェクションした。また、平行して、他の骨芽細胞マーカーであるアルカリフォスファターゼ活性も測定した。その結果、PPAR- $\gamma$  のリガンドである Rosiglitazone は影響がなく、一方 PGJ2 誘導体は全て OG2 転写、アルカリフォスファターゼ共に有意に抑制した。よって、2つのことが判明した。一つは PGJ2 誘導体は骨芽細胞を抑制すること。もう一つは PGJ2 誘導体の骨芽細胞における標的因子は PPAR- $\gamma$  ではないこと。

そこで、PGJ2 の骨芽細胞における標的因子の同定に成功した。さらには、同因子の遺伝子改変マウスを作成したところ、同マウスは予想通り骨代謝異常であった。

老化制御研究部遺伝子治療研究室：中西章、吉田和央、周妍、田崎秀尚

## 認知症治療に関するデリバリー担体の開発研究

**要約**；認知症用治療薬剤の血液脳関門（BBB）通過促進を目指した新規デリバリー担体開発のため、in vitro BBB モデルの作成と、新規ディスプレイプラットフォームによるランダムペプチドライブラリーの構築を行った。また、アルツハイマー病に対する経口ワクチン担体作成を目的として腸管ウイルスを利用したベクターの作製に対する基盤研究を行った。

はじめに；アルツハイマー病を含む認知症の治療等において、血液脳関門（BBB）への透過性が低いため、薬剤等が脳実質へ効果的に導入できないことが問題となっている。本研究では抗体医薬などの高分子医薬に BBB 透過性を付与することを目的とした基盤研究を行った。

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、認知症病理の軽減の可能性が報告されている。われわれは、この療法効果を確実しかつより効果的なものとすべく、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**；BBB 通過をめざしたデリバリー

担体の開発のため、in vitro BBB モデルを作成した。iPS 細胞より分化誘導された iCell Endothelial cells を用い、十分な関門性を形成できる in vitro BBB モデル作成条件を検索した。脳微小血管内皮細胞に特徴的とされる 31 種の遺伝子の発現レベル、そしてトランスウェル培養で形成される関門性を指標にして、各種培養液、ヒトアストロサイト、ラットアストロサイト、ヒトペリサイトとの共培養などの条件から最も適切と思われる条件を見いだした。

BBB 通過モチーフのスクリーニングに用いるため、T7 ファージカプシド上において、ペプチドモチーフを構造的に安定に提示できる MCoTI-II モチーフを利用し、ランダムペプチドライブラリーを作成した。この際、不必要な核酸配列を除くため、各アミノ酸に対し 1 種のコドンのみ対応したランダムペプチドコード配列を利用した。現在は上記の in vitro BBB モデルを利用してこのライブラリーから BBB 通過モチーフのスクリーニングを行っている。

腸管への高い導入効率を持つとされるノロウイルスを基にした経口用導入ベクター開発への基盤研究を行った。本来細胞で増殖することが出来ないノロウイルスを細胞内に強制的に発現させることにより、組換え粒子



を効率的に作成することに成功した。  
この結果により、ノロウイルスのベク  
ター・ワクチンとしての利用可能性が

大きく前進した（国立感染症研究所と  
の共同研究として論文発表）。

## 研究業績（老化制御研究部）

### I 論文発表

#### 1 原著

Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK.

Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA.

**Proc.Natl.Acad.Sci.USA**.111; E4043-E4052, 2014

Uebi T, Umeda M & Imai T\*.

Estrogen induces Estrogen Receptor alpha expression and hepatocyte proliferation in the livers of the male mice.

**Genes to Cells** 20(3):217-223, 2015

IF=2.855

Umeda M, Hiramoto M & Imai T\*.

Partial hepatectomy induces delayed hepatocyte proliferation and normal liver regeneration in ovariectomized mice.

**Clinical and Experimental Gastroenterology**, accepted.

#### 2 総説

該当なし

#### 3 著書、Chapters

該当なし

#### 4 その他、新聞・報道等

Imai T.

Editorial Board Member of International Journal of Chemistry

Reviewer of Drug Design, Development and Therapy (2013-)

Reviewer of Nanotechnology, Science and Applications (2013-)

Reviewer of Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy (2013-)

Reviewer of Journal of Receptor, Ligand and Channel Research (2013-)

Editorial Board Member of Pharmacologia (2014-2015)

Guest editor of Letters in Applied NanoBioScience

Marquis Who's Who Publication 2013

2000 Outstanding Intellectuals of the 21st Century 2013

## 5 特許申請、取得状況

(有償譲渡特許あり)

## II 学会・研究会等発表

### 1. 国際学会招待講演

#### 一般講演

Association of autophagic process during human astroviral infection.

Nakanishi A, Tange S, Tasaki H, Zhou Y

American Society for Virology (2014) June 22, Fort Collins, Colorado, United States

Functional complementation of VP2 in murine norovirus.

Yoshida K, Zhou Y, Takai-Todaka R, Katayama K, and Nakanishi A

17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (2015) Jan. 29, Taipei, Taiwan

### 2. 国内学会発表

ポリオーマウイルスの細胞感染効率は Vp2/3 が関与する細胞内移行ステップに影響される.

中西 章、山本真由子

第 62 回日本ウイルス学会学術集会 2014 年 11 月 12 日 横浜

レポーター遺伝子を内包したノロウイルス感染性粒子作製の試み.

戸高玲子、村上耕介、岡智一郎、朴英斌、中西 章、脇田隆字、片山和彦

第 62 回日本ウイルス学会学術集会 2014 年 11 月 11 日 横浜

Examination of intracellular processes that associate with formation of astroviral replication complexes.

Zhou Y, Tasaki H, Nakanishi A

第 37 回日本分子生物学会 2014 年 11 月 27 日 横浜

#### 4. その他、セミナー等

該当なし

### III 競争的資金獲得実績

#### 1 厚生労働省

中西 章（分担）180 万円(総額 2,470 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

「培養細胞感染系の確立されていない病原体の実験技術の開発と予防診断法に関する研究」

中西 章（分担）100 万円(総額 2,294 万円)

厚生労働省科学研究委託費 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

「下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究」

#### 2 文部科学省

該当なし

#### 3 財団、その他

今井 剛（分担 800 万円、総額 4,000 万円）

科学技術振興機構 S イノベーション

今井 剛（分担 200 万円、総額 600 万円）

科学技術振興機構国際共同研究

## 共同利用推進室

### (1) 構成員

室長 渡邊 淳

研究補助員 松崎三記子

### (2) 平成26年度研究活動の概要

長寿医療研究を推進していく上で必要な様々な共同利用機器の円滑かつ効率的な管理運用及び共同利用スペースの整備を行った。

本年度はマグネトロニオンスパッタ装置、振動刃ミクロトーム、タイムラプスイメージング装置、次世代シーケンサー(MiSeq)、DNA Shearing システム、自動 DNA 断片ゲル抽出装置が共用機器として研究所に導入され、これらの機器の講習会を行った。また、2次元電気泳動装置や近赤外蛍光、電気化学発光法を用いた新規イムノアッセイシステム、多光子共焦点レーザー顕微鏡、超解像顕微鏡等のテクニカルセミナーを通して、最新技術に関する情報提供を行った。さらに、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を行った。

研究に関しては、昨年度に引き続き血中タンパク質のプロテオーム解析及び家族性血管性認知症の発症メカニズムの解明に関する研究を行った。

**血中タンパク質のプロテオーム解析：**健常者及びアルツハイマー病患者の血中の微量タンパク質の網羅的

な解析を行った。各々の血清 40  $\mu$ l をリン酸バッファーで5倍に希釈し、0.22  $\mu$ m のスピンフィルターを用いて、16,000 x g で1分間遠心し、夾雑物を除去した。得られたサンプルはアルブミン、IgG、IgA、 $\alpha$ 1-アンチトリプシン、トランスフェリン、ハプトグロビン、フィブリノゲン、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、 $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質、補体タンパク質 C3、IgM、アポリポプロテイン AI、アポリポプロテイン AII、トランスサイレチンといった血液中に高濃度に含まれる主要な 14 種類のタンパク質の抗体が固定化されたアフィニティーカラムを用いて、液体クロマトグラフィーで分離を行った。素通り画分と吸着した画分に分けた後、各々の画分は遠心フィルターによって 3 kDa 以上の分子量のタンパク質を集め、それぞれ直接トリプシンで消化を行った。各消化物は低流量で流せる HPLC を用いた nanoLC/MS/MS によるショットガン分析に供した。これらのプロテオーム解析によって、アルツハイマー病患者の早期診断マーカーの同定を試みている。

**家族性脳血管性認知症 CADASIL の発症メカニズムの解明に関する研究：**血管性認知症において原因遺伝子 Notch3 が同定されている家族性脳血管性認知症 CADASIL (Cerebral

Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy)に着目し、変異 Notch3 を導入したノックインマウスを用いて、変異 Notch3 が血管の変性にどのように関わるか免疫組織化学的及びプロテオーム解析を行い、血管変性メカニズムの解明を試みた。

CADASIL 変異 Notch3 (C225Y)を導入したノックインマウス及び Notch3 欠損マウスでは、老齢期の脳切片において、 $\alpha$ -smooth muscle actin の染色性の低下及びコラーゲンによる血管壁の肥厚が観察された。そこで、マウス脳のプロテオーム解析によって、変異型ノックインマウス及び欠損マウ

スで、野生型に比べて蛋白質レベルでも変動がみられないか解析を行った。マウス脳をプロテアーゼ阻害剤を含む PBS でホモジェナイズし、RIPA buffer、Urea/Thiourea 溶液、およびギ酸で可溶化した。それぞれの画分は SDS-PAGE および Western blotting によって比較を試みた。また、各画分はトリプシンを用いて消化し、得られた各々のペプチドを質量分析装置に供した。各画分の解析によって、変異型ノックインマウス及び欠損マウスで変動している蛋白質をリストアップした。これらの解析を通して、CADASIL の分子レベルでの病態解明を試みている。

## 研究業績（共同利用推進室）

### 1. 論文発表

#### 1. 原著

該当なし

#### 2. 総説

該当なし

#### 3. 著書、Chapters

該当なし

#### 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

## II. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム、特別講演

該当なし

### 2. 国際学会発表

該当なし

### 3. 国内学会発表

渡邊 淳，國本正子，高橋慶吉.

