

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

直江 吉則

小原 幸弘

研究・事務補助員

鈴木 三恵

猪飼 理奈

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

近年、骨代謝を実行する破骨細胞や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めざしている。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 を同定してきた (Matsuoka K, Takeshita S et al. J Bone Miner Res 2014)。*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。

既知の因子として、PDGF および脂溶性の S1P の分泌が破骨細胞の分化に伴って高まることを確認した。興味深いことに、分化初期には PDGF-AA、中期には PDGF-AB、中期から後期には PDGF-BB とアイソフォームの switching が起こり、それぞれ間葉系幹細胞の PDGF-R α あるいは血管壁の PDGF-R β を介して血管増生、骨形成を促す図式が浮かび上がってきた。骨吸収抑制薬のなかでも、ビスフォスフォネートは骨カップリングを強力に抑制する一方で、新たに開発中のカテプシン K 抑制薬は骨形成を維持する作用が注目されているが、PDGF や S1P の分泌はいずれの薬物によっても顕著に抑制される。今後、当研究部で独自に同定した *Cthrc1* や C3a の発現や分泌、作用の面から薬物作用の差を説明できるか否か検討の余地が残されている。

M. Motiur Rahman、竹下 淳、池田 恭治

破骨細胞の分化に伴う PDGF isoform の分泌

破骨細胞が産生・分泌する“clastokine”のなかでも骨芽細胞系列へ作用して骨形成を制御する因子とその作用機序に関心が集まっている。そこで、PDGF には A から D 遺伝子が知られており、破骨細胞が発現する遺伝子型と分泌するタンパクを明らかにする。

マウス骨髄から単離したマクロファージを M-CSF と RANKL によって破骨細胞に分化させる各段階での遺伝子発現を調べた結果、分化初期では PDGF-A 遺伝子発現が増加して 36 時間後にピークとなり、中期から後期にかけて PDGF-B 遺伝子発現が高まり 60 時間でピークとなった。アイソフォーム特異的 ELISA を用いて分泌される PDGF 分子種を測定したところ、PDGF-AA は 24-48 時間、PDGF-AB は 48-72 時間、PDGF-BB は 72 時間以降に分泌が最大となることが判明した。いずれのアイソフォームも、破骨細胞を象牙の上で培養して骨吸収機能を誘導したときさらに高まった。カテプシン K 抑制薬として市場に導入されつつある odanacatib (ODN) は破骨細胞の分化には影響を与えず、骨吸収機能を 200 nM で 80%程度抑制したが、この濃度で 3 つのアイソフォームの分泌を有意に抑制した。同じく破骨細胞の分化には影響を与えず、骨吸収機能を 80%程度抑制する 1 μ M の alendronate (ALN) も PDGF の分

泌を抑制した。カテプシン K を遺伝的に欠失させた細胞は分化には異常がなかったが、分化した破骨細胞では PDGF の 3 つのアイソフォームの分泌が低下していた。Sphingosine-1-phosphate (S1P) を ELISA で測定したところ、分化に伴って分泌が 3 倍以上増加し、ALN よりも ODN によって顕著に分泌が抑制された。

破骨細胞の分化初期に分泌される PDGF-AA は間葉系の幹細胞に発現する PDGF-R α を介して骨芽細胞への分化を促進し、分化中期から後期に分泌される PDGF-BB は血管の壁細胞に発現する PDGF-R β に結合し、血管増生を介して間接的に骨形成を促す図式が考えられる。骨吸収抑制薬のうち、ALN は骨カップリングを強力に抑制する一方で、新たに開発された ODN は骨形成を維持する作用が注目されているが、今回の解析結果からカップリング因子としての PDGF および S1P の分泌量によってはこの差を説明することはできないと考えられる。

参考文献

Rahman MM, Matsuoka K, Takeshita S, Ikeda K: Secretion of PDGF isoforms during osteoclastogenesis and its modulation by anti-osteoclast drugs. **Biochem Biophys Res Commun** 462:159-164, 201

破骨細胞の分化と細胞密度の関係

破骨細胞は骨髄の造血細胞に由来する多核の巨大細胞で、核は post-mitotic と考えられているが、分化過程での細胞周期制御についての詳細な情報はない。そこで、破骨細胞の分化と細胞周期との関係を探索する。

細胞周期の指標として開発された Fucci を発現するトランスジェニックマウスの骨髄からマクロファージを単離し、M-CSF/RANKL の刺激で破骨細胞に分化する 72 時間、赤色の G1 reporter と緑の G2/S/M reporter の動態を動画収録した。その結果 48 時間まで緑色の細胞が周期的に増加し DNA 合成が活発に行われていることが示唆された。48 時間以降は急激に赤色の細胞が増加し、G1 あるいは細胞周期から逸脱して G0 期に入ったものと考えられた。BrdU の取り込みと生細胞数の動態も、分化前半の活発な細胞増殖に合致した。DNA 合成阻害薬の hydroxyurea (HU) を分化前半の増殖期にのみ作用させると、最終的な分化もほぼ完全に抑制され、先行する増殖が破骨細胞分化に必須とのこれまでの考えを支持するものであったが、興味あることに、同じく前半のみ HU を作用させた細胞を分化の中間点で高密度でまくと細胞数に依存して破骨細胞形成が回復した。したがって、DNA 合成そのものよりも、細胞増殖によって一定の細胞密度を確保することが、細胞融合の機会を増やすこと

などにより、多核の破骨細胞形成に必要であると考えられた。分化誘導因子 RANKL はこれまで細胞周期を停止させる方向に働くと考えられてきたが、分化前半の増殖期には M-CSF による増殖をさらに加速する方向に働き、分化後半には増殖を止める方向に働くという二面性をもつことが判明した。

骨髄マクロファージをさまざまな細胞密度でまいて破骨細胞への分化効率を比較すると、 5×10^3 cells/96 well の場合に4日目の破骨細胞形成が最大となり、それ以上の濃度でまいた場合はかえって形成される破骨細胞数が少なかった。ところがこれら高密度でまいた場合、とくに 20×10^3 cells/96 well の場合では3日目にすでに破骨細胞形成が最大に達しており、4日目には死滅していることが判明した。

破骨細胞の分化において、前半は盛んな細胞増殖が行われ分化因子 RANKL もこれに寄与するが、後半には細胞周期は停止するが細胞密度が閾値以上に達していれば破骨細胞形成は達成されることが明らかになった。

参考文献

Rahman MM, Takeshita S, Matsuoka K, Kaneko K, Naoe Y, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Ikeda K: Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL: cell density as a determinant of osteoclast formation. **Bone** 81: 392-399, 2015

直江 吉則、小原 幸弘、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 の受容機構とシグナル伝達経路の解析

骨粗鬆症をターゲットとしたこれまでになく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。

Cthrc1 の受容体として同定した Waif1 の骨代謝における機能を解析し、Cthrc1 による Waif1 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。

Waif1 の Flox マウスを作成し、Osx1-cre マウス、及び CAG-cre マウスと交配することにより骨芽細胞特異的 cKO マウスと gKO マウスを作出した。それぞれのマウスの骨解析を行った。Waif1 gKO マウスの頭頂骨から骨芽細胞を調整し、骨芽細胞株を樹立した。CRISPR/Cas9 法を用いて ST2 細胞で Waif1 を KO した細胞株を樹立し、Cthrc1 の骨芽細胞分化促進機能を解析した。樹立した細胞株を用いて Cthrc1 による Waif1 を介したシグナル伝達機構を解析した。

Waif1 gKO は水頭症を発症することが知られているが、我々が作出したマウスも 10%程度の発症率で水頭症を発症した。骨解析の結果、低骨量と高骨

量を発症する 2 群に分かれた。Waif1 cKO マウスは骨形成と骨吸収の両方が低下する低代謝回転型高骨量を発症した。Waif1 欠損細胞株の解析から Cthrc1 による骨芽細胞分化促進活性が消失することから Waif1 が Cthrc1 の刺激を受容することが分かった。また、Waif1 は Wnt シグナルを制御することが報告されているが、Cthrc1 は Wnt 存在下で相乗的に骨芽細胞分化が促進されることから Cthrc1 は Waif1 を介して Wnt と共に PKC δ 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。Waif1 cKO マウスで骨吸収が低下するメカニズムに関しては現在解析を進めている。また、Waif1 の骨細胞における機能を解明するために Dmp1-cre-ERT2 マウスとの交配により骨細胞特異的 cKO マウスを作出し機能解析を行っている。

Cthrc1 は Waif1 を介して Wnt と共に骨芽細胞分化を促進することが明らかになった。

黄色靱帯 PAX9 下流で機能する遺伝子群の解析

黄色靱帯は、脊柱管の後方で椎弓間を結ぶ弾性線維を主とする靱帯である。黄色靱帯の変性肥厚による脊柱管内神経の圧迫が、腰部脊柱管狭窄症の原因の一つである考えられている。しかし、黄色靱帯に関する分子情報についての知見は限られている。これまでに黄色靱帯初代培養細胞において PAX9 が高発現していること、PAX9 の発現量が正常黄色靱帯と比較し、腰部脊柱管狭窄症黄色靱帯において減少していること、ならびに PAX9 が腰部脊柱管狭窄症で散見される軟骨化生に関わる軟骨分化を抑制することを明らかにしている。さらに PAX9 の軟骨分化抑制に関与し得る下流因子について検討を行った。間葉系細胞 10T1/2 細胞に靱帯分化に関わる転写因子 SCX や MKX、または PAX9 を発現させて遺伝子プロファイリングを行った。さらに tamoxifen 依存的活性誘導系 (PAX9ER) をもちいた ATDC5 細胞の軟骨分化抑制系についても遺伝子発現プロファイリングを行った。また、黄色靱帯初代培養細胞における PAX9 ノックダウンにより変動する遺伝子群についても検討を行い、これらの3つの細胞系における変動遺伝子のうち、10T1/2 細胞

と ATDC5 細胞で共通して PAX9 依存的に発現亢進した遺伝子群と、黄色靱帯細胞におけるノックダウンにより発現低下した遺伝子群の解析から、軟骨分化に関与する Fgf18 の遺伝子発現が PAX9 の発現 (活性) と相関して増減していることを見出した。そこで、Fgf18 遺伝子上流配列を検索し、PAX9 結合予想配列を含むプロモーター配列を用いて PAX9 とのルシフェラーゼアッセイを行ったところ、コントロールと比較し、PAX9 プラスミド量依存的にルシフェラーゼ活性が上昇した。また、推定された Fgf18 プロモーター上における PAX9 の4つの相互作用サイトのうちの2つあるいは1つを含むプロモータープラスミドを作成し、PAX9 とのルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、PAX9 との結合には5'側に存在する2つの相互作用サイトが重要であることが明らかになった。FGF18 は ATDC5 細胞において軟骨細胞分化抑制活性が知られていること、また関節軟骨の保護作用が報告されていることから、FGF18 が PAX9 下流のエフェクターとして、黄色靱帯における軟骨化生の抑制と、椎間関節組織の保護に関わる可能性が考えられた。

研究業績（運動器疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Rahman MM, Takeshita S, Matsuoka K, Kaneko K, Naoe Y, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Ikeda K

Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL: cell density as a determinant of osteoclast formation.