変異型Notch3ノックインマウス脳のプロテオーム解析

第33回日本認知症学会学術集会, 2014年11月, 横浜

永田有希，紙田正博，谷口美也子，服部功太郎，吉田寿美子，後藤雄一，渡邊 淳，檜垣小百合，神徳好美，有馬邦正，徳田治彦，文堂昌彦，櫻井孝，浦上克哉，尾野雅哉，新飯田俊平.

認知症患者由来の髄液を用いたプロテオーム解析

第37回日本分子生物学会年会, 2014年11月, 横浜

### 4. その他、セミナー等

該当なし

## III. 競争的資金獲得実績

### 1. 厚生労働省

該当なし

### 2. 文部科学省

該当なし

### 3. 財団、その他

該当なし

## 実験動物管理室

### (1) 構成員

室長 小木曾 昇

研究補助員

高野 聡美

六車 香織

秋山 彩子

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要

実験動物管理室は、センター内で実施される動物実験の適正化に向けての指導や助言をはじめとして、実験動物施設棟やセンター内飼養保管施設（第 1 研究棟 RI 管理区域、第 2 研究棟）における動物福祉に配慮した環境整備等の管理業務を行った。また、技術支援業務として生殖工学技術を利用した技術支援（マウス SPF 化、配偶子凍結保存等）を行った。

#### 1) 実験動物施設棟の利用実績

平成 26 年度の実験動物施設棟の利用者はのべ 2,980 人（前年比 12%減）あった。

#### 2) 実験動物の搬出入

ブリーダーや他の研究機関から 158 件（マウス 149 件 1,706 匹、ラット 9 件 138 匹）の動物の搬入（前年比 35.9%減）があった。一方、動物の搬出についてはマウス 11 件（136 匹）と増加（前年比 57.1%）した。

#### 3) 実験動物施設棟の環境衛生整備

実験動物施設棟 1 階の動物管理区域で飼育していた動物（旧実験動物施設棟から移動したマウス）の飼育期間が 12 月末で終了し、翌月（平成 27 年 1 月）から共通実験室を含む飼育室のクリーニング作業を行った。作業後の環境モニタリング検査の結果、環境基準を超える真菌類が検出されたため再クリーニングを実施したが、一部の区域で改善が認められなかったことから、再検査の実施と専用カメラを用いて空調ダクト内の汚染状態を調査した。その結果、環境検査による真菌類が環境基準以下であることが証明され、平成 27 年度 7 月の運用開始を目標に、動物を用いたモニタリング検査の準備を進めている。また、現状の空調ダクトの構造に問題が見られ、真菌類の発生しやすい環境下であることがわかったため、今後、空調ダクトの改良（各部屋の給気口へのヘパフィルター装着等）を検討する予定である。

#### 4) マウスのパストレラ症感染

PCR 法による微生物モニタリング検査法が新しく確立され、試験的に検査を実施したところ、実験動物施設棟 1 階の 1 室（旧実験動物施設棟で実験飼育されたマウス）からパストレラの陽性個体が発見された。確認のため糞便又は個体の培養検査を実施したところ、陽性個体が再度認められた。陽性



個体については実験殺を行った。その後、囹マウスを用いた検査を重ねて実施したが陽性個体は発見されなかったため、今後の定期モニタリング検査の実施方法について検討することにした。

#### 5) 技術支援業務

技術支援業務として、37 件の依頼があった。その内訳は、マウスクリーン化（病原性微生物除去による SPF 化）4 件（センター内の飼養保管施設から依頼された 1 件含む）、凍結胚からの蘇生 3 件（国内外から供与された 2 件含む）、配偶子凍結保存 30 件（精子 24 件、胚 6 件）を行った。

#### 6) 動物実験に関わるセンター内業務

動物実験倫理委員会で審査した動物実験計画申請書の申請件数は 46 件（承認 46 件、非承認および非該当 0 件）あった。

動物実験取扱規程による動物実験講習会（教育訓練）を 11 回開催し 122 名（継続者含む）の受講があった。また、9 月より講習会には動物実験手技訓練用モデル（「NATSUME RAT」）を用いたデモ（保定、頸椎脱臼）も取り入れた。今後、安楽死処置を含めた実習の導入を検討している。

今年度からセンター内の飼養保管施設（実験動物施設棟含む 4 施設）及び動物実験区域（動物実験室 21 室）について調査を実施し、一部の飼養保管施設で飼育するケージラベルの表記について改善指導を行った。

### 配偶子凍結が加齢に及ぼす影響と動物福祉に配慮した個体管理システムの開発：

遺伝子組換え動物（Tg, KO, KI）や自然発症動物（ミュータント）を用いた動物実験は、医学・ライフサイエンス研究には必要不可欠であり、年々系統保存（配偶子凍結）も頻繁に行われている。ヒトの生殖医療においても配偶子の凍結保存が実施されているが、蘇生後から死に至るまでの解明は倫理的にも進んでいない。遺伝子組換え動物の作製、老年病モデルマウスのクリーン化（病原性微生物除去）を進めていく中で、奇形や寿命の変化等の個体の表現型に変異を認めたため、本年度は個体レベルでの加齢や老化の影響について解析した。

1) 老化モデル動物を用いた発生工学技術による個体作製とその特性について

生殖工学手法によって得た C57BL/6N マウスとエイジングファーム（ブリーダーから 4 週齢で購入し、24 ヶ月齢まで長期飼育しているマウス）との生存率（約 19 ヶ月齢）を比較したところ、前者（生存率 95%）が約 20%の高値を示した。従来の動物実験による研究報告では、体外培養による化学的（培養液の組成）にも物理的（ガラスキャピラリーによる受精卵の移し替え等による衝撃）にも体内培養と比較すると受精卵の発生速度や生存率に影響（体外培養成績が劣る）している。ヒトの生殖医療において、体外操作（体外受精、顕微授精）によ

り、正常卵子（体内受精）と比較して、ミトコンドリア機能、細胞周期、卵子活性に関連する遺伝子に変異が生じることが複数報告されている（ゲノムインプリンティング異常など）。今回の結果では予想していた結果と異なるものであり、卵子レベルでの解析（老化に関係する遺伝子を中心）を進める計画である。

## 2) 配偶子凍結融解と動物個体の特性

マウスのクリーン化（病原性微生物除去）を進める中で8系統の凍結受精卵を融解・移植し、約100匹の産仔を得た（前年度報告済み）。そこで、遺伝子改変マウスや自然発症マウスより、Ziz2TgマウスやSAMマウス（R1, P1, P8, P10）、C57BL/6Nマウスの6系統を選定し、時間軸にそった調査を行うことで加齢に対する表現型や生存率などの影響の解析を行っている。

## 3) 動物福祉に配慮した個体管理システムの開発

動物福祉に配慮した個体識別と記録の両方を備えたシステムの開発を進めているところである。この一元統合した管理システムは国内外に製品化されてない。

通常、QRコードの読み取りには専用のスキャナーを使用する。今回、携帯端末（タブレット）で読み取りが可能であること（個体管理記録）、個

体識別を併用したタグを考案し、タグのサイズや軽量化について検討を進めた。従来の金属タグ（重量0.19g）に対して新規開発タグ（重量0.11g）が完成した。また、新規タグをマウスの耳介に装着し、脱落やタグ装着によるストレスに起因する行動異常等は発見されなかった。そのタグはマウスの耳介に装着してから1年程度経過のため、マウス個体の状態（体重、生存日数、行動等）を継続して観察している。

一方、動物の個体以外のケージや飼育ラックの識別、匹数等の情報をパソコン及び携帯端末（タブレット）を利用した一元個体管理システムの構築を進めたところ、ネットワークやソフトのプログラミングの必要があり、新規申請時の最終年に当たる本年に外注委託を計画したが研究予算により断念した。