Bone 81: 392-399, 2015.

Rahman MM, Matsuoka K, Takeshita S, Ikeda K

Secretion of PDGF isoforms during osteoclastogenesis and its modulation by anti-osteoclast drugs.

Biochem Biophys Res Commun 462: 159-164, 2015.

Tsuchiya Y, Naito T, Tenno M, Maruyama M, Koseki H, Taniuchi I, Naoe Y:
ThPOK represses CXXC5, which induces methylation of histone H3 lysine 9 in Cd40lg promoter by association with SUV39H1: implications in repression of CD40L expression in CD8+ cytotoxic T cells.

J Leukoc Biol 2016 Feb 19. pii: jlb.1A0915-396RR.

Kamita M, Mori T, Sakai Y, Ito S, Gomi M, Miyamoto Y, Harada A, Niida S, Yamada T, Watanabe K, Ono M

Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis.

Proteomics 15:1622-1630, 2015.

2. 総説

池田 恭治

骨細胞ネットワーク.

骨粗鬆症治療, 14: 74-76, 2015.

池田 恭治

南山堂医学大辞典 第20版, 南山堂, 東京, 2015.

竹下 淳

骨ペディア.

骨疾患・骨代謝キーワード辞典 Keyword 9 Cthrc1 : 193-195, 羊土社, 東京, 2015.

竹下 淳

骨形成のメカニズム

骨・関節・軟骨治療のための新製品開発と臨床ニーズ 第3章 骨再生, 骨破壊のメカニズム 株式会社情報協会, 第3節 p52-56, 東京, 2015.

池田 恭治

鉄と骨との関連.

腎と骨代謝 特集“鉄と骨代謝” 29 (2): p13-109-7, 2016.

Ikeda K, Takeshita S

The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis.

J Biochem 159: 1-8, 2016.

竹下 淳

RANKL-RANK 系と骨リモデリング・カップリングのメカニズム.

骨・臓器ネットワークとオステオサイト 第1章 骨細胞に関する基礎知識
メディカルレビュー社, 第4節 p35-43, 2月10日, 東京, 2016.

3. 著書

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

竹下 淳

破骨細胞が産生するカップリング因子

第33回日本骨代謝学会, 7月25日, 東京

Ikeda K,

Osteoclast metabolism. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research.

10月9日 Seattle, Washington

2. 国際学会発表

Takehita S, Rahman MM, Ikeda K,

Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research.

10月10日 Seattle, Washington

3. 国内学会発表

森 大気、酒井義人、村澤裕介、新飯田俊平、原田 敦、松田明生、大保木啓介、松本健治、渡辺 研

腰部脊柱管狭窄症由来の黄色靭帯細胞を用いたヒト黄色靭帯におけるPAX9の機能解析

第47回日本結合組織学会学術大会, 5月16日, 東京

Watanabe K.

Depletion of sphingomyelin synthase genes, Sgms1 and Sgms2, in adult mice.

10th SpingoTherapy Conference, 6月17日, 加賀

4. その他、セミナー等

渡辺 研

多層的疾患オミックス解析研究における脊柱管狭窄症解析

第1回疾患統合オミックス解析セミナー, 日本製薬工業協会, 7月27日, 東京

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

なし

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

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

4. 財団、その他

なし

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	大久保 咲 阪口 和弥
事務補助員	加藤 記代美

(2) 平成 27 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）。平成 27 年 4 月からは、大久保咲、阪口和弥が流動研究員として加わり、研究を進めてきた。

平成 27 年度は、再生再建医学研究部設立 11 年目、New decade の幕開けであった。当研究部は、以下の課題を中心に研究を進めた。

- ① ヒト筋前駆細胞の特性解明に関する研究
- ② マウスをモデルとしたサルコペニアの発症または進行に関わる因子の探索
- ③ 加齢に伴うエピジェネティック変化の研究

平成 27 年度の研究進捗状況につい

ては、着実にデータは積み重ねられているものの、論文発表に関しては、満足できるレベルとは言えなかった。しかし、上住室長、下田室長らの積年の研究成果が評価され、着実に研究費が獲得できるようになるなど、各自の研究基盤が強固になったことは、誠に喜ばしい。

平成 27 年度に蓄えられた研究成果が、次年度以降、どのような形で世に出るのか、論文発表が期待される。

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）との共同研究によって、着実に研究成果が得られており、順調に論文発表につながっている。

特に橋本らが確立した不死化ヒト筋前駆細胞については、その有用性が、国内外の研究者に次第に認められ、多くの分与依頼を受けた。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。次年度中に、公的細胞バンクに寄託し、自由に供与可能な状況を作りたいと考えている。

再生再建医学研究グループ：橋本有弘、大久保咲

ヒト筋前駆細胞の特性解明に関する研究： 加齢による性質変化について

骨格筋幹細胞（筋サテライト細胞）は、骨格筋組織に特異的な幹細胞であり、骨格筋の再生及び機能維持に重要な役割を果たしている。しかし、ヒト筋幹細胞の性質については、実験解析に制約があるため、解明が進んでいない。

我々は、ヒト未分化筋細胞の性質を解明するために、成人および高齢者の骨格筋から筋幹細胞を分離培養し、その子孫である未分化筋細胞を高い分化能を保ったまま無限増殖させること（不死化）に成功した（Shiomi, et al., 2011）。

近年、高齢者における生理的な活力低下を「フレイル」と呼び、加齢にもなって生じる筋疾患サルコペニア（筋量減少症）の前段階であるとする概念が、提唱されている。サルコペニアおよびフレイルには、ヒト骨格筋幹細胞の機能低下が関与していると考えられるが、その加齢に伴う性質変化については明らかではない。

そこで、我々は82歳および86歳の女性の骨格筋に由来する筋前駆細胞を不死化し、42歳女性の正常骨格筋由来不死化筋前駆細胞と増殖特性を比較検討した。

増殖因子を豊富に含む増殖培地 pmGM 中で培養すると、高齢者由来ヒト筋前駆細胞は活発に細胞分裂し、成人

由来筋前駆細胞に比べて増殖能の低下は、認められなかった。さらに、細胞増殖に必要な成長因子について、要求性を検討したところ、加齢に伴う顕著な違いは認められなかった。

一方、筋前駆細胞に軽微な酸化ストレスを与えた場合、正常骨格筋由来不死化筋前駆細胞は、G1 期で細胞周期を停止するのに対して、高齢者由来不死化筋前駆細胞は、明瞭な細胞周期の停止を示さなかった。

我々は、マウス筋前駆細胞を酸化ストレスに曝露すると、細胞増殖は著しく抑制されるが、G1 期での停止は誘導されないことを見いだしている。高齢者由来筋前駆細胞の酸化ストレスに対する応答は、マウス筋前駆細胞の応答とも異なっていることが示唆されており、ヒト筋サテライト細胞の加齢に伴う性質変化を反映している可能性がある。

今後は、DNA アレイを用いて、成人筋前駆細胞と高齢者由来筋前駆細胞の遺伝子発現プロファイルを解析し、加齢に伴う筋サテライト細胞の性質変化を明らかにしたい。

不死化ヒト筋前駆細胞は、ヒト筋細胞およびヒト筋再生機構の特性解明に有用な実験系を提供し、ヒト筋疾患に対する予防法および治療法の開発に寄与するものと考えられる。

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. Hashimoto, N, et al.
Osteogenic Properties of Human Myogenic Progenitor Cells.
Mech Dev, 125 : 257-269, 2008.
3. 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.
4. 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.
5. Yuko Iwata, Nobuyuki Suzuki, Hitomi Ohtake, Shinya Kamauchi, Naohiro Hashimoto, Tohru Kiyono, Shigeo Wakabayashi (2015)
“Cancer cachexia causes skeletal muscle damage via transient receptor potential vanilloid 2-independent mechanisms, unlike

muscular dystrophy”

Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle ; DOI: 10.1002/jcsm.12067

細胞再生研究室：上住 円

サルコペニアの発症または進行に関わる因子の探索

現在、我が国では平均寿命と健康寿命の間に約 10 年の乖離があり、健康的に老いることの重要性が高まっている。骨格筋は身体活動を司る組織であるため、その機能低下は QOL (quality of life) や ADL (activities of daily living) の低下に直結する。特に、高齢者における筋量や筋機能の低下（サルコペニア）は転倒や骨折を誘発し、それらによって被る長期間の不活動は、さらなる要介護状態や寝たきりを引き起こす要因となる。よって、サルコペニアを予防・治療することは健康長寿実現の鍵となるが、サルコペニアの発症メカニズムはよく分かっておらず、有効な治療法も無いのが現状である。

我々は、サルコペニアの発症や進行に関わる因子を探索するため、老化マウス（25 ヶ月齢）と若齢マウス（3 ヶ月齢）の下肢骨格筋を用いてサイトカイン抗体アレイ解析を実施した。調べた 144 種類のサイトカイン関連因子のうち、老化で 1.5 倍以上発現変動する因子を同定したところ、減少するものは得られず、増加するものだけが得られた。このうち、老化で最も発現増加していた 1 つの因子に着目し、さらに解析を進めた。

まず、ELISA や Western blot により発現の再現性を調べ、老化マウス骨格筋で約 4 倍に発現増加していることを

確認した。さらに、その因子の骨格筋における局在を調べるために、免疫組織染色を行ったところ、老化マウス骨格筋の血管と神経筋接合部で異常に高発現・蓄積していることが分かった。最近の研究から、サルコペニアは筋細胞（筋線維や筋衛星細胞）自体の異常というよりは、むしろ骨格筋を構成する筋細胞以外の要素の異常によって起こることが明らかにされた。特に、血管や神経筋接合部の加齢変化はサルコペニアに強く関与すると考えられているが、その分子メカニズムは不明である。今年度同定したその因子の発現増加・蓄積が、血管や神経筋接合部の機能低下を引き起こしている可能性があり、来年度、さらに解析を進めることで、この因子がサルコペニアの発症や進行に関与するか否かを精査する。

組織再生再建研究室：下田修義、坂口和弥

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

(1) 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この仮説に基づき、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 48 名ずつ入手し、アルツハイマー病関連遺伝子の「CpG アイランドショア」領域のメチル化レベルを比較したところ、健常者集団に比べ罹患者集団の方で、わずかではあるが有意に低下している遺伝子をいくつか同定できた。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たと期待している。

(2) 老化の一因としてのエピジェネティック異常

加齢に伴うゲノムレベルでの DNA メチル化の減少、あるいは局所的な増加はエピジェネティックドリフト(漂流)と呼ばれ、最近、老化及び老年病の原因として注目されているが、未だこの現象と老化との因果関係は認められていない。私たちはこの点を解明するためのモデルシステムとしてゼブラフィッシュを採用し、ゲノム編集技術を用いて、主要な DNA メチル化酵素遺伝子を破壊することに着手した。今後、作製した変異体を用いて、エピジェネティックドリフトの人為的な促進、あるいは抑制が老化に与える影響を解析する予定である。

研究業績（再生再建医学研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Yuko Iwata, Nobuyuki Suzuki, Hitomi Ohtake, Shinya Kamauchi, Naohiro Hashimoto, Tohru Kiyono, Shigeo Wakabayashi (2015).