今後、開発した耳タグは本目的以外にも脱走や行方不明の個体の検索にも応用できる。また、動物飼育者の人員不足や人件費削減の理由から近い将来、動物の飼育管理（動物観察、ケージ交換等）の自動化も考えられており、企業との共同研究を進めているところである。従って、耳タグの管理システムは、動物管理の基本となるもので非常に有用であり、さらなる開発を進めているところである。

## 研究業績（実験動物管理室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

なし

#### 2. 総説

なし

#### 3. 著書、Chapters

- 1) 小木曾 昇, 高野聡美, 六車香織 「国立長寿医療研究センター研究所新実験動物施設棟の紹介」, 岡山実験動物研究会報, 30: 42-45 (2014)
- 2) 加藤秀樹, 小木曾昇 「遺伝的モニタリング」, 実験動物技術, 49 (2) :81-82 (2014)

#### 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

- 1) Ogiso N, Takano S, Yamaguchi K, Muguruma K.  
Effect of Aging about Ontogeny from Early Development Through the Introduction of Reproductive Engineering in Aging Model Mice  
AFLAS CONGRESS 2014, November 11 and 12, 2014, Kuala Lumpur, Malaysia

### 3. 国内学会発表

#### 1) 小木曾昇, 高野聡美, 六車香織

国立長寿研における PCR を用いた微生物モニタリング検査導入に関する検討—現場における 3Rs への貢献—

日本実験動物科学技術さっぽろ（第 61 回日本実験動物学会総会，第 48 回日本実験動物技術者協会総会），2014 年 5 月 14-17 日，札幌

#### 2) 高野聡美, 小木曾昇, 六車香織

新実験動物施設棟における耐震対策について—耐震器具の有用性と安全性—

日本実験動物科学技術さっぽろ（第 61 回日本実験動物学会総会，第 48 回日本実験動物技術者協会総会）2014 年 5 月 14-17 日，札幌

#### 3) 尾前哲也, 小木曾昇, 高野聡美, 六車香織

加齢動物育成のための動物福祉に配慮した飼育環境の整備 —長期飼育に適した床敷き材の検討—

日本実験動物科学技術さっぽろ（第 61 回日本実験動物学会総会，第 48 回日本実験動物技術者協会総会）2014 年 5 月 14-17 日，札幌

#### 4) 小木曾昇, 高野聡美, 六車香織

老化モデル動物を用いたマウスクリーン化と生殖医療研究への有用性

日本実験動物科学技術さっぽろ（第 61 回日本実験動物学会総会、第 48 回日本実験動物技術者協会総会）2014 年 5 月 14-17 日，札幌

#### 5) 小木曾昇, 高野聡美, 山口一路, 六車香織, 早川朋子, 丸山光生

老化・老年病モデル動物を用いたマウス SPF 化，第 37 回日本基礎老化学会大会，2014 年 6 月 26-27 日，大府

### 4. その他、セミナー等

#### 1) 小木曾昇

実験動物施設における環境制御へのあらたなる挑戦，光触媒技術の導入による衛生管理等への有用性—老化・老年病モデル動物の長期飼育を例にして—

日本実験動物科学技術さっぽろ（第 61 回日本実験動物学会総会、第 48 回日本実験動物技術者協会総会）ランチオンセミナー，2014 年 5 月 14-17 日，札幌

#### 2) 小木曾昇

動物実験に関わる法律と実験動物福祉

日本実験動物技術者協会基本技術講習会，2013 年 8 月 3 日，豊明

- 3) 小木曾昇, 高野聡美, 山口一路, 富田耕平, 六車香織  
光触媒技術導入による実験動物施設の環境衛生管理—老化・老年病モデル動物における適正な飼育環境をめざして—  
第 85 回東海実験動物研究会, 2014 年 8 月 30 日, 名古屋
- 4) 加藤恒雄, 小木曾昇, 小林英治, 高野聡美, 六車香織  
個別換気ケージ (IVC) システム用移動可能な耐震固定具の開発  
静岡実験動物研究会, 2014 年 10 月 10 日, 静岡
- 5) 小木曾昇  
実験動物と動物実験に関わる教育訓練  
日本実験動物技術者協会実技講習会, 2014 年 11 月 8 日, 名古屋

### III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省  
なし
2. 文部科学省  
なし
3. 財団、その他  
なし

## 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

三河隆太

特任研究員

奥野海良人

研究生

田中貴啓

水梨寛康

後藤弥生

研究補助員

高柳亜紀子

岸 智美

西村ともみ

事務補助員

福庭やよい

管理補助員

今井康雄（千代田テクノル）

### (2) 平成 26 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）を平成 26 年 4 月 25 日 14：00～16：00 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 6 名であり、再登録者は 43 名であった。平成 26 年 11 月に事業所の住所変更に伴う届出を行った。

研究活動：

#### 研究課題 1

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）の発現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 26 年度は QA 産生を抑制する IDO 特異的阻害剤の開発を継続した。また、最近脳において肝臓型トリプトファン代謝酵素 TDO の脳における発現が確認され、神経変性疾患と関連が報告されたことから、TDO の特異的阻害剤の開発を開始した。

#### 研究成果

静岡県立大学創薬探索センターとの共同研究として IDO 阻害剤の開発を平成 17 年度から行っている。同センターの化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、これまでにヒット化合物を数種類得ていたが、本年度はその誘導体を合成し構造最適化を継続した。一方、トリプトファン代謝酵素（TDO）も脳内において神経毒 QA を産生に関与することが明らかにされたことから、静岡県立大学創薬探索センターが所有する化合物ライブラリー

について TD0 阻害剤のスクリーニングを開始した。当管理室はヒト TD0 の遺伝子組換え体が大腸菌で発現し、精製純化した標品を静岡県立大学創薬探索センターに提供した。

## 研究課題 2

メタボローム情報に基づくアルツハイマー病の創薬標的の探索

### 研究目的

本研究は 6 ナショナルセンター合同研究である多層的疾患オミックス解析による創薬標的の網羅的探索を目指した研究（独立行政法人医薬基盤研究所保健医療分野における基礎研究推進事業。研究期間：平成 22 年～平成 26 年）のとして実施されるもので、特に生体内代謝物質の総体であるメタボローム情報に基づく創薬標的探索を行い、病態などの表現形質の発現に直結する生体内代謝物の変動を指標に、新規の創薬標的候補を探索する。疾患として、国民罹患率が高く経済的な損失をもたらしているアルツハイマー病（AD）を対象とし、国立長寿医療研究センターの臨床試料病変部位等を用いて、解析拠点（慶応大学先端生命科学研究所及び国立医薬品食品衛生研究所）が質量分析法により、生体内代謝物を網羅的に測定する。

### 研究成果

（１）AD（n=31）、AD の予備群とされる軽度認知障害（MCI）（n=35）と健常者（n=60）の血漿イオン性代謝産物の

メタボロミクス解析においてバイオインフォマティックス的解析を平成 25 年度から継続した結果、5-7 種類の代謝産物の相関解析により高い精度で MCI 及び AD 診断が可能であることを見出した。これらの新知見を特許申請すべく準備を進めた。

（２）AD（n=20）と健常者（n=20）の脳脊髄液のメタボロミクス解析を実施した結果、AD において、糖、脂質、核酸、アミノ酸を含むグローバルな代謝変動が生じていることを解明した。

## 研究課題 3

知の拠点あいち重点プロジェクト「超早期診断装置の開発」（研究期間：平成 22 年～平成 26 年）

### 研究目的

次世代産業創出を目指し、本プロジェクトでは半導体イオンイメージセンサーを使用した在宅型の血液・尿のアルツハイマー病及びパーキンソン氏病の高感度・迅速早期診断マーカー測定装置を開発する。

### 研究成果

平成 25 年度に豊橋技術科学大学の澤田らが開発した半導体イオンイメージセンサで抗原—抗体反応を高感度で測定する磁気微粒子法の開発に成功した（特許出願 PCT/JP2014/064177）。本法ではセンサ表面に異なる抗体を固定化した磁気微粒子を塗り分けることで、同時に多成分の測定が可能になる。本年度はマ

イクロシリンジ型の自動微量スポットター（武蔵エンジニアリング社製）を購入し、その塗り分け技術を確立した。また、尿中の AD 診断マーカーである AD7c-NTP の大腸菌における大量産生と精製を行った。

## 研究業績（ラジオアイソトープ管理室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Tanizaki Y, Kobayashi A, Toujima S, Shiro M, Mizoguchi M, Mabuchi Y, Yagi S, Minami S, Takikawa O, Ino K.

Indoleamine 2,3-dioxygenase promotes peritoneal metastasis of ovarian cancer via inducing immunosuppressive environment.

**Cancer Sci**, 105:966-973, 2014.

#### 2. 総説

滝川修

トリプトファン代謝異常の病態生理学的意義：がんとアルツハイマー病を中心として.

**アミノ酸研究**, 8:25-34, 2014.

#### 2. 著書、Chapters

なし

#### 3. その他

なし

#### 5. 新聞・報道,等

滝川修

日本経済新聞、平成 26 年 6 月 29 日（日）朝刊、「病気 半導体で早期発見 微量な原因物質検出可能に」

滝川修

TBS「駆け込みドクター!」、平成 26 年 12 月 7 日（日）、アルツハイマー病特集番組にて血液 1 滴高感度測定装置について取り上げられる。



#### 滝川修

TBS「駆け込みドクター!」、平成 26 年 12 月 20 日 (土)、上記内容関東地方にて再放送。

#### 滝川修

日本テレビ「世界一受けたい授業」、平成 27 年 1 月 17 日 (土)、血液 1 滴高感度測定装置について取り上げられる。

#### 6. 特許申請、取得状況

発明者：滝川修、奥野海良人、吉見立也、澤田和明、奥村弘一

発明の名称：化学・物理現象検出方法及びその装置

出願年月日：平成 26 年 5 月 28 日

出願番号：PCT/JP2014/064177

出願人：独立行政法人国立長寿医療研究センター・国立大学法人豊橋技術科学大学

発明者：滝川修、吉見立也、田中耕一、川畑慎一郎

発明の名称：微小生体組織片の作製装置、作製方法、及び化合物のスクリーニング方法

出願年月日：平成 26 年 10 月 17 日

出願番号：特願 2014-212627

出願人：独立行政法人国立長寿医療研究センター、株式会社島津製作所

#### 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

Kayano M, Hirayama A, Washimi Y, Bundo M, Sakurai T, Tokuda H, Soga T, Niida S, Takikawa O.

Blood biomarkers for Alzheimer's disease revealed by capillary electrophoresis/mass spectrometry (CE/MS)-based metabolomics.

Tenth Annual International Conference of the Metabolomics Society, June 25, 2014, Tsuruoka, Japan.

Antonio Coluccia, Giuseppe La Regina, Okuno A, Takikawa O, Romano Silvestri.

New modulator of the tumoural immuno escape via Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibition.

XXV CONGRESSO NAZIONALE DELLA SCI “SCI2014”, September 7, 2014, Rend CS, Italy.

Okuno A, Yoshimi T, Okumura K, Sawada K, Takikawa O.

Development of High-speed and Super Sensitive Device for Detection of Amyloid- $\beta$  Peptide Using an Ion Image Sensor.

IEEE International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science(MHS) 2014, November 10-12, 2014, Nagoya.

### 3. 国内学会発表

Mikawa R, Okuno A, Takayanagi A, Okada K, Yoshimi T, Takikawa O.

Characterization of Amyloid- $\beta$  Degrading Activity in Human Serum.

日本基礎老化学会第 37 回大会、平成 26 年 6 月 26 日、東浦。

滝川修、吉見立也

イメージング質量分析の最前線：創薬と生命科学への応用。

第 87 回生化学会大会フォーラム 4F04、2014 年 10 月 18 日、京都。

三河隆太、奥野海良人、高柳亜紀子、吉見立也、滝川修

ヒト血清中のアミロイド  $\beta$  分解活性の同定

第 87 回日本生化学会大会、平成 26 年 10 月 18 日、京都。

奥野海良人

イオンイメージセンサを用いたアルツハイマー病原因物質の高速高感度測定装置の開発

新技術説明会 中部地区 医療・バイオ系シーズ発表会、平成 26 年 12 月 10 日、名古屋。

### 4. その他、セミナー等

滝川修

トリプトファン代謝異常とアルツハイマー病

日本アミノ酸学会主催第 4 回産官学連携シンポジウム、平成 26 年 6 月 16 日、

東京.

滝川修

アルツハイマー病 (AD) 研究の最前線 : Trp 代謝異常と早期診断マーカー  
第 36 回トリプトファン研究会学術集会、平成 26 年 10 月 17 日、旭川.

滝川修

凍結組織切片のイメージング質量分析による病原蛋白 PET 診断薬開発システム  
メディカルジャパン 2015 大阪、平成 27 年 2 月 5 日、大阪.

奥野海良人、吉見立也、奥村弘一、澤田和明、滝川修

イオンイメージセンサを用いたアルツハイマー病原因物質の高速・高感度検出装置の開発  
第 62 回応用物理学会春季学術講演会、平成 27 年 3 月 11 日、神奈川.

### III. 競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省

滝川 修 (分担) 430 万円

独立行政法人 医薬基盤研究所 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.

#### 2. 文部科学省

滝川 修 (分担) 150 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.  
分子イメージングによるタウ凝集阻害薬開発.

滝川 修 (代表) 169 万円 (総額 533 万円)

科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金) 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アミロイド代謝に及ぼす影響.

奥野 海良人 (代表) 117 万円 (総額 416 万円)

科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金) 若手研究 (B).  
内因性神経保護物質キヌレン酸の栄養的増加によるアルツハイマー病予防

及び治療の試み.

### 3.財団、その他

滝川 修（分担）975万円

愛知県 知の拠点（超早期診断技術開発プロジェクト）.

アルツハイマー病・パーキンソン病等を早期発見する無侵襲計測システム開発.

## バイオリソース研究室

### (1) 構成員

室長 矢澤 生

流動研究員

鈴木 康予 (4~6 月)

シャリフハサン (7 月~)

特任研究員

橋本 成花 (10 月~)

研究生

橋本 成花 (4~9 月)

中山貴美子

研究補助員

都竹 佳子

客員研究員

岩瀬 環

### (2) 平成 26 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バイオリソースに関する研究を行う。バイオリソース研究室では、認知症等に起こる神経変性の発病機構の解析のために、中枢神経系病理組織のバイオリソースの蓄積及び病理組織バイオリソースを活用する研究を行った。病理解剖から由来する病理組織である「病理組織バイオリソース」では、収集する病理試料が死体組織であることから死体解剖保存法を遵守し遺族等からの病理組織の返却に対応するために連結可能匿名化による収集を行った。病理組織の活用研究に関して、平成 26 年 12 月、センター利益相反・倫理委員会の承認を得て

実施した。

バイオリソースの蓄積のための研究では生命倫理だけでなく、時代背景にあった社会的なコンセンサスを十分に配慮する必要がある。近年、病理解剖の減少や病理医の不足等により「病理組織バイオリソース」の研究はより困難になっている。そこでこれらの問題を解決するために、地域の病院間で連携し病理医が勤務しない病院であっても病理組織の活用研究が可能となるシステムの構築をめざした。地域の病院間でそれぞれの病理解剖や組織診断に関する得意分野を生かし、病理解剖の役割を分担することにより、病理解剖の情報を相互に活用できる情報ネットワークの構築を検討した。さらに長期的な視点で病理組織リソースを確保することを検討した。同時に、「病理組織バイオリソース」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などにより、明快に研究成果を国民に還元する研究を実施した。広報活動としてセンターホームページを活用し、「病理組織バイオリソース」に関する情報提供を行った。組織活用研究においては、インターネットを使って個別の難病相談を実施し、海外からも問い合わせがあり患者家族に研究成果を報告した。さらに、組織活用研究に関する研究成果が論文として発表されると、国内外の共同研究の申し込みが相次いだ。その受け入れ態勢について慎重に検討を行い、神経変性

に対する創薬研究について民間企業との共同研究を開始した。

### 1) 病理解剖診断ネットワークの構築と「病理組織バイオリソース」の活用

近年、病理解剖の症例数が減少する一方で、維持さらに増加する病院がある。愛知県では福祉村病院（豊橋市）や名古屋市厚生院等である。高齢者施設を併設する病院などであり、これらの施設との連携を実施し、神経病理診断などの病理解剖の基本情報の交換を積極的に行った。具体的には定期的に各施設の病理解剖症例の組織所見を検討し、神経病理診断の診断基準を統一した。さらに、診断の一環として病理組織の遺伝子診断や新たなタンパク質の病理学的な形態解析を行っている。「病理組織バイオリソース」の構築では、患者遺族、臨床医、病理解剖医、そして研究者、関連するすべての人々の理解と協力が必要である。特に、提供する側の人々に対する配慮を忘れてはならない。

アルツハイマー病 (AD) は、単純に  $\beta$  アミロイドの蓄積（老人斑）とタウ蛋白の蓄積（神経原線維変化）だけの形態的な変化だけではないことが神経病理学的な検討で明らかになってきた。AD ではタウ由来の嗜銀性顆粒が辺縁系に分布する argyrophilic grain dementia (AGD) や synuclein などの他の蛋白蓄積の合併が多く、過去の研究では AD と病理診断される解剖症例の約 30%において AD 病理以外の病変を

認めることが明らかになった。この事実により、神経病理解剖組織をバイオリソースとして研究活用する際には、十分な病理診断と解析が必要であることが裏付けられた。そこで、神経病理診断について十分な症例の経験を持つ関係機関と相互に連携して、神経変性疾患に関する新しい診断の基準について検討する体制を整えた。

### 2) 「病理組織バイオリソース」の活用に関する研究

「病理組織バイオリソース」の活用研究は、組織形態学だけではなく生化学や分子生物学などの幅広い分野で実施することが可能である。さらに活用研究では、病理組織バイオリソースから得られた発病機構などの研究情報を、生きたモデル細胞や動物を解析することにより、ヒト試料活用研究を疾患モデル研究と並行して行い効率的な治療法開発研究を実施することができる。さらに、疾患モデル研究は「病理組織バイオリソース」におけるヒト病態と比較検討することにより効果的な治療研究へと展開することを可能にする。