“Cancer cachexia causes skeletal muscle damage via transient receptor potential vanilloid 2-independent mechanisms, unlike muscular dystrophy”
Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle ; DOI: 10.1002/jcsm.12067.

Atsushi Nishida, Ayaka Oda, Atsuko Takeuchi, Tomoko Lee, Hiroyuki Awano, Naohiro Hashimoto, Yasuhiro Takeshima, Masafumi Matsuo.

“Staurosporine allows dystrophin expression by skipping of nonsense-encoding exon.”

Brain & Development, *in press*.

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, 33(8): 2456-2468, 2015.

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^{Ink4a} pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function.

Aging Cell, 14(4): 616-624, 2015.

2. 総説

上住 円、上住聡芳

筋肉の基礎 update. Orthopaedics—日常診療に役立つサルコペニアの知識—.
原田敦編, 全日本病院出版会, 28(13): 17-22, 2015.

3. 著書

なし

4. その他、新聞・報道等

なし

5. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

なし

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

橋本 有弘、倉谷 麻衣、大久保 咲

酸化ストレスによるマウス筋前駆細胞（筋芽細胞）の細胞増殖抑制機構
日本筋学会第1回学術集会，2015年8月8日，東京

上住 円、上住聡芳、土田邦博、深田宗一郎、橋本有弘

Pro-IGF-IIの補充は老化筋再生不良を改善させる
第1回日本筋学会学術集会，2015年8月8日，東京

橋本有弘

不死化ヒト筋細胞：サルコペニア・フレイルにおけるヒト骨格筋幹細胞の役割解明のための新しい解析系
第2回日本サルコペニア・フレイル研究会，2015年10月4日，東京大学伊東国際学術研究センター

橋本有弘、大久保咲、倉谷麻依

酸化ストレスによってマウス筋前駆細胞（筋芽細胞）に誘導される Mitotic Catastrophe
第38回日本分子生物学会年会，2015年12月2日，神戸ポートアイランド，神戸

大久保咲、橋本有弘

高齢者由来ヒト筋前駆細胞（筋芽細胞）の細胞増殖特性

第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 3 日, 神戸ポートアイランド,
神戸

坂口和弥、新飯田俊平、橋本有弘、下田修義

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

第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 2 日, 神戸ポートアイランド,
神戸

坂口和弥、新飯田俊平、橋本有弘、下田修義

Diagnosis of Alzheimer's disease based on genetic and peripheral epigenetic
biomarkers

第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート, 2016 年 2 月 9 日、大府市健康プラザ

上住 円

サルコペニアの発症または進行に関与する因子の同定.

第三回若手による骨格筋細胞研究会, 2015 年 11 月 25 日, 福岡

4. その他、セミナー等

なし

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

橋本有弘（分担）100 万円

長寿科学研究開発事業

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

上住 円（分担）198.9 万円

長寿・障害総合研究事業 障害者対策総合研究開発事業

遺伝性筋疾患に対する新たな高効率細胞移植治療法の開発

下田修義（分担）400 万円

ゲノム医療実用化推進研究事業

メディカル・ゲノムセンター等におけるゲノム医療実施体制の構築と人材育成に関する研究

2. 文部科学省

橋本有弘（代表） 130 万円

科学研究費助成事業（基盤研究 C 一般）

ヒト骨格筋幹細胞の機能は加齢と共に低下するか？：サルコペニア治療のための細胞解析

橋本有弘（分担） 30 万円

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） 100 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） 360 万円（総額 360 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

幹細胞再生医療研究部

(1) 構成員

部長 中島 美砂子
室長 庵原 耕一郎
流動研究員
村上 真史
Ahmed Nermeen
外来研究員
渥美 優介
研究生
林 勇輝
藤田 将典
河村 玲
中山 英典
大桑 雄太
研究補助員・事務補助員
富永 三千代
長井 綾乃
廣川 順子
加藤 晶子
浅井 小百合
山口 共子
松倉 紀子

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

歯髄幹細胞自家移植による抜髄治療後の歯髄・象牙質再生治療の臨床研究の有効性を評価するための、多施設臨床研究の準備を行った。すなわち、多施設臨床研究の再生医療等提供計画書を作成し、特定再生医療等委員会へ提出した。

歯科用ナノバブル発生装置を開発し、ナノバブル薬剤導入法によるイヌ歯髄幹細胞自家移植による感染根管治療後の歯髄・象牙質再生治療の有効性を検討した。

同種移植による抜髄後の歯髄・象牙質再生治療の有効性を検討した。

歯髄幹細胞を安定に増幅する最適な培養法（微小重力，低酸素）を検討した。

高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor) 候補因子 1 (CCL11 中和抗体) あるいは候補因子 2 (物質 A) をそれぞれ高齢マウスあるいはイヌの歯に適用し、歯髄再生促進に成功した。その再生促進メカニズムを検討した。

他疾患の再生医療へ歯髄幹細胞の適用を拡大すべく、サル脳梗塞モデル、ラット坐骨神経切断モデルおよびラット間質性膀胱炎モデルへ移植し、それぞれ有効性を検討した。

優れた遊走能および血管新生能により高い組織再生能へと導く歯髄幹細胞から分泌される trophic 因子を解析した。また、歯内部の歯髄を再生させる微小環境をマウス異所性歯根移植の歯髄再生モデルを用いて検討した。

幹細胞再生医療研究部：中島美砂子、庵原耕一郎、村上真史、Ahmed Nermeen

歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生に関する研究

まず、先の臨床研究において安全性が確認された、ヒト歯髄幹細胞を用いた「歯髄炎における抜髄後の歯髄再生治療」に関して、症例数を増やしてさらに有効性試験を行うための多施設臨床研究の準備を行った。すなわち、再生医療等安全性確保法に基づき、当センター細胞加工施設での歯髄幹細胞製造の認可を PMDA から得た。また、多施設からセンターGMP準拠細胞加工施設に抜去歯を輸送する条件、輸送方法、輸送可能時間などに関して作成した SOP に基づいて、再度長崎大学とシミュレーションを行った。それにより加工された細胞品質（生存率、増殖能、細胞形質など）や輸送の安全性・安定性を再度確認した。多施設臨床研究の再生医療等提供計画書を作成し、特定再生医療等委員会へ提出した。

次に、超音波導入なしで薬剤を象牙細管深部に浸透させることができるナノバブルを発生させる、歯科用の閉鎖系の発生装置を開発した。イヌ感染根管歯に対して、そのナノバブルを薬剤と併用し、細菌除去の有用性を検討した。

また、イヌにおいて歯髄幹細胞の DLA タイプが不一致で抜髄後の根管内に移植した場合、タイプが一致で移植した場合と量的および質的に同様の歯髄組織および血管・神経が再生されることが明らかとなった。また、3 か月ごと 2 回連続で移植した場合でも量的および質的な変化は全くみられなかった。よって、同種移植による歯

髄再生治療法の有効性が示唆された。

さらに、歯髄幹細胞を安定に増幅する最適な培養法（微小重力、低酸素）を検討した。

また、高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor) 候補因子 1 (CCL11 中和抗体) あるいは候補因子 2 (物質 A) をそれぞれ高齢マウスあるいはイヌの歯に適用し、歯髄再生促進に成功した。その再生促進メカニズムを検討した。

他疾患の再生医療へ歯髄幹細胞の適用を拡大すべく、サル脳梗塞モデル、ラット坐骨神経切断モデルおよびラット間質性膀胱炎モデルへ移植し、それぞれ有効性を検討した。

歯内部の歯髄を再生させる微小環境をマウス異所性歯根移植の歯髄再生モデルを用いて検討した。

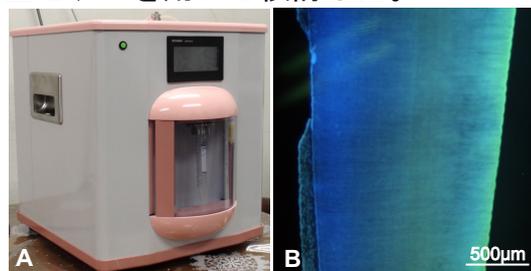


図 歯科用ナノバブル発生装置と歯への薬剤導入 A：閉鎖系歯科用ナノバブル発生装置外観 B：歯根管から象牙細管深部への薬剤の浸透（緑色）

参考文献

Yamamoto T. *et al.*, **Cell Transplant.** 25:183-193, 2016.

Hirose Y. *et al.*, **Cell Transplant.** 25:425-436, 2016.

研究業績 (幹細胞再生医療研究部)

I. 論文発表

1. 原著

Murakami M, Hayashi Y, Iohara K, Osako Y, Hirose Y, Nakashima M.

Trophic effects and regenerative potential of mobilized mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue as alternative cell sources for pulp/dentin regeneration.

Cell Transplant, 24: 1753-1765, 2015.

Kobayashi Y, Nakashima M, Wakakuri T, Imaki J, Ito M.

Histology and immunohistochemistry of the developing juxta-oral organ in mice.

Ann Anat, 198: 49–57, 2015.

Yamamoto T, Osako Y, Ito M, Murakami M, Hayashi Y, Horibe H, Iohara K, Okui N, Hirata H, Kurita K, Nakashima M.

Trophic effects of dental pulp stem cells on schwann cells in peripheral nerve regeneration.

Cell Transplant, 25: 183-193, 2016.

Hayashi Y, Murakami M, Kawamura R, Ishizaka R, Fukuta O, Nakashima M.

CXCL14 and MCP1 are potent trophic factors associated with cell migration and angiogenesis leading to higher regenerative potential of dental pulp side population cells.

Stem Cell Res Ther, 6:111, 2015.

Hirose Y, Yamamoto T, Nakashima M, Funahashi Y, Matsukawa Y, Yamaguchi M, Kawabata S, Gotoh M.

Injection of dental pulp stem cells promotes healing of damaged bladder tissue in a rat model of chemically induced cystitis.

Cell Transplant, 25: 425-436, 2016.

Iohara K, Fujita M, Ariji Y, Yoshikawa M, Watanabe H, Takashima A, Nakashima M.

Assessment of pulp regeneration induced by stem cell therapy by Magnetic Resonance Imaging (MRI).

J Endod, 42: 397-401, 2016.

Hirose Y, Yamaguchi M, Kawabata S, Murakami M, Nakashima M, Gotoh M, Yamamoto T.

Effects of extracellular pH on dental pulp cells in vitro.

J Endod, 2016 Mar 4. doi:10.1016/j.joen.2016.01.019 (in press).

Kawamura R, Hayashi Y, Murakami H, Nakashima M

EDTA soluble chemical components and the conditioned medium from mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) contain inductive microenvironment, promoting cell proliferation, migration and odontoblastic differentiation.

Stem Cell Res Ther, 2016 (in press).

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道, 等

なし

6. 特許申請、取得状況

特許出願

発明者：中島洋司、中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、

発明の名称：医療用患部浸透亢進液及びその利用

出願年月日：国内出願 平成 26 年 11 月 24 日

国際出願 平成 27 年 11 月 25 日

出願番号：特願 2014-237241 (国内)

PCT/JP2015/082879 (国際)

出願人：有限会社 中島工業、国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：根管充填材及び歯組織再生方法

出願年月日：国内出願 平成 20 年 3 月 12 日

国際出願 平成 21 年 3 月 12 日

分割出願(中国) 平成 27 年 12 月 23 日

出願番号：特願 2008-063391 (国内)

PCT/JP2009/055541 (W02009/113733A1) (国際)

201510981937.6 (分割 中国)

出願人：公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：島垣昌明、鈴木孝尚、渥美優介、中島美砂子

発明の名称：細胞分取培養増殖容器及び細胞分取培養増殖方法

出願年月日：国内出願 平成 27 年 12 月 26 日

出願番号：特願 2015-255511 (国内)

出願人：東レ・メディカル株式会社、ネッパジーン株式会社、

国立長寿医療研究センター（共願人として名義変更予定）

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎、渡辺秀人

発明の名称：歯科用前処理材及び歯組織再生キット

出願年月日：国内出願 平成 28 年 3 月 31 日

出願番号：特願 2016-072306 (国内)

出願人：国立長寿医療研究センター、学校法人愛知医科大学

特許取得

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：非抜歯根管充填材

出願年月日：国内出願 平成 22 年 9 月 10 日

出願番号：特願 2010-202663 (国内)

特許取得：平成 27 年 5 月 22 日

特許証：特許第 5748194 号

権利者：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、中村洋

発明の名称：薬剤、歯科材料、及びスクリーニング方法

出願年月日：国内出願 平成 20 年 4 月 7 日

国際出願 平成 22 年 4 月 6 日

欧州移行 平成 22 年 11 月 5 日

出願番号：特願 2008-099814
PCT /JP2009/057410 (W02009/125859) (国際)
09730839.9 (欧州)
特許取得：平成 27 年 7 月 8 日 (欧州)
特許証：特許第 2286829 号
権利者：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、杉山昌彦
発明の名称：脳梗塞治療材及び脳組織再生方法
出願年月日：国内出願 平成 21 年 8 月 21 日
出願番号：特願 2010-525733
特許取得：平成 27 年 8 月 21 日 (国内)
特許証：特許第 5793724 号
権利者：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎
発明の名称：間葉系幹細胞を含んでなる根管充填材及びこれを用いた歯組織再生方法
出願年月日：国内出願 平成 23 年 2 月 28 日 (国内)
中国移行 平成 25 年 8 月 23 日 (中国)
出願番号：特願 2011-042862
09730839.9 (中国)
特許取得：平成 27 年 10 月 14 日 (中国)
特許証：特許第 ZL20128001806.8 号
権利者：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、島垣昌明、長部真博
発明の名称：膜分取培養器、膜分取培養キット、
およびこれを用いた幹細胞分取方法、ならびに分離膜
出願年月日：国内出願 平成 23 年 3 月 30 日 (国内)
シンガポール移行 平成 25 年 9 月 30 日
出願番号：特願 2011-075861
PCT/JP2012/058637 (W02012/133803 A1) (国際)
201307347-3 シンガポール
特許取得日：平成 27 年 12 月 24 日
特許証：194029
権利者：国立長寿医療研究センター、東レ株式会社

発明者：中島美砂子、立花克郎
名称：歯科用超音波薬剤導入システム及び歯科用超音波薬剤導入方法
出願年月日：国内出願 平成 21 年 12 月 16 日
国際出願 平成 22 年 12 月 16 日

中国移行 平成 24 年 6 月 14 日
出願番号： 特願 2009-285068 特願 2010-280905 特開 2011-143242
PCT/JP2010/007315 (WO2011/074268A1) (国際)
201080056859.4 (中国)
特許取得日：平成 28 年 2 月 17 日 (中国)
特許証：特許第 ZL201080056859.4 号
権利者：国立長寿医療研究センター、学校法人福岡大学

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Nakashima M

Dental pulp stem cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration clinical trial.

5th Research Week International Symposium of Oral Medicine College of Oral Medicine, May 16, 2015, Taipei.

Nakashima M

Dental pulp stem cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration: Phase 1 clinical trial. Proceedings of International Conference on Clinical Trials, July 27, 2015, Orlando.

中島美砂子

歯の延命化を目指した歯髄幹細胞自家移植による歯髄再生治療法の臨床研究.
第 33 回日本骨代謝学会学術集会, 2015 年 7 月 24 日, 東京.

中島美砂子

歯の延命化による健康長寿を目指した歯髄・象牙質再生治療法の現状と展望. シンポジウム「健康長寿と再生医療」

日本学術会議歯学委員会主催, 日本歯科医学会・日本歯学系学会協議会共催,
2015 年 12 月 13 日, 東京.

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

藤田将典、庵原耕一郎、堀場直樹、中田和彦、中島美砂子

感染根管における新規ナノバブルを用いた根管内無菌化と歯髄再生.
第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2015 年 6 月 25 日, 福岡.

庵原耕一郎、中島美砂子

MRI による抜髄後歯髄再生治療法の有効性解析.

第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2015 年 6 月 25 日, 福岡.

庵原耕一郎、藤田将典、中島美砂子

歯髄幹細胞の同種移植による歯髄再生治療法の開発.

第 13 回日本再生歯科医学会学術大会総会, 2015 年 8 月 29 日, 新潟.

中山英典、大桑雄太、栗田賢一、中島美砂子

ヒト若齢根未完成智歯由来膜分取歯髄幹細胞は未分取に比べより有用な細胞源となり得る.

第 60 回日本口腔外科学会総会学術大会, 2015 年 10 月 16 日, 名古屋.

庵原耕一郎、藤田将典、村上真史、中島美砂子

同種移植による抜髄後歯髄再生治療法の開発.

第 143 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2015 年 11 月 13 日, 東京.

庵原耕一郎、中島美砂子

イヌ抜髄モデルを用いた同種移植による抜髄後再生治療法の開発.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

Ahmed N., Nakashima M., Murakami M.

Therapeutic potential of dental pulp stem cell secretome for Alzheimer's disease treatment.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

林勇輝、福田理、中島美砂子

高齢マウスにおける抗 CCL 1 1 抗体の持続投与による歯髄再生量回復メカニズムの検討.

第 15 回日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 17 日, 大阪.

4. その他、セミナー等

中島美砂子

歯髄・象牙質再生医療の現状と未来

第 2 回骨の研究会, 2015 年 10 月 3 日, 東京.

中島美砂子

ここまで来た歯髄再生治療.

日本自家歯牙移植・外傷歯学研究会 CE セミナーOB 会合同研修会, 2015 年 6 月 28 日, 名古屋.

中島美砂子

歯の延命化による健康長寿を目指した歯髄・象牙質再生治療法の現状と展望. 東京医科歯科大学院特別講義, 東京医科歯科大学, 2016 年 2 月 4 日, 東京.

中島美砂子

超高齢化社会に向けた歯髄・象牙質再生医療の現状と未来.

大阪市東歯科医師会学術講演会 一般社団法人大阪市東歯科医師会主催, 2016 年 2 月 27 日, 東京.

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

なし

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

中島美砂子 (代表) 230 万円 (総額 299 万円)

科学研究費補助金 基盤研究(B)

DNA 損傷の形態学的品質評価法を用いた歯髄幹細胞の最適培養法の開発

中島美砂子 (分担) 20 万円

科学研究費補助金 基盤研究(C)

歯髄幹細胞を用いた新しい末梢神経麻痺の根本治療法の開発

中島美砂子 (分担) 30 万円

科学研究費補助金 基盤研究(C)

歯髄・骨髄・脂肪幹細胞培養上清の再生能比較による細胞遊走因子の同定

4. 財団、その他

中島美砂子（代表） 1,461 万円（総額 1,861 万円）

長寿医療研究開発費

歯髄再生治療をモデルとした高齢者の再生治療を促進する因子(RSF)の開発

中島美砂子（分担） 278 万円

サポイン 中小企業経営支援等対策費補助金

幹細胞を簡便、安全に分取し、高機能化増幅する革新的器具の開発

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

須磨 紫乃

吉武 淳

研究生

加藤 佳子

石田 直之

高田 鮎子

森下 志穂

研究補助員・事務補助員

王 静舒

小暮 宏実

池口 智子

(2) 平成 27 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全国老人保健施設協会、日本老年歯科医学会、日本在宅栄養管理学会の協力を得て、東京都健康長寿医療センター、国立保健医療科学院、駒沢女子大学、東京医科歯科大学、東北福祉大学、新潟大学と共同で、平成 27 年度厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)「介護保険施設における利用者の口腔・栄養管理の充実に関する研究」と厚生労働省「歯科保健サービスの効果検証事業」を実施した。前者では要介護高齢者の口腔・栄養管理のガイドラインとエビデンスの作成と在宅高齢者に対する多職種連携による経口維持支援の効果検証を、後者では誤嚥性肺炎予防に係る歯科保健サービスの効果検証を行っている(平成 28 年度も継続)。また、センター内での研究活動として、

もの忘れセンターの外来患者の食欲
と食行動問題に関する調査を実施し
ている（平成28年度も継続）。

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

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 β 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 β 蓄積が出現することが明らかになり、ADをA β 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 β 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。

2. 加齢変化が歯周病の病態に及ぼす影響の検討

歯周病は加齢にともなって発症する疾患であるが、加齢あるいは老化が歯周病の病態形成にいかに関与しているか不明である。そこで、歯周病の病因の一つとして、加齢あるいは老化に伴う歯周組織の脆弱化が関与するといった作業仮説をもとに解析を行っている。具体的には、20ヶ月齢の老齢マウスの歯周組織および口腔粘膜組織から総RNAを抽出し、発現する遺伝子を若齢マウスのそれと網羅的に比較検討した。その結果、タイトジャンクションを形成する数種類の分子や自然免疫応答に関連する分子の発現が弱齢マウスにおける発現と比べ増減があることが認められた。また、それらの分子の歯周組織におけるタンパク質発現を免疫染色法で解析した結果、若齢マウスにおける発現と比較して、発現量およびその局在に相

違が認められた。現在、それらの分子の発現変化が歯周病等の口腔感染症の病態にどのように関連するかを詳細に検討している。

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、う蝕や歯周病などの口腔疾患を誘発するとともに、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。

口腔感染制御研究室：渡邊 裕、須磨紫乃、森下志穂、池口智子

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. 介護保険施設における利用者の口腔・栄養管理の充実に関する研究

研究1：要介護高齢者の口腔・栄養管理のガイドラインとエビデンスの作成

診療ガイドライン作成マニュアルに基づいて口腔・栄養管理のガイドラインを作成している、平成27年度は要介護高齢者に対する口腔・栄養管理の課題を抽出して、課題に基づくクリニカルクエスションとアウトカムの設定（日本老年歯科医学会、日本在宅栄養管理学会に収集を依頼）、システムティックレビュー：栄養管理27論文（観察：21論文、介入5論文、総説1論文）、口腔管理35論文、口腔・栄養管理40論文、合計101の論文を抽出し、収集したクリニカルクエスションとアウトカムに分類し、推奨の作成を行った。現在、クリニカルクエスションとシステムティックレビューを突合し、不足しているエビデンス（要介護高齢者の口腔・栄養管理に必要なアセスメント項目など）に関して、これまでの研究データを用いて戦略的にエビデンスを作成中である。