中枢神経の病気の中で、認知症のように「脳の神経細胞が徐々に脱落する」病態を神経変性と呼ぶが、多くの神経変性は神経細胞にタンパク質が異常に蓄積することが原因であることが知られている。パーキンソン病や多系統萎縮症について病気で死亡した患者脳組織を調べることにより、中枢神経の病変では神経細胞やグリア

細胞に alpha-synuclein タンパク質が蓄積して神経細胞が脱落し、運動機能障害や認知機能低下の症状が起こることが明らかになった。本研究では神経変性に対する根本的な治療法開発を目指し、ヒト脳組織の解析から得られた知見から、治療法標的となる分子の同定や変性過程の解析を行った。我々の過去の動物モデルの実験などから、alpha-synuclein は神経細胞で微小管のチューブリンタンパク質と結合して不溶化、蓄積することが明らかにした。本研究では第一に、微小管と結合し蓄積する alpha-synuclein の蓄積では、マウス脳の初代培養の研究から、オリゴデンドロサイト（グリア細胞）から発するシグナル分子としてシスタチンが引き金になることを解明した。第二の研究成果として、治療標的として alpha-synuclein の微小管チューブリンタンパク質との結合を阻害すると、タンパク質の蓄積が抑制され、神経細胞死が抑えられることを見出した。これら 2 つの研究成果は、オリゴデンドロサイトに関係する神経細胞の変性では、alpha-synuclein の蓄積を抑制することが可能であることを示し、新しい治療法開発に向かう足掛かりをつくった。さらに、alpha-synuclein 蓄積抑制の治療標的としてシスタチンに関する阻害効果を対象とすることが重要であることが分かった。

## 研究業績（バイオリソース研究室）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Suzuki, Y., Jin, C., Iwase, T., and Yazawa, I.:

beta-III Tubulin fragments inhibit alpha-synuclein accumulation in models of multiple system atrophy.

**J Biol Chem**, 289: 24374–24382, 2014.

#### 2. 総説

なし

#### 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

鈴木康予, 金成花, 矢澤生.

多系統萎縮症におけるオリゴデンドロサイト由来シスタチン C が神経細胞の  $\alpha$ -synuclein 蓄積を誘導する.

第 37 回日本神経科学大会, 2014 年 9 月 11 日午後, パシフィコ横浜（横浜市）

#### 3. その他、セミナー等



なし

### III. 競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省 なし

#### 2. 文部科学省

矢澤生、(代表) 110 万円 (総額 110 万円)

科学研究費補助金基盤研究(C) 25430058

微小管蛋白に結合する  $\alpha$ -synuclein 蓄積抑制法の開発

#### 3. 財団、その他

矢澤 生、(代表) 100 万円

公益財団法人精神・神経科学振興財団

多系統萎縮症モデルマウスを使ったパーキンソニズムの解析.

## 老化細胞研究プロジェクトチーム

### (1) 構成員

プロジェクトリーダー

杉本 昌隆

流動研究員

橋本 理尋

研究補助者

浅井あづさ

矢田 智子

### (2) 平成26年度研究活動の概要

老化細胞研究プロジェクトチームでは、分子生物学・細胞生物学的見地から、生命の基本単位である細胞レベルでの老化現象について研究を行っている。

ヒトを含む哺乳動物の殆どの体細胞は、ストレスを受けると細胞老化と呼ばれる恒久的な細胞増殖停止状態に陥る。細胞老化には、p53 や RB を始めとする複数の癌抑制タンパク質が関与しており、生体において細胞老化は極めて重要な癌抑制機構として機能することが明らかになっている。一方で、個体の老化現象に細胞老化がどのように関与するのかについては不明な点が多く残されている。しかしながら近年、細胞老化が加齢に伴って生じる生体機能の変化に関与する可能性が指摘され、改めて細胞老化と個体老化との関連が注目を浴びている。

本プロジェクトチームでは、①細胞老化のメカニズム、および②細胞老化の生体における役割（特に加齢に伴って生じる変化における役割）の2点について解析を行っている。

#### ① 細胞老化のメカニズムに関する研究

細胞老化の際には不可逆的な細胞増殖の停止が起こることが古くから知られていた。しかしながら近年、細胞老化を起こした細胞は単に増殖を停止しているだけでなく、様々な生理活性物質を分泌し、周辺の細胞の機能に影響を与えることが明らかになった。このような老化細胞特異的な分泌表現型は SASP (Senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれ、加齢に伴う生体機能の変化に寄与することが示唆されている。

前年度に本プロジェクトチームは、細胞の分裂寿命の制御に HuR と呼ばれる RNA 結合タンパク質が、細胞老化をコントロールする上で重要な役割を持つことを報告した(参考文献)。HuR の発現は、細胞老化時に低下するが、分裂寿命を迎える前の細胞において HuR の発現を阻害すると、ARF-p53 経路依存的な細胞増殖の停止が見られた。この時、増殖を停止した細胞では、SA- $\beta$  Gal 活性の上昇や形態の変化、また細胞老化遺伝子マーカーの上昇など、様々な細胞老化表現型が認められた。従って HuR は細胞の分裂寿命を維持するのに必要な因子であると考えられた。

HuR の発現を sh-RNA で阻害した細胞では、上に記した細胞老化表現型とともに、SASP 類似の様々なサイトカインの発現上昇が見られた(図1)。SASP の発現は、細胞老化時に細胞周

期の停止を担う経路とは異なる制御を受けていることが知られている。そこで本年度は、HuR が SASP 様の表現型を調節する機構について解析を行った。

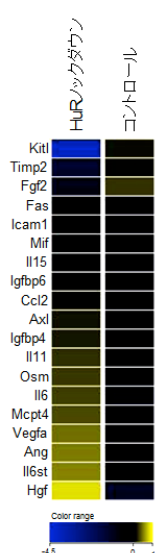


図1. HuR ノックダウン細胞におけるサイトカイン遺伝子発現の変化。コントロールおよびHuR ノックダウンマウス胚性繊維芽細胞からRNAを抽出し、マイクロアレイ解析を行った。アレイデータから変動が見られたSASP遺伝子を抽出し、ヒートマップを作成した。

HuR を阻害した細胞では、様々なサイトカインの発現上昇が見られるが、これらサイトカインの発現は、p53 ノックアウト細胞でも同様に見られることから、細胞増殖制御経路とは異なるメカニズムで調節されていることが考えられた。転写因子 NF- $\kappa$ B は、様々な炎症性サイトカインの発現を制御し、SASP の調節においても中心的な役割を持つことが知られている。そこで HuR ノックダウン細胞における NF- $\kappa$ B の活性をルシフェラーゼレポーターアッセイおよびクロマチン IP で調べたところ、HuR をノックダウンすることにより NF- $\kappa$ B は p53 非依存的に活性が上昇し、また IL-6 などのサイトカイン遺伝子上にリクルー

トされることが明らかになった。

次に HuR 阻害時の NF- $\kappa$ B 活性化機構について解析を行った。細胞老化時には慢性的に DNA ダメージの蓄積が認められ、これがトリガーとなって NF- $\kappa$ B を活性化させることが既に報告されている。そこで HuR ノックダウン細胞で DNA ダメージが蓄積しているかをコメットアッセイによって調べたところ、興味深いことに一本鎖 DNA 切断の蓄積が認められた (図2)。

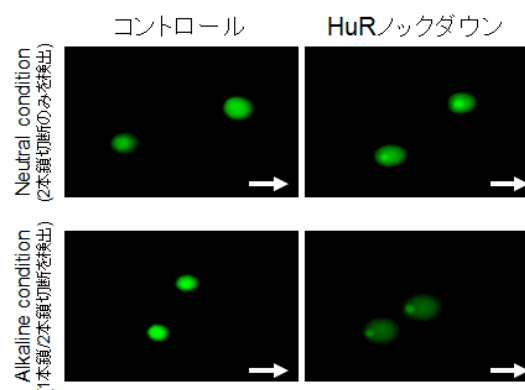


図2. HuR ノックダウン細胞では、一本鎖 DNA 切断が蓄積する。参考文献 Hashimoto *et al.*より改変。

以上の結果から、HuR を阻害することにより DNA 一本鎖切断が蓄積し、これが NF- $\kappa$ B の活性化へと繋がることが示唆された。HuR ノックダウン細胞で一本鎖 DNA 切断が蓄積する原因について調べたところ、この細胞では一本鎖 DNA 切断を起こす刺激に対してより高い感受性を示すことが明らかになった (図3)。DNA の一本鎖障害は、細胞増殖の過程において DNA

が複製される際に必ず生じる。通常この障害は速やかに処理されるが、HuR をノックダウンした細胞ではこの修復機構に何らかの異常があると考えられる。事実、マイクロアレイの結果から、複数の DNA 修復に関わる遺伝子の発現が低下していることが示されている。