研究2：在宅高齢者に対する多職種連携による経口維持支援の効果検証 全国介護老人保健施設協会の協力

により、施設退所者の経過に関する情報を収集した。平成24～26年に収集したデータを分析したところ、介護老人保健施設退所者707名のうち、1年後も在宅療養を継続している者は54名

（8%）であることが明らかになった。

本研究では新たに施設退所者504名の経過に関する情報を収集し、退所後3ヶ月までの情報を収集した（退所後12ヶ月まで収集予定）。口腔・栄養管理の状況による退所後の経過の違い、在宅療養継続に影響する因子の検討を行った。結果、退所後3ヶ月間の間に、171名（33.9%）が入院、再入所（70名）等により在宅療養を継続できていなかった。

入院、再入所のリスク要因を分析したところ、食事、口腔ケア、排泄の自立の状態が有意に関連しており、在宅療養を継続するためには、地域において口腔と栄養の連携による経口維持支援体制を構築する必要性が明らかになった。

2. 歯科保健サービスの効果検証事業

本研究では、介護保健施設（介護老人福祉施設）に入所する中重度の要介護者における、誤嚥性肺炎の予防を含む全身の健康状態と口腔ケアの関係

性の検証を行っている。研究に際しては対象となる利用者を介入群・対照群の2群に分け、介入群には通常の口腔衛生指導に加えて口腔機能指導プログラムによる歯科保健指導を実施し、歯科保健指導の効果および効率的な口腔ケア実施のための効果的なスクリーニングを、科学的見地から検証することを目的とした。

現在のところ先行群9カ月、後発群3ヶ月の介入が終わり、誤嚥性肺炎の発症率、発熱、入院に関して介入効果が認められている。本介入は15ヶ月間実施予定となっている。

3.もの忘れセンターの外来患者の

食欲と食行動問題に関する調査

もの忘れ外来を受診した2,522名から基本的特性は質問票により収集し、専門の臨床心理士が包括的機能評価を行った。認知症の診断は各種検査結果を元に専門医が行い、食欲の評価にはシニア向け食欲調査票（Council on Nutrition appetite questionnaire:CNAQ）日本語版を用いた。統計解析では、アルツハイマー病（AD）、レビー小体型認知症（DLB）、軽度認知機能障害（MCI）と診断された患者の食欲低下の有無をCNAQにて2群に分類し、ロジスティック回帰分析にて食欲低下に影響する要因を検討した。

結果、認知症病型別内訳は、AD1,309名、DLB157名、MCI506名であった。ロジスティック回帰分析を行ったところ、ADでは栄養の評価である

MNA-SF、うつ傾向の指標となるGDS、赤血球数、MCIではGDS、食事の維持に問題のある事で食欲の低下と有意な関連が認められた。また有意ではなかったものの、ADでは食事の維持に問題があること、DLBではMNA-SF、四肢筋肉量を表すSMIで食欲低下群と関連する傾向がみられた。

研究業績（口腔疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Takagi D, Hirano H, Watanabe Y, Edahiro A, Ohara Y, Yoshida H, Kim H, Murakami K, Hironaka S.

Relationship between Skeletal Muscle Mass and Swallowing Function in Patients with Alzheimer's Disease.

Geriatr Gerontol Int. in press, 2015.

Sakai K, Hirano H, Watanabe Y, Tohara H, Sato E, Sato K, Katakura A.

An examination of factors related to aspiration and silent aspiration in older adults requiring long-term care in rural Japan.

J Oral Rehabil. 43(2):103-10, 2016.

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. 24(1):19-22, 2016.

Morishita S, Watanabe Y, Ohara Y, Edahiro A, Sato E, Suga T, Hirano H.

Factors associated with the need of older adults for oral hygiene management by dental professionals.

Geriatr Gerontol Int. doi:10.1111/ggi.12585, 2015

Murakami K, Hirano H, Watanabe Y, Edahiro A, Ohara Y, Yoshida H, Kim H, Takagi D, Hironaka S.

Relationship between swallowing function and the skeletal muscle mass of older adults requiring long-term care.

Geriatr Gerontol Int. 15(10):1185-92, 2015.

Murakami, Masaharu; Hirano, Hirohiko; Watanabe, Yutaka; Sakai, Katsuhiko; Kim, Hunkyong; Katakura, Akira.

Relationship between chewing ability and sarcopenia in Japanese community-dwelling older adults.

Geriatr Gerontol Int. 15(8):1007-12, 2015.

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. 15(6):755-61, 2015.

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.

日本歯科衛生学会雑誌, 9(2), 69-79, 2015.

Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Nakashima H, Nakamura T, Nakayama A, Higashino T, Naito M, Suma S, Hishida A, Satoh T, Sakurai Y, Takada T, Ichida K, Ooyama H, Shimizu T, Shinomiya N.

The effects of URAT1/SLC22A12 nonfunctional variants, R90H and W258X, on serum uric acid levels and gout/hyperuricemia progression.

Sci Rep, 6:20148, 2016.

Yamaguchi M, Uemura H, Arisawa K, Katsuura-Kamano S, Hamajima N, Hishida A, Suma S, Oze I, Nakamura K, Takashima N, Suzuki S, Ibusuki R, Mikami H, Ohnaka K, Kuriyama N, Kubo M, Tanaka H.

Association between brain-muscle-ARNT-like protein-2 (BMAL2) gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in obese Japanese individuals: A cross-sectional analysis of the Japan Multi-institutional Collaborative Cohort Study.

DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE, 110(3):301-8, 2015.

Tamura T, Morita E, Kawai S, Sasakabe T, Sugimoto Y, Fukuda N, Suma S, Nakagawa H, Okada R, Hishida A, Naito M, Hamajima N, Wakai K.

No association between *Helicobacter pylori* infection and diabetes mellitus among a general Japanese population: a cross-sectional study.

SPRINGERPLUS, 4:602, 2015.

Suma S, Naito M, Wakai K, Sasakabe T, Hattori Y, Okada R, Kawai S, Hishida A, Morita E, Nakagawa H, Tamura T, Hamajima N.

Effects of IL6 C-634G polymorphism on tooth loss and their interaction with smoking habits.

Oral Dis, 21(6):807-813, 2015.

Mokuno J, Hishida A, Morita E, Sasakabe T, Hattori Y, Suma S, Okada R, Kawai S, Naito M, Wakai K.

ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) R219K (G1051A, rs2230806) polymorphism and serum high-density lipoprotein cholesterol levels in a large Japanese population: cross-sectional data from the Daiko Study.

Endocr J, 62(6):543-549, 2015.

2. 総説

松下健二

歯周病と全身の健康. 第2部 8) アルツハイマー病.

特定非営利活動法人日本歯周病学会 (編).

特定非営利活動法人日本歯周病学会, 114-116, 2016.

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

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).

Springer Japan, Chapter 26:237-243, 2015.

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

Possible roles of IL-33 in periodontal diseases: *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).

Springer Japan, Chapter 31:293-304, 2015.

松下健二

腸内細菌・口腔細菌と全身疾患. 第11章 認知症.

シーエムシー出版, p176-182, 2015.

松下健二

質疑応答（歯科・口腔外科）－加齢による歯と血管の変化－.
週刊日本医事新報, 4754:61, 2015.

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.

渡邊 裕

誤嚥性肺炎を予防する口腔ケアで、医療費削減.
8020 財団会誌, 15:92-95, 2016.

渡邊 裕

オーラル・フレイルとは.
臨床栄養, 127:742-743, 2015.

渡邊 裕

フレイル高齢者の口腔機能低下について.
メディカル朝日, 11:42-43, 2015.

渡邊 裕

“今”知っておきたいキーワード フレイル.
The Quintessence, 35(1):100-101, 2015.

渡邊 裕

“今”知っておきたいキーワード サルコペニア.
The Quintessence, 35(3):80-81, 2015.

3. 著書、Chapters

渡邊 裕（著分担）

口腔内科学. 老年者、障害者への対応.

山根源之、草間幹夫、久保田英朗、片倉 朗、北川善政、里村一人 編, 永末書店, p43-53, 2016.

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

—

鈴木隆雄、島田裕之、大淵修一 監修, 法研, P400-425, 2015.

渡邊 裕 (著分担)

老年歯科医学. 神経疾患

(編) 一般社団法人日本老年歯科医学会, 医歯薬出版, p419-429, 2015.

4. その他

Matsushita K

Periodontal Disease as a Possible Risk Factor for Alzheimer's Disease.
Proceedings of 6th Hiroshima Conference on Education and Science in
Dentistry, Hiroshima University, p25-27, 2015

5. 新聞・報道等

松下健二

東海テレビ, 平成 27 年 11 月 5 日, 歯っぴーライフ ~歯と口の健康づくり

松下健二

ラジオ NIKKEI「医学講座」, 平成 27 年 5 月 14 日, 放送高齢者のドライマウス

松下健二

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

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

松下健二

健やかに老いるためのお口のケアのすすめ ー口腔と全身の関連性ー
平成 27 年度「8020 よい歯の高齢者表彰・お口と身体の講習会」, 2015 年
11 月 23 日, 大垣

松下健二

長生きを享受するための口腔の重要性.

ライオンオーラルケア研究所セミナー, 2015 年 9 月 29 日, 東京

松下健二

長生きを享受するための口腔の重要性.

平成 27 年度歯周病と糖尿病との医科歯科連携講演会, 2015 年 9 月 19 日,
大府

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性

松本歯科大学イブニングセミナー, 2015 年 7 月 17 日, 松本

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性

平成 27 年度算定事務講習会ならびに健康管理講習会 (大阪講演), 2015 年
6 月 17 日, 大阪

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性

平成 27 年度算定事務講習会ならびに健康管理講習会 (東京講演), 2015 年
6 月 10 日, 東京

松下健二

医療保険者における歯科保健の重要性 ー口腔と全身の関わりから考える

ー

第 168 回社会保険静岡特別研究会, 2015 年 4 月 21 日, 静岡

渡邊 裕

シンポジウム 地域包括ケアと摂食嚥下障害 ー高齢社会におけるリハビリ
テーションと摂食嚥下ー 摂食嚥下に関連する問題に対応可能な医療資
源に関する調査報告

第 21 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会 2015 年 9 月 11 日,
京都

渡邊 裕

フレイル高齢者の口腔機能の低下について，合同シンポジウム 1「高齢者の食を支えるために；オーラルフレイルの概念を討議する」

第 29 回日本老年学会総会，2015 年 6 月 12 日，横浜

2. 国際学会発表

J.Wang, M.Hagiwara, A.Takada, K.Matsushita.

Dynamics of Nitric Oxide and Ca²⁺ Induced by Short Exposure to Mechanical Stresses in Human Endothelial Cell Cultures.

第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート，Feb 12, 2016, Obu, Japan.

J.Wang, M.Hagiwara, A.Takada, K.Matsushita.

Correlation between Dynamics of Nitric Oxide and Ca²⁺ Induced by Short Exposure to Mechanical Stresses in Human Endothelial Cell Cultures.

ASCB2015, Dec 15, 2015, San Diego, USA.

TOKUDA MASAYUKI, KAWAI JUNYA, SAKUTA TETSUYA, OYAMA TORU, MIYASHITA KEIKO, EMOTO MAKIKO, MORIMOTO YOKO, TORII MITSUO, MATSUSHITA KENJI.

Antimicrobial effects of Hericium erinaceus extracts. -In vitro and in vivo studies.

4th International Conference on Probiotics, Functional and Baby Foods, Nov 5, 2015, Valencia, Spain.

Matsushita K.

Periodontal Disease as a Possible Risk Factor for Alzheimer's Disease.

6th Hiroshima conference, Oct 23, 2015, Hiroshima.

Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Hagiwara M, Michikawa M, Matsushita K.

Porphyromonas gingivalis infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice.

Europerio 8, Jun 4, 2015, London, UK.

Watanabe Y., Morishita S., Suma S., Edahiro A., Hirano H., Motokawa K., Ohara Y., Arai H., Suzuki T.

The relationship between frailty and oral function in community-dwelling elderly people.

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 22, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Suma S., Watanabe Y., Morishita S., Edahiro A., Hirano H., Motokawa K.,
Hironaka S., Takagi D., Ohara Y., Arai H., Suzuki T.

Effect of the comprehensive oral care program on oral function and frailty in
community-dwelling older adults.

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 22, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Hirano H., Watanabe Y., Edahiro A., Kawai H., Kim H., Yoshida H., Obuchi S.

Relationship between sarcopenia and chewing ability in Japanese
community-dwelling elderly—is Sarcopenia a contributing factor for decline in
chewing Ability.

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 22, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Edahiro A., Hirano H., Watanabe Y., Ichikawa T., Sakurai K.

A statement of position for oral health management for the elderly people with
dementia from The Japanese Society of Gerodontology (JSG) .

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 21, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Motokawa K., Edahiro A., Hirano H., Watanabe Y., Hironaka S., Takagi D.

Relationship between Nutritional Status and Severity of Dementia in Group
Homes for Dementia.

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 21, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Edahiro A., Hirano H., Watanabe Y., Hironaka S., Takagi D., Awata S.

Meal care for eating dysfunction in Alzheimer's disease, relationship with
declines of attention and consciousness.

International Association of Gerontology and Geriatrics 2015, Oct 21, 2015.
Chiang Mai, Thailand.

Edahiro A., Hirano H., Motokawa K., Watanabe Y.

Nutrition of elderly person with Alzheimer's disease, related with eating dysfunction; examination on the basis of functional assessment staging (FAST) .
The 16th Parenteral and Enteral Nutrition Society of Asia 2015, Jul 25, 2015,
Nagoya, Japan.

Motokawa K., Hirano H., Edahiro A., Watanabe Y.
Relationship between severity of dementia and nutritional status among older people with dementia in group homes.
The 16th Parenteral and Enteral Nutrition Society of Asia 2015, Jul 25, 2015,
Nagoya, Japan.

Watanabe Y., Hirano H., Edahiro A., Ohara Y., Takagi D., Murakami K., Hironaka S.
Risk factors for appendicular skeletal muscle mass decline in elderly people with Alzheimer's Disease: Focus on swallowing function.
The 30th International Conference of Alzheimer's Disease International.
Apr 16-17, 2015, Perth, Australia.

Edahiro A., Hirao H., Watanabe Y., Ohara Y.
Transitions of Eating and Swallowing Function Accompanying Dementia Progression - Examination on The Basis Of Functional Assessment Staging (FAST).
The 30th International Conference of Alzheimer's Disease International.
Apr 16-17, 2015, Perth, Australia.

Motohashi Y., Hirano H., Watanabe Y., Edahiro A., Ohara Y., Takagi D., Hironaka S.
Relationship between nutritional status and severity of Alzheimer's disease.
The 30th International Conference of Alzheimer's Disease International.
Apr 16-17, 2015, Perth, Australia.

Hirano H., Watanabe Y., Edahiro A., Ohara Y. Takagi D., Murakami K., Hironaka S.
Swallowing Function and Nutritional Status in Elderly with Alzheimer's Disease - A Study of Malnutritional Risk Factor.
The 30th International Conference of Alzheimer's Disease International.

Apr 16-17, 2015, Perth, Australia.

3. 国内学会発表

松下健二、石田直之、石原裕一、多田浩之、王 静舒、高田鮎子、石田和人、道川 誠

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.

第 21 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会総会, 2015 年 12 月 5 日, 東京

多田浩之、高瀬 彩、松下健二、高田春比古

Porphyromonas gingivalis ジンジパインによるヒトマスト細胞からの IL-31 産生誘導.

第 21 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会総会, 2015 年 12 月 5 日, 東京

王 静舒、萩原 真、高田鮎子、松下健二

短時間の機械的ストレスによるヒト血管内皮細胞内一酸化窒素とカルシウムイオンの動態.

第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 1 日, 神戸

萩原 真、多田浩之、石田直之、王 静舒、高田鮎子、松下健二

NO によるニトロシル化修飾を介したファゴサイトーシス促進機構.

第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 1 日, 神戸

山田きよ子、王 静舒、指宿敦子、松下健二、金蔵拓郎

高濃度グルコースの局所塗布はアトピー性皮膚炎モデルマウスにおける上皮障害を修復する : HMGB1 関与の可能性.

第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 2015 年 11 月 21 日, 松江

高田鮎子、松下健二、萩原真、堀岡悟、古市保志、角屋保徳

310nm 紫外線 LED の口腔内細菌に対する殺菌作用の検討.

第 58 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2015 年 9 月 12 日, 浜松

多田浩之、松下健二、高田春比古

Porphyromonas gingivalis fimbriae による樹状細胞のクロスプレゼンテーション誘導.

第 57 回歯科基礎医学会学術大会, 2015 年 9 月 12 日, 新潟

高瀬 彩、多田浩之、西岡貴志、松下健二、高田春比古

Porphyromonas gingivalis はヒトマスト細胞から IL-31 産生を誘導する.

第 57 回歯科基礎医学会学術大会, 2015 年 9 月 12 日, 新潟

萩原真、多田浩之、石田直之、王静舒、高田鮎子、松下健二

ファゴサイトーシスは NO 修飾によって調節される.

第 67 回日本細胞生物学会大会, 2015 年 7 月 2 日, 東京

多田浩之、高田春比古、松下健二

Porphyromonas gingivalis によるヒトマスト細胞からの interleukin-31 産生誘導.

第 142 回日本歯科保存学会春季大会, 2015 年 6 月 26 日, 北九州

萩原真、多田浩之、石田直之、王静舒、高田鮎子、松下健二

貪食細胞における NO 産生による食作用促進機構.

第 10 回トランスポーター研究会年会, 2015 年 6 月 21 日, 東京

多田浩之、松下健二、高田春比古

Porphyromonas gingivalis ジンジバインによる IL33 誘導はヒト歯肉上皮細胞の LL37/CAP-18 の産生を抑制する.

第 58 回春季日本歯周病学会学術大会, 2015 年 5 月 14 日, 幕張

今泉良典、木下かほり、小出由美子、渡邊 裕、佐竹昭介、山岡朗子

高齢者の食欲不振へのアプローチ ~心理的な原因に対するアプローチによる改善例~

第 31 回日本静脈経腸栄養学会, 2016 年 2 月 25 日, 福岡

須磨紫乃、渡邊 裕、松下健二、荒井秀典、櫻井 孝

認知症患者の食欲に影響を与える要因の検討.

第 26 回日本疫学会学術総会, 2016 年 1 月 22 日, 米子

梅木賢人、平野浩彦、枝広あや子、河合恒、吉田英世、渡邊 裕、大淵修一、

白部麻樹、本川佳子、小原由紀、村上正治、河相安彦

地域在住高齢者における咬筋厚と大腿四頭筋厚の関連に関する検討

第2回日本サルコペニア・フレイル研究会, 2015年10月4日, 東京

堀部耕広、平野浩彦、渡邊 裕、枝広あや子、小原由紀、本川佳子、白部麻樹、吉田英世、大淵修一、上田貴之、櫻井薫

地域在住高齢者の咀嚼機能低下にフレイルは関与するか。

第2回日本サルコペニア・フレイル研究会, 2015年10月4日, 東京

川村孝子、遠藤孝子、山口柳子、甫仮貴子、菅原彰将、加藤洋介、森下志穂、渡邊 裕

二次予防事業対象者における口腔機能向上および運動器機能向上の複合サービスの効果。

日本歯科衛生学会第10回学術大会, 2015年9月20-22日, 札幌

森下志穂、渡邊 裕、平野浩彦、枝広あや子、小原由紀、後藤百合、柴田雅子、長尾志保、三角洋美

通所サービス利用者における口腔機能向上および栄養改善の複合サービスの長期介入効果。

日本歯科衛生学会第10回学術大会, 2015年9月20-22日, 札幌

柴田真弓、渡邊 裕、森下志穂、平野浩彦、小原由紀、後藤百合、河原千里、三角洋美、山口ひさ子、土田満

二次予防対象高齢者における複合プログラム介入の効果検証。

日本歯科衛生学会第10回学術大会, 2015年9月20-22日, 札幌

枝広あや子、平野浩彦、渡邊 裕、小原由紀、白部麻樹、本川佳子、高城大輔、弘中祥司、粟田主一

認知症高齢者の摂食嚥下機能と栄養状態の変化 -FASTステージ別の検討-

第21回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会, 2015年9月11日, 京都

守屋信吾、久保田チエコ、渡邊 裕、村松真澄、豊下祥史、川西克弥、越野寿

地域自立高齢者における社会的健康格差要因 —歯数との関連性—

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

久保田チエコ、守屋信吾、渡邊 裕、濱洋平、水口俊介

地域自立高齢者における知的能力、教育歴と定期歯科受診との関連性。

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

高城大輔、平野浩彦、渡邊 裕、枝広あや子、小原由紀、白部麻樹、大淵修一、
吉田英世、村上浩史、弘中祥司

地域在住高齢者における食欲減退の背景因子に関する検討.

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

小原由紀、枝広あや子、森下志穂、渡邊 裕、平野浩彦

地域在住高齢者における口腔機能および栄養状態の変化 —5年間の追跡調査から—

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

梅木賢人、平野浩彦、渡邊 裕、枝広あや子、小原由紀、高城大輔、白部麻樹、
吉田英世、大淵修一、弘中祥司、河相安彦

地域在住高齢者における四肢骨格筋量と咬筋厚の関連に関する検討.

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

枝広あや子、平野浩彦、渡邊 裕、弘中祥司、小原由紀、森下志穂、高城大輔、
白部麻樹

認知症高齢者の口腔機能の経時変化 —FASTを基準にした縦断調査からの検討—

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

堀部耕広、平野浩彦、渡邊 裕、枝広あや子、小原由紀、高城大輔、白部麻樹、
吉田英世、大淵修一、上田貴之、弘中祥司、櫻井薫

地域在住後期高齢者における低栄養と咀嚼機能低下および嚥下機能低下との関連.