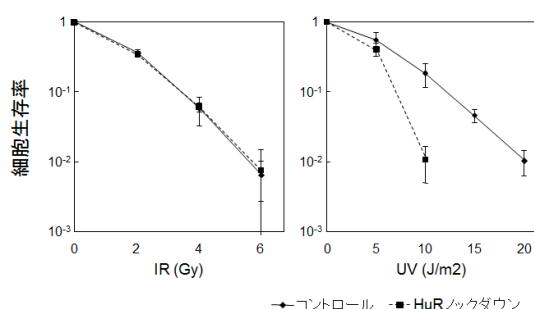


図3. HuR ノックダウン細胞では一本鎖 DNA ダメージに対する感受性が上昇している。参考文献 Hashimoto *et al.* より改変。

以上の結果から、HuR の発現が低下した細胞では、一本鎖切断が蓄積し、DNA ダメージシグナルが慢性的に活性を持ち、細胞老化が誘導されるのではないかと考えられた。ヒトにおいても、HuR の発現は加齢とともに低下する傾向にあることから、本年度我々が報告したこれらのメカニズムは、ヒトの加齢現象にも関与する可能性が考えられた。

## ②生体における細胞老化の役割

生体において細胞老化は癌抑制機構として機能していることは知られているが、個体の老化現象にどのよう

な寄与をなすかについては不明である。しかしながら、ヒトにおいても老齢個体の組織では老化細胞の蓄積が認められており、加齢に伴う組織機能の低下に細胞老化が関与する可能性が指摘されている。

我々は、老化細胞が加齢現象にどのような役割を持つのか明らかにすることを目的とし、前年度までに作製した生体から老化細胞を検出・排除可能なモデルマウスの解析を行っている。

肺組織は他の組織と比較して早期から老化細胞が蓄積する。肺の老化は、弾性繊維の減少に起因する弾性力の低下（コンプライアンスの上昇）を特徴とする。これらの特徴を示す肺は、「老人肺」と呼ばれ、COPD（慢性閉塞性肺疾患）のリスク要因となることが知られている。モデルとして我々が使用するマウスにおいても、生後1年以内に肺のコンプライアンスの上昇が見られた。このマウスから老化細胞を排除すると、弾性繊維の回復とともに弾性の回復が認められた。これらの結果から、少なくとも部分的には、肺の老化に細胞の老化が積極的に関与することが示唆された。

当該年度は、老化細胞を排除することにより肺組織の弾性が回復するメカニズムについて解析を行った。加齢に伴う肺組織の弾性の低下は、エラスチンを主成分とする弾性繊維量の低下に起因すると考えられている。COPD 患者の肺組織においても、エラスチン線維の顕著な低下が認められ、病態の発症に強く関与すると考えら

れている。マウスにおいてもヒトと同様に加齢に伴ってエラスチン量の低下とともに肺胞壁の厚さが顕著に減少した。しかしながら老化した細胞を排除した肺組織では、有意なエラスチン線維の回復が認められた。細胞老化に伴う SASP には、サイトカインのほかに様々なエラスチン分解活性を持つ細胞外プロテアーゼが分泌される。我々のモデルマウスにおいて、これらのエラスターゼの発現量を調べた結果、細胞老化の更新に伴い増加したエラスターゼは、老化細胞を排除することにより、若齢期と同程度まで減少することが示された。

以上の結果から、少なくとも肺組織の老化には細胞老化が極めて重要な役割を持つことが示唆された。また老化した細胞を排除することにより、肺

組織の弾性は可逆的に回復することから、呼吸器の機能を回復させる上で老化細胞は有効な創薬標的となり得ることが示された。

次年度は、これらの研究成果をまとめ国際誌への掲載を目指すとともに、肺気腫モデルを作製し、疾患と細胞老化の因果関係について明らかにする。

#### 参考文献

Kawagishi H. *et al.*, HuR maintains replicative lifespan by suppressing ARF tumor suppressor. *Mol. Cell. Biol.* 33. 1886-1900. 2013.

Hashimoto M. *et al.*, Loss of HuR leads to senescence-like cytokine induction in rodent fibroblasts by activating NF- $\kappa$ B. *Biochim Biophys Acta.* 1840. 3079-3087. 2014

## 研究業績（老化細胞研究プロジェクトチーム）

### I. 論文発表

#### 1. 原著

Takagi M., Uno M., Nishii R., Sugimoto M., Hasegawa S., Piao J., Ihara N., Kanai S., Kakei S., Tamura Y., Suganami T., Kamei Y., Shimizu T., Yasuda A., Ogawa Y., and Mizutani S.

ATM regulates adipocyte differentiation and contributes to glucose homeostasis.

**Cell Rep.** 10. 957-967. 2015

Hashimoto M, Tsugawa T, Kawagishi H, Asai A, Sugimoto M.

Loss of HuR leads to senescence-like cytokine induction in rodent fibroblasts by activating NF- $\kappa$ B.

**Biochim Biophys Acta.** 1840. 3079-3087. 2014

#### 2. 総説

杉本昌隆

若返りは可能か？.

**実験医学** Vol. 32 No. 14, 2248-2249, 2014

#### 3. 著書、Chapters

該当無し

#### 4. その他

該当無し

#### 5. 新聞・報道,等

「DNA 修復のたんぱく質 糖尿病発症に関与」日経産業新聞, 2015 年 2 月 25 日

#### 5. 特許申請、取得状況

中村英亮、杉本昌隆

ハイブリドーマ（特許第 5671669 号），2015 年 1 月 9 日登録

## II. 学会・研究会等発表

### 1. シンポジウム、特別講演

該当なし

### 2. 国際学会発表

Sugimoto, M.

Restoration of pulmonary function in aged animal by eniminating senescent cells.

The 2015 Aging Summit, London (UK), February 11, 2015

### 3. 国内学会発表

杉本昌隆、橋本理尋、浅井あづさ

Ablation of senescent cells ameliorates age-associated pulmonary hypofunction

日本基礎老化学会第 37 回大会, 愛知, 2014 年 6 月 27 日

橋本理尋、浅井あづさ、杉本昌隆

老化細胞除去による呼吸機能の回復

第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014 年 11 月 25 日

### 4. その他、セミナー等

該当無し

## III. 公的研究費

### 1. 厚生労働省

該当なし

### 2. 文部科学省

杉本昌隆, (代表) 80 万円 (総額 410 万円)

文部科学省科研費 基盤研究 (C)

RNA 制御を介した細胞分裂寿命の調節メカニズムと生体機能の解明

橋本理尋, (代表) 190 万円 (総額 310 万円)

文部科学省科研費 若手研究 (B)

老化細胞を標的とした 2 型糖尿病落ち量の可能性

3. 財団、その他  
該当なし



## 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

流動・研究開発研究員

國見 充展

木山 幸子

村澤 裕介

客員研究員

中野 正博

藤正 巖

松谷 明彦

峯 信一郎

行正 徹

玉川 雅章

山田 陽滋

飯高 哲也

山口 さちこ

金井 章

鈴木 敦命

伊藤 安海

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

山中 真

岩崎 弘利

奥谷 知克

大場 俊彦, 麻美

桜井 亨

中根 俊樹

田中 あゆ子

西井 匠

亀井 孝明

堺井 啓公

能登 裕子

研究生

伊藤 友一

久保田 怜

研究補助員・事務補助員

森 久乃

板橋 悦子

石垣 亜紀

成瀬 猛

奥村香保里

富村 敦子

高橋 良枝

### (2) 平成 26 年度研究活動の概要

高齢者の社会生活維持のための工学的方策として、交通外傷を含めた転倒等の人体損傷評価法の確立、認知症の早期診断技術の研究、および医療機関や在宅療養時に有効な診療・診断機器の開発を行い、医学と工学の両領域で成果発表を行なった。総論文数 10 本で、内訳は欧文 8 本、総説 2 本であり、ほぼ昨年と同程度の業績となった。

## 神経情報画像開発研究室：中井敏晴、國見充展、木山幸子 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機能低下の早期検出に役立てるために functional magnetic resonance imaging (fMRI) による脳機能画像を用いて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手法の開発を進めている。

fMRI を使った認知負荷テストの開発では、高齢者の認知機能の頑強性を評価するための段階的認知負荷試験 (progressive stress test; PST) の一回測定法の評価試験を行い、加齢による認知負荷に対する応答曲線の変化を定性的に捉えることができた。今後は、多変量解析により行動データとの関連性を明らかにし、臨床試験用プロトコルの仕様を検討する予定である。さらに、PST による認知負荷の程度を客観的に評価するために、eye camera を用いて自律神経反射を fMRI による脳機能マップ計測中に同時計測するシステムを構築した。聴覚提示による数字の判別課題を被検者に行わせたところ、課題の難易度の差により散瞳の程度が異なることを確認し、脳機能マップを作成する上での新しい情報の導入を実現する見通しを得た。

また、シンガポールとの二国間共同研究 (JSPS) として、認知訓練による介入効果を早期に予測するための脳機能計測プロトコルの開発を開始し、当研究室においては言語訓練の効果を fMRI 使って評価する方法の検討

を進めており、シンガポール側では作業記憶課題を用いて脳波による計測を行っている。2014 年 8 月 1~2 日にシンガポールにおいて本テーマに関するワークショップを開催し、約 60 名が出席した。