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

白部麻樹、平野浩彦、小原由紀、枝広あや子、渡邊 裕、吉田英世、大淵修一
地域在住高齢者の歯周疾患実態調査報告.

日本老年歯科医学会第26回学術大会, 2015年6月11-14日, 横浜

渡邊 裕、守屋信吾、小原由紀、枝広あや子

地域在住二次予防高齢者に対する複合プログラムの開発と効果検証.

第 64 回日本口腔衛生学会, 2015 年 5 月 29 日, つくば

4. その他、セミナー等

松下健二

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.

平成 27 年度 生活習慣病指導医スキルアップ研修会, 2016 年 1 月 24 日, 名古屋

松下健二

血管を基盤とした歯周病（歯周病関連細菌）と全身疾患の関連性.

東北大学歯学部口腔微生物学分野特別講義, 2016 年 1 月 19 日, 仙台

松下健二

健やかに老いるためのお口のケアのすすめ ー口腔と全身の関連性ー

平成 27 年度「8020 よい歯の高齢者表彰・お口と身体の講習会」, 2015 年 11 月 23 日, 大垣

松下健二

老年病、特に認知症と口腔の関連性.

九州大学歯学府・低年次総合カリキュラム「口腔ブレインサイエンス入門」, 2015 年 11 月 19 日, 福岡

松下健二

長生きを享受するための口腔の重要性.

ライオンオーラルケア研究所セミナー, 2015 年 9 月 29 日, 東京

松下健二

長生きを享受するための口腔の重要性 ー歯周病・糖尿病・認知症の負の連鎖を断つー

平成 27 年度歯周病と糖尿病との医科歯科連携講演会, 2015 年 9 月 19 日, 大府

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性.

松本歯科大学イブニングセミナー, 2015 年 7 月 17 日, 松本

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性.

平成 27 年度算定事務講習会ならびに健康管理講習会（大阪講演）, 2015 年 6 月 17 日, 大阪

松下健二

健康寿命延伸のための口腔の重要性.

平成 27 年度算定事務講習会ならびに健康管理講習会（東京講演）, 2015 年 6 月 10 日, 東京

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 168 回社会保険静岡特別研究会, 2015 年 4 月 21 日, 静岡

渡邊 裕

口腔機能向上.

平成 27 年度神奈川県介護予防従事者研修会, 2016 年 1 月 17 日, 神奈川

渡邊 裕

歯科衛生士に必要な全身疾患の基礎知識.

平成 27 年度愛知県歯科衛生士会研修会, 2015 年 8 月 30 日, 愛知

渡邊 裕

在宅・施設高齢者のための歯科保健指導と多職種連携に必要な知識とは.

平成 27 年度大阪府歯科衛生士会訪問口腔ケア研修会, 2015 年 5 月 31 日, 大阪

渡邊 裕

介護保険施設における口腔と栄養のサービス連携の効果に関する調査.

第 8 回高齢者歯科保健・介護保険部門打合会, 2015 年 4 月 8 日, 東京

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

渡邊 裕（代表）584 万円（総額 584 万円）

平成 27 年度厚生労働科学研究費（長寿科学総合研究事業）
介護保険施設における利用者の口腔・栄養管理の充実に関する調査研究

渡邊 裕（分担） 130 万円
平成 27 年度厚生労働科学研究費（長寿科学研究開発事業）
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） 130 万円
平成 27 年度厚生労働科学研究費（長寿科学研究開発事業）
高齢者の摂食嚥下・栄養に関する地域包括的ケアについての研究

渡邊 裕（委員） 200 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） 354 万円（総額 414 万円）
平成 27 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 27 年度科学研究助成事業（基盤研究 B）
「食」を契機とする在宅療養高齢者の生活支援モデルの構築

渡邊 裕（代表） 140 万円（総額 140 万円）
平成 27 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） 90 万円（総額 90 万円）
平成 27 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
平成 27 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

3. 財団、その他

松下健二（代表） 155 万円 （総額 255 万円）

平成 27 年度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） 170 万円

平成 27 年度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） 48 万円

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が無侵襲・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（分担） 50 万円

平成 26・27 年度日本歯科医学会プロジェクト研究費

後期高齢者の口腔機能を改善する診療ガイドラインに関する研究

須磨紫乃（分担） 15 万円

公益財団法人 長寿科学振興財団（長寿科学関連国際学会派遣事業）

Effect of the comprehensive oral care program on oral function and frailty in community-dwelling older adults.

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 杉本 昌隆(10月～)

流動・研究開発研究員

松田 剛典

岩下 雄二

三河 隆太 (10月～)

浅井あづさ(10月～)

外来研究員

赤津 裕康

橋本 理尋 (10月～)

客員研究員

石神 昭人 山田 潤

島田 順一 勝見 章

本山 昇 (9月～)

南山 誠 (9月～)

研究生

石澤 和也 鄒 岑

新井 聡 桐浴 隆嘉

城内 健太 森田 悠治

研究補助員・事務補助員

岡山美和子

長坂 真有

築瀬 正伍 (~11月)

松井 直美

木村 広美

飯田 万由

矢田 智子 (10月～)

太田 祐子 (12月～)

山田 あかね (12月～)

近藤 麻衣 (2月～)

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

10月より免疫研究室長に杉本昌隆博士が赴任し、1年半ぶりに2研究室体制で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。①Ziz2 遺伝子欠損マウス(KO)における腹腔内 B-1 細胞に注目し、Ziz3 を含めた Ziz ファミリー遺伝子と自然抗体産生、維持との関係を解析した。②細胞老化関連遺伝子 TARSH においては肺機能との関わり、TARSH 遺伝子の発現機構の解析を中心に、一方で細胞老化特異的に発現変化する Lnc (Long non-coding) RNA をマイクロアレイ解析にて同定し、老化における生理的意義の解明につながる知見を得ている。③代謝研究室では加齢による唾液腺機能低下のメカニズムを解明するために有用と考えられるモデルマウスを作製し、唾液腺の一つである顎下腺において、ポリコーム蛋白質である Bmi-1 が癌抑制遺伝子として知られる p16 の発現抑制を行うことで唾液を分泌する腺房細胞の数を制御することを明らかにした。④免疫研究室では老化細胞を特異的に生体から除去できるモデルマウスを作成し、老化細胞が SASP を介して肺組織の加齢依存的な免疫系機能の変化や病態の発生・進行に影響を与えうることが明らかにした。

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、老化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、さらには Ziz2,3 遺伝子欠損マウス (ZizDKO) の B 細胞分化における変化に注目し、昨年度論文発表した肺炎球菌等への感染に重要な

働きを有している辺縁帯 B 細胞と同様の機能があるとされる腹腔内 B1 細胞に注目した。結果、Ziz2、ZizDKO マウスとも B1 細胞集団に減少傾向が見られたことから、加齢に伴った腹腔 B1 細胞における Ziz ファミリー遺伝子の発現変化、さらには高齢者を患わず細菌感染症として肺炎球菌に対する自然抗体の産生能等を検討した。肺炎球菌を認識する自然抗体の産生に関して、ZizDKO マウスにおいて減少傾向が見られたので、今後は肺炎球菌感染後のメモリー機能も含めた細菌感染に対する Ziz ファミリー分子の役割について、ノロウイルス等他の高齢者にとって重篤なウイルス感染との重感染等、感染時における生存率や症状の重篤化の検討も加えていきたい。一方で Ziz2KO においては加齢に伴った腸内細菌叢の変化が野生型の生理的老化による変化と異なる傾向も見られた事から、現在この傾向がどのような腸管免疫系の変化と関連しているのかについても考察している。また、ルシフェラーゼアッセイ系を用いた Ziz2 遺伝子のプロモーター領域解析の結果、ZP2-M1, M3 と称する 2 箇所領域が NIH-3T3 細胞、Raw264.7 細胞株で転写制御能を有するシスエレメントであると判明した。今後は普遍的な発現制御に加えて、加齢に伴う発現の減少、あるいは細胞間での発現の特異性に関する転写制御領域の解明を進める。

部長グループ：丸山光生、杉本昌隆、岩下雄二、石澤和也、松田剛典 細胞老化関連遺伝子の個体老化における生理的意義に関する研究

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。生理学的にはがん抑制遺伝子の機能そのものが細胞増殖、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。また新たな試みの一つとして、近年タンパク質をコードする遺伝子とは別に多くの long non-coding RNAs (lncRNAs) が同定されており、lncRNAs 遺伝子の発現プロファイルをマイクロアレイ解析することで、未だ機能的に未知な部分の多い lncRNAs の細胞老化における役割についても考察を開始した。

研究結果と考察

TARSH は NESH の SH3 ドメインに結合する分子として単離され、ヒト及びマウス TARSH 遺伝子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、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我々の手によって示唆されてきた。今年度は TARSH の生理的機能と個体老化との関連で TARSH 遺伝子欠損マウスを作成し、肺の弾性の加齢変化を野生型マウスと比較し、明らかな差を見いだした。今後は TARSH が肺での発現細胞細胞の同定を含めて生理的個体老化との関連を解析する。

細胞老化における lncRNAs のトランスクリプトーム解析はマウス胚性繊維芽細胞を 3T3 プロトコルによって replicative senescence と、恒常的に活性化した HRAS 変異体を導入して生じた premature senescence について、発現プロファイルをマイクロアレイ法にて測定、解析した。その結果、タンパク質をコードする遺伝子に加えて lncRNAs 遺伝子においても、上記 2 種類の細胞老化において特異的に、あるいは共通に発現変化しており、それらを細胞老化関連 lncRNAs と定義した。現在、複数同定したこれら細胞老化関連 lncRNAs が 2 種類の細胞老化において、また、どのように個体老化につながる制御的な役割を果たしているのかを検証している。

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（*J. Cell Biol.*, 2009）を用いて、加齢による唾液腺機能低下のメカニズムを解明するために有用と考えられるモデルマウスを作製し、このモデルマウスを用いて唾液腺の一つである顎下腺において、ポリコーム蛋白質である Bmi-1 が癌抑制遺伝子として知られる p16 の発現抑制を行うことで唾液を分泌する腺房細胞の数を制御することを明らかにしてきた（*Aging Cell*, 2015）。

興味深いことに、研究遂行過程において、加齢に伴い、顎下腺の腺房細胞内に含まれる唾液の漿液性成分と粘液性成分の割合が変化し、粘性物質が増加することを見出した。このことから、加齢による唾液腺機能低下は唾液の量だけでなく唾液の質をも低下させるものと考えられる。

そこで、今年度、加齢により顎下腺で増加する粘性物質の同定を試みた。加齢により顎下腺で増加する粘性物

質を同定するために、まず、難分析性糖蛋白質を分析するために方法である分子マトリクス電気泳動（SMME）により、ムチンやプロテオグリカン等の分離を行った。その結果、ムチンが泳動される位置に、老齢マウスには若齢マウスに見られないスポットが観察された。質量分析（MALDI-TOF MS）による糖鎖分析を行ったところ、シアロ糖鎖の比率が増加していたことから、加齢により新たなムチンが発現するようになることが分かった。