高齢者の運動支援において認知機能低下のスクリーニングを行うための画像技術フレームワークの開発では、高齢者の体力測定検査に用いられる視空間変換をモデルとした仮想まめ運びの作業パフォーマンスと安静時脳活動 (resting state network; RSN) の関連性を検討した。その結果、成績が下位の被検者群では Default Mode Network の活動が低下傾向にあった。この知見は認知機能低下のスクリーニング課題を設計する上で注目される。

高齢者の脳機能特徴を実際の臨床診断に用いる際に必要となる個人情報漏洩防止技術の開発では、連結情報の検索速度を向上するための改良を進め、検索速度の向上を図った。

医療安全の分野では東日本大震災の調査結果に基づく防災対策を普及させるために東南海地区で行った 700 施設の調査結果のとりまとめを行った。津波による浸水被害が予想される地域と緊急地震速報の医療現場への普及状況を明らかにした。

**診療関連機器開発研究室：根本哲也**  
**高齢者のための医療機関・在宅で有効な診療・生活支援機器の開発**

診療関連機器開発研究室では、医療機関や在宅で有効な診療および生活支援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、個人情報の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。

在宅で用いられる機器の停電対応について患者もしくはご家族に対してフォローアップを行い、家族の停電対応リテラシーの向上につとめている。また、東日本大震災4年目に入ることから災害時の対策機器の使用説明を再度行うなど総点検を行なった。

高齢者の転倒に関するリスク回避のための技術開発として、当センター病院整形外科において実施している転倒時骨強度予測に関するコンピュータシミュレーションを援用して、病院での診療関連ではこの予測手法

を用いて先進医療における転子部から転倒した場合の骨折線予測と骨折形態の提示をより患者およびご家族にわかりやすい提供資料に改良した。また、転倒時のリスク回避のため、インプラントによる補強効果を判定するシミュレーションも開始し、転倒骨折等の極限状態の評価法を提案した。

褥瘡予防の技術開発として、床ずれ防止マットレスの効果測定と、より効果的なマットレス技術の開発を行なった。

その他、スクリーニングのための計測装置の開発においては、もの忘れセンターに導入されている握力計、および足背角度計の利後の観察から測定のためのインストラクションから測定終了までの時間の短縮、および、再現性を確保するための測定プロトコルの設計を行った。また、PC およびタブレット連携してデータ解析が行なえるシステムの提示方法についての検討を行なった。

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、山梨大学、山口県立大学との共同研究でありH27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)

- Nakai T, Maeyatsu F, Adachi K, Musashi Y, Hikichi T, Hishinuma M, Abe Y, Yamaguchi S, Machida Y, Yoshioka K:  
The Tsunami Disaster and MR Scanners in the Great East Japan Earthquake in 2011.  
**Magnetic Resonance in Medical Sciences**, 13: 197-98, 2014.
- Kuroda K, Shirakawa N, Yoshida Y, Nakai T:  
Evaluation of Magnetic Property of Cosmetic Contact Lenses with Superconducting Quantum Interference Device (SQUID).  
**Magnetic Resonance in Medical Sciences**, 13: 207-14, 2014.
- Wu CY, Koh JYS, Ho MHR, Miyakoshi M, Nakai T, Chen SHA:  
Age-related Differences in Effective Connectivity of Brain Regions Involved in Japanese Kanji Processing with Homophone Judgment Task.  
**Brain and Language**, 135: 32-41, 2014.
- Kiyama S, Kunimi M, Iidaka T, Nakai T:  
Distant functional connectivity for bimanual finger coordination declines with aging: An fMRI and SEM exploration.  
**Front Hum Neurosci**, 8: 251.1-251.13, 2014.
- Ogama N, Yoshida M, Nakai T, Niida S, Toba K, Sakurai T:  
Frontal white matter hyperintensity predicts lower urinary tract dysfunction in elderly with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer disease.  
**Geriatrics & Gerontology International**, 2014, doi: 10.1111/ggi.12447.
- Yasumoto Matsui, Remi Fujita, Atsushi Harada, Takashi Sakurai, Tetsuya Nemoto, Nobuo Noda, Kenji Toba:  
Association of grip strength and related indices with independence of activities of daily living in older adults, investigated by a newly-developed grip strength measuring device.  
**Geriatr Gerontol Int**, 2014, Apr; 14 Suppl 2: 77-86.
- Yasumoto Matsui, Remi Fujita, Atsushi Harada, Takashi Sakurai, Tetsuya Nemoto, Nobuo Noda, Kenji Toba:  
A NEW GRIP STRENGTH MEASURING DEVICE FOR DETAILED EVALUATION OF MUSCLE CONTRACTION AMONG THE ELDERLY.

**The Journal of Frailty & Aging**, 3(11): 142-148, 2014.

- Mizokami Fumihito, Takahashi Yoshiko, Nemoto Tetsuya, Nagai Yayoi, Tanaka M, Utani A, Furuta Katsunori, Isogai Zengo:  
Wound fixation for pressure ulcers: A new therapeutic concept based on the physical properties of wounds.  
**J Tissue Viability**, 2015 Feb; 24(1): 35-40.

## 2. 総説

- 町田好男、前谷津文雄、引地健生、安達廣司郎、武蔵安徳、清野真也、丹治 一、石森文朗、砂森秀昭、中井敏晴:  
東日本大震災により被災した MR 検査室を訪ねて — 被災地から伝えたいこと.  
**映像情報メディカル**, 46 : 350-355, 2014.
- 中井敏晴、山口さち子、土橋俊男、前谷津文雄、引地健生、清野真也、丹治 一、安達廣司郎、武蔵安徳、菱沼 誠、阿部喜弘、石森文朗、砂森秀昭、梶田喜正、松本浩史、栗田幸喜、藤田 功、磯田治夫、小山修二、村田和子、水口紀代美、木戸義照、野口隆志、梁川 功、町田好男:  
MR 検査室における震災対策 — 防災対策と緊急対応のための 2 指針について.  
**日本磁気共鳴医学会雑誌**, 34 : 52-73, 2014.

## 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

- 中井敏晴  
日本心理学会企画シンポジウム、高齢脳の可塑性と認知神経的特徴、Resting State Network of Aging Brain.  
日本心理学会第 78 回大会 JPAS-003, 9 月 10 日, 京都
- Nakai T

Keynote Lecture. Brain Activation of Aging Brain.

Brain Cnnects 2014 NCGG/JSPS NTU/NUS Joint Research Collaboration Workshop, National University of Singapore, Singapore August 1, 2014

- 根本哲也  
圧迫とずれとひずみの測定.  
第 16 回日本褥瘡学会学術集会, 2014. 8. 29-30, 名古屋
- 根本哲也, 小倉崇生, 伊藤安海  
機械が皮膚に触れたときの皮膚損傷の評価.  
第 6 回日本実験力学会人体損傷評価分科会, 2015. 2. 9, 山梨

## 2. 国際学会発表

- Nakai T, Tanaka A, Kunimi M, Kiyama S, Shiraishi Y  
Age-Related Change of Brain Activation During Virtual Performance of Combined Operation Task is Most Detected at Task Switching Timing  
An ER-fMRI Study.  
ISMRM 22th Annual Meeting & EXHIBITION, Proceedings # 3022, Milan, Italy, May 15 (10-16), 2014
- Kiyama S, Kunimi M, Iidaka T, Nakai T  
Bilateral functional connectivity for complex finger movements declines as aging: an fMRI and SEM exploration.  
ISMRM 22th Annual Meeting & EXHIBITION, Proceedings # 1842, Milan, Italy, May 13 (10-16), 2014
- Kunimi M, Kiyama S, Nakai T  
Investigation of Age-related Changes in Blood Oxygenation Level Dependency Signals during the visuospatial N-back using Functional MRI.  
ISMRM 22th Annual Meeting & EXHIBITION, Proceedings # 4694, Milan, Italy, May 15 (10-16), 2014
- Yamaguchi-Sekino S, Machida Y, Tsuchihashi T, Noguchi T, Nakai T  
The effect of anchoring of MR scanners to prevent earthquake hazards – an analysis of the damages to the 602 MR scanners in Great East Japan Earthquake.  
ISMRM 22th Annual Meeting & EXHIBITION, Proceedings #4843, Milan, Italy, May 15 (10-16), 2014
- Kunimi M, Kiyama S, Nakai T  
Investigation of age-related changes in BOLD signals during the divergent task switch paradigm.

20th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping # 2427, 2014

- Suzuki A, Ito Y, Kiyama S, Kunimi M, Ohira H, Kawaguchi J, Tanabe H, Nakai T, Neural correlate of the persistence of to-be-ignored reputations, 20th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping # 4256, 2014
- Kiyama S, Kunimi M, Iidaka T, Nakai T  
Age-related decline in inter-hemispheric connectivity for complex bimanual finger movements.  
20th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping # 4345, 2014
- Nakai T, Tanaka A, Kunimi M, Kiyama S, Shiraishi Y  
An Attempt to Model Cognitive Elements of a Physical Exercise for Elderlies Using ER-fMRI  
20th Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping # 4341, 2014
- Nakai T, Kunimi M, Kiyama S, Iidaka T, Tanaka A, Shiraishi Y  
The Dependency of Parietal Activation on Visuospatial Operation Performance in the Elderly- An Event-Related fMRI Study.  
Neuro Informatics 2014 #P63, Leiden, The Netherlands August 25-27, 2014
- Kunimi M, Kiyama S, Nakai T  
Age-related changes in brain activation during the Task-Switching Paradigm.  
37th. European Conference on Visual Perception Belgrade, Serbia, August 24-28, 2014
- Heng GJ, Wu CW, Archer JA, Miyakoshi M, Nakai T, Shen-Hsing Annabel Chen SHA  
Age-related changes in functional hemispheric asymmetry and default mode network: An fMRI study.  
2015 Magnetic Resonance in South East Asia Workshop #14, Singapore Jan 17-18, 2015
- Nakai T, Kunimi M, Kiyama S, Tanaka A, Chen SHA  
An Attempt of Correlating Behavioral Performance with Age-Related Changes in Resting State Network Activation.  
2015 Magnetic Resonance in South East Asia Workshop #20, Singapore

Jan 17-18, 2015

- Liu H, Lim A, Miyakoshi M, Nakai T, Chen SHA  
Investigating the Aging Effect on Neural Correlates of Auditory Semantic Processing in the Japanese Language using Functional Magnetic Resonance Imaging.  
2015 Magnetic Resonance in South East Asia Workshop #16, Singapore  
Jan 17-18, 2015
- Suzuki A, Ito Y, Kiyama S, Kunimi M, Ohira H, Kawaguchi J, Hiroki C. Tanabe1, Nakai T  
Neural Evidence For Evaluation Transfer In Reputation Learning.  
The Society for Personality and Social Psychology, 16th Annual Convention  
G210, Long Beach CA, Feb 28, 2015

### 3. 国内学会発表

- 中井敏晴、國見充展、木山幸子、田中あゆ子、白石善明  
視覚運動変換パフォーマンスの加齢変化に関するバイオマーカーとしての脳活動の評価  
平成 26 年度日本生体医工学会東海支部大会抄録集, 20, 名古屋, 2014 年 10 月 18 日
- 木山幸子、國見充展、玉岡賀津雄、Rinus Verdonshot、中井敏晴  
文の再認に果たす感情語の役割: fMRI による神経基盤の検討  
平成 26 年度日本生体医工学会東海支部大会抄録集, 21, 名古屋, 2014 年 10 月 18 日
- 吉田 旭宏、山本 遼、小林 真介、法山 智顕、中井敏晴、國見 充展、木山 幸子、磯田 治夫  
認知処理切り替え機能を検査する臨床 fMRI の開発  
平成 26 年度日本生体医工学会東海支部大会抄録集, 22, 名古屋, 2014 年 10 月 18 日
- 國見充展、松田圭司、木山幸子、高島一郎、中井敏晴  
fMRI/瞳孔反射同時計測の要求仕様の検討  
平成 26 年度日本生体医工学会東海支部大会抄録集, 24, 名古屋, 2014 年 10 月 18 日
- 吉田旭宏、山本遼、小林真介、法山智顕、中井敏晴、國見充展、磯田治夫  
認知処理切り替え機能を検査する臨床 fMRI の研究  
第 42 回日本磁気共鳴医学会大会 O-2-156, 日本磁気共鳴医学会雑誌 34, S225, 2014



- ・ 磯田治夫、小山修司、山口さち子、中井敏晴  
中部・南海地区における MR 検査室の防災対策の現況調査 ―緊急地震速報導入の現状などについて  
第 42 回日本磁気共鳴医学会大会 O-2-272, 日本磁気共鳴医学会雑誌 34, S283, 2014
- ・ 水口紀代美、岡林正光、村田和子、中井敏晴  
高知県における MRI 装置の事前調査状況～南海トラフの災害に備えて、私達ができることは？～  
第 42 回日本磁気共鳴医学会大会 P-3-225, 日本磁気共鳴医学会雑誌 34, S425, 2014
- ・ 國見充展、木山幸子、中井敏晴  
ワーキングメモリ課題遂行時の BOLD 信号の加齢変化  
日本心理学会第 78 回大会 1AM-1-067 2014 年 9 月 10 日, 京都
- ・ 鈴木敦命、伊藤友一、木山幸子、國見充展、大平英樹、川口潤、田邊宏樹、中井敏晴  
学習した評判の持続性の神経相関  
日本心理学会第 78 回大会 1PM-1-070 2014 年 9 月 10 日, 京都
- ・ 北村 優汰 毛利公美、中井敏晴、白石善明、岩田彰  
検索可能暗号の検索応答時間を一定にする簡潔データ構造を用いた索引手法  
マルチメディア、分散、協調とモバイル (DICOMO2014) シンポジウム 3H-2, DICOMO2014 論文集 752-757, 2014 年 7 月 11 日 新発田
- ・ 金井章、後藤寛司、中井敏晴、木山幸子、國見充展、田中あゆ子、富田秀仁  
遠隔システムによる在宅者に対する運動指導のための運動評価項目の検討  
第 49 回日本理学療法学術大会、2014 年 5 月 31 日、横浜
- ・ 鈴木敦命、木山幸子、國見充展、大平英樹、川口潤、中井敏晴  
持続的な不信感の神経相関  
日本感情心理学会第 22 回大会, 2014 年 5 月 31 日, 宇都宮
- ・ 大釜典子、鳥羽研二、櫻井孝、吉田正貴、中井敏晴、新飯田俊平  
大脳皮質下病変と下部尿路症状との関連  
第 25 回日本老年医学会東海地方会, 名古屋, 2014 年 10 月 4 日
- ・ 松井康素、藤田玲美、原田敦、櫻井孝、根本哲也、野田信雄、鳥羽研二  
開発中の新型握力計を用いた瞬発力に関する詳細な指標と ADL 自立との関連 (Barthel Index 総点を用いた年齢・性・左右別比較)  
第 56 回日本老年医学会学術集会・総会, 2014.6.12-14, 福岡
- ・ 藤田玲美、松井康素、原田敦、櫻井孝、根本哲也、野田信雄、鳥羽研二

開発中の新型握力計を用いた瞬発力に関する詳細な指標と Barthel Index 下位項目との関連

第 56 回日本老年医学会学術集会・総会, 2014.6.12-14, 福岡

- ・ 根本哲也、伊藤安海、磯貝善蔵、古田勝経  
超低圧エアセルによる体圧分散性能の工場に関する試み、第 16 回日本褥瘡学会学術集会 2014.8.29-30、名古屋.
- ・ 伊藤安海、根本哲也  
レオメータによる皮膚の応力-ひずみ状態解析手法の検討  
第 16 回日本褥瘡学会学術集会, 2014.8.29, 名古屋
- ・ 篠原美奈、田中マキ子、根本哲也、大江典子、三村真季  
スモールチェンジによる体位変換方法の有効性の検討 -第 1 報: 体圧による効果判定-  
第 2 回看護理工学会学術集会 2014.10.4-5、大阪.
- ・ 田中マキ子、篠原美奈、根本哲也、大江典子、三村真季  
スモールチェンジによる体位変換方法の有効性の検討 -第 2 報: ずれによる効果判定-  
第 2 回看護理工学会学術集会 2014.10.4-5、大阪.
- ・ 松井康素、藤田玲美、武田夏佳、原田敦、櫻井孝、根本哲也、野田信雄、鳥羽研二  
開発中の新型握力計を用いた瞬発力に関する詳細な指標と IADL との関連、  
第 1 回日本サルコペニア・フレイル研究会研究発表会, 2014.10.19, 東京

#### 4. その他、セミナー等

### III. 競争的資金獲得実績

#### 1. 厚生労働省

#### 2. 文部科学省

- ・ 中井 敏晴（代表）300 万円  
医科学応用研究財団 調査研究助成金（H26～H27）  
運動画像計測と脳機能マップによる高齢者の中枢性転倒リスク推定システムの開発
- ・ 中井 敏晴（代表）250 万円  
独）日本学術振興会 二国間交流事業 （H26～H27）  
シンガポールとの共同研究、神経機能画像による定常状態神経ネットワークに見られる加齢性変化の解明

- 中井 敏晴（代表）130 万円  
独）日本学術振興会 科学研究費助成事業 萌芽研究（H25～H27）  
箸を使った食生活の運動認知訓練としての意義を明らかにする脳機能イメージング研究
- 中井 敏晴（代表）455 万円  
独）日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究（B）（H24～H26）  
潜在的な認知機能低下を可視化する認知ストレス画像法 DSCSI の開発
- 中井 敏晴（26 万円）  
独）日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究金（B）（H23～H26）  
動的脳活動の非侵襲計測データ統合解析に基づく高次視覚認知のデコーディング技術、260 千円
- 根本 哲也（94 万円）  
独）日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究（C）（一般）（H26～H28）  
外力調整に基づくスモールチェンジ法の有効性とその経済効果

### 3. 財団、その他

- 中村 昭範（150 万円）  
環境省  
重金属等の健康影響に関する総合研究