以上のことから、加齢による新たなムチンの発現は、加齢により唾液粘性が亢進するメカニズムの一つとなっている可能性があり、顎下腺ホメオスタシスの維持において唾液粘性物質生合成・調節機構は非常に重要であることが示唆された。

[参考文献]

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

Yamakoshi K. et al., Dysregulation of the Bmi-1/p16^{INK4a} pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function. **Aging Cell**, 14(4), 616-624, (2015)

免疫研究室：杉本昌隆、浅井あづさ
細胞老化を介した免疫細胞の動態変化に関する研究

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。細胞老化は、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が一方で、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。

細胞老化を起こした細胞（老化細胞）は、単に増殖を停止しているだけでなく、SASP（*senescence-associated secretory phenotype*）と呼ばれる、特異的な分泌表現型を示す。現在までに判明しているSASP因子の大部分は、サイトカイン・ケモカインから成り、これらを介した老化細胞に非細胞自律的機能が生体機能に大きく影響を与えられている。

最近我々は、生体から任意の時期に老化細胞を特異的に排除可能なトランスジェニックマウスを樹立した。これまでにこのマウスを利用した研究から、呼吸器の加齢性変化に老化細胞が関与し、また呼吸器から老化細胞を排除することにより加齢に伴って低

下した肺組織の機能を回復可能であることを明らかにした（投稿中）。また、マイクロアレイにより加齢に伴う肺組織の遺伝子発現変化を解析したところ、少なくとも数百に及ぶ遺伝子の発現が加齢に伴い増加もしくは減少し、さらにこのような加齢依存性変化を示した遺伝子の半数以上は、老化細胞依存性を示すことを見出した。これら遺伝子群について、GSA解析を行ったところ、ケモカインを含む免疫応答に関与する遺伝子のカテゴリーが優位に変動していた。肺胞中には、マクロファージを主とする多くの免疫細胞が存在し、肺組織の機能に影響を与え、気腫などの病態に深く関与する。我々が本年度得た結果から、老化細胞がSASPを介して肺組織の加齢依存的な免疫系機能の変化や、これらを介した病態の発生・進行に影響を与えることが示唆された。次年度以降は、老化細胞依存的な肺組織免疫細胞の動態変化、およびそれらが肺機能に及ぼす影響について解析を行う。

参考文献

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

研究業績（老化機構研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Sato S, Kawamata Y, Takahashi A, Imai Y, Hanyu A, Okuma A, Takasugi M, Yamakoshi K, Sorimachi H, Kanda H, Ishikawa Y, Sone S, Nishioka Y, Ohtani N, Hara E.

Ablation of the p16^{INK4a} tumour suppressor reverses ageing phenotypes of klotho mice. **Nat. Commun.**, 6:7035, April, 2015.

Jin JK, Jang B, Jin HT, Choi EK, Jung CG, Akatsu H, Kim JI, Carp RI, Kim YS. Phosphatidylinositol-Glycan-Phospholipase D Is Involved in Neurodegeneration in Prion Disease.

PLoS One., April, 2015.

Nagafuchi S, Yamaji T, Kawashima A, Saito Y, Takahashi T, Yamamoto T, Maruyama M, Akatsu H.

Effects of a Formula Containing Two Types of Prebiotics, Bifidogenic Growth Stimulator and Galacto-oligosaccharide, and Fermented Milk Products on Intestinal Microbiota and Antibody Response to Influenza Vaccine in Elderly Patients: A Randomized Controlled Trial.

Pharmaceuticals (Basel)., June, 2015.

Hirano A, Ohara T, Takahashi A, Aoki M, Fuyuno Y, Ashikawa K, Morihara T, Takeda M, Kamino K, Oshima E, Okahisa Y, Shibata N, Arai H, Akatsu H, Ikeda M, Iwata N, Ninomiya T, Monji A, Kitazono T, Kiyohara Y, Kubo M, Kanba S.

A genome-wide association study of late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population.

Psychiatr Genet., June, 2015.

Ishigami, A., Masutomi, H., Handa, S., Maruyama, N.

Age-associated decrease of senescence marker protein-30/gluconolactonase in individual mouse liver cells: Immunohistochemistry and immunofluorescence.

Geriatr Gerontol Int., June, 2015.

Ohta, M., Fujinami, A., Kobayashi, N., Amano, A., Ishigami, A., Tokuda, H., Suzuki, N., Ito, F., Mori, T., Sawada, M., Iwasa, K., Kitawaki, J., Ohnishi, K., Tsujikawa, M., Obayashi, H.

Two chalcones, 4-hydroxyderricin and xanthoangelol, stimulate GLUT4-dependent glucose uptake through the LKB1/AMP-activated protein kinase signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes.

Nutr Res., July, 2015.

Mizukami K, Akatsu H, Abrahamson EE, Mi Z, Ikonovic MD.
Immunohistochemical analysis of hippocampal butyrylcholinesterase:
Implications for regional vulnerability in Alzheimer's disease.
Neuropathology, August, 2015.

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^{Ink4a} pathway provokes an aging-associated
decline of submandibular gland function.
Aging Cell, 14(4), 616-624, August, 2015.

Takayama T, Mochizuki T, Todoroki K, Min JZ, Mizuno H, Inoue K, Akatsu H,
Noge I, Toyo'oka T.
A novel approach for LC-MS/MS-based chiral metabolomics fingerprinting and
chiral metabolomics extraction using a pair of enantiomers of chiral derivatization
reagents.
Anal Chim Acta., October, 2015.

Manabe T, Mizukami K, Akatsu H, Teramoto S, Yamaoka K, Nakamura S,
Ohkubo T, Kudo K, Hizawa N.
Influence of pneumonia complications on the prognosis of patients with
autopsy-confirmed Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and
vascular dementia.
Psychogeriatrics., October, 2015.

Ishigami, A., Masutomi, H., Handa, S., Nakamura, M., Nakaya, S., Uchida, Y.,
Saito, Y., Murayama, S., Jang, B., Jeon, Y.C., Choi, E.K., Kim, Y.S., Kasahara, Y.,
Maruyama, N., Toda, T.
Mass spectrometric identification of citrullination sites and immunohistochemical
detection of citrullinated glial fibrillary acidic protein in Alzheimer's disease brains.
J Neurosci Res., November, 2015.

Kodama, Y., Kishimoto, Y., Muramatsu, Y., Tatebe, J., Yamamoto, Y., Hirota, N.,
Itoigawa, Y., Atsuta, R., Koike, K., Sato, T., Aizawa, K., Takahashi, K., Morita, T.,
Homma, S., Seyama, K., Ishigami, A.
Antioxidant nutrients in plasma of Japanese patients with chronic obstructive
pulmonary disease (COPD), asthma-COPD overlap syndrome, and bronchial
asthma.
Clin Respir J., December, 2015.

Seibyl J, Catafau AM, Barthel H, Ishii K, Rowe CC, Leverenz JB, Ghetti B,

Ironside JW, Takao M, Akatsu H, Murayama S.
Bullich S, Mueller A, Koglin N, Schulz-Schaeffer WJ, Hoffmann A, Sabbagh M, Stephens AW, Sabri O. Impact of training method on the robustness of the visual assessment of 18F-florbetaben PET scans: results from a Phase 3 trial.
J Nucl Med., January, 2016.

Ochiishi T, Itakura A, Liu L, Akatsu H, Kohno H, Nishimura M, Yoshimune K.
Immunohistochemical detection of the delayed formation of nonfibrillar large amyloid- β aggregates.
Genes Cells., January, 2016.

Tsuchiya Y, Naito T, Tenno M, Maruyama M, Koseki H, Taniuchi I, Naoe Y.
ThPOK represses CXXC5, which induces methylation of histone H3 lysine 9 in Cd40lg promoter by association with SUV39H1: implications in repression of CD40L expression in CD8+ cytotoxic T cells.
J Leukoc Biol 2016, February, 2016.

Manabe T, Mizukami K, Akatsu H, Hashizume Y, Teramoto S, Nakamura S, Kudo K, Hizawa N.
Prognostic factors of dementia with Lewy bodies complicated with pneumonia: An autopsy study.
Internal Medicine, February, 2016.

Takahashi, K., Takisawa, S., Shimokado, K., Kono, N., Arai, H., Ishigami, A.
Age-related changes of vitamin E: α -tocopherol levels in plasma and various tissues of mice and hepatic α -tocopherol transfer protein.
Eur J Nutr., February, 2016.

Omata Y, Tharasegaran S, Lim YM, Yamasaki Y, Ishigaki Y, Tatsuno T, Maruyama M, Tsuda L.
Expression of amyloid- β in mouse cochlear hair cells causes an early-onset auditory defect in high-frequency sound perception.
Ageing (Albany NY), March, 2016.

Kametani F, Obi T, Shishido T, Akatsu H, Murayama S, Saito Y, Yoshida M, Hasegawa M.
Mass spectrometric analysis of accumulated TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis brains.
Sci Rep., March, 2016.

Kondo, Y., Ishigami, A.
Involvement of senescence marker protein-30 in glucose metabolism disorder and non-alcoholic fatty liver disease.

Geriatr Gerontol Int., March, 2016.

Takahashi, R., Ishigami, A., Kobayashi, Y., Nagata, K.
Skewing of peritoneal resident macrophages toward M1-like is involved in enhancement of inflammatory responses induced by secondary necrotic neutrophils in aged mice.

Cell Immunol., March, 2016.

Uhm, Kyung-Ok; Kim, Mi-Jeong; Kawaguchi, Makoto; Akatsu, Hiroyasu; Miura, Yutaka; Misumi, Sachiyo; Hida, Hideki; Choi, Eun-Kyoung; Kim, Yong-Sun; Michikawa, Makoto; Jung, Cha-Gyun.

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

JOURNAL OF ALZHEIMERS DISEASE, 2015.

2. 総説

松田剛典、丸山光生

The 2015 Ageing Summit を終えて.

基礎老化研究, 2015.

杉本昌隆

組織修復過程における細胞老化の役割.

実験医学, Vol. 33 No. 8: 1284-1285, 2015.

三河隆太、杉本昌隆

がん抑制タンパク質 p53 による新たな細胞死誘導機構.

実験医学, Vol. 33 No. 14: 2255-2257, 2015.

堀内稔子、山田潤

N-アセチルシステイン点眼によるアレルギー性結膜炎抑制効果.

明治国際医療大学誌, 2015.

3. 著書、Chapters

岩下雄二、杉本昌隆、丸山光生 (共著日本語訳)、Roger B. McDonald 著、近藤祥司 監訳

老化生物学 老いと寿命のメカニズム.

メディカル・サイエンス・インターナショナル, 83-120, 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

丸山光生

役に立つ老化の基礎研究～日本の高齢者は優等生～

大同YOU・YOU会, 2015年5月14日, 名古屋市

Maruyama M

Molecular Research for the Mechanism of Immunological Aging with Zizimin Gene Family

The 1st NCGG-ICAH Symposium, 2015年6月2日, 大府市

丸山光生

老化のメカニズムの解明に向けて

キリン株式会社講演会, 2015年7月10日, 横浜市

Maruyama M

Immunity and Aging

Nanyang Technological University, October 26, 2015, Singapore

山脇敬博, 山田潤, 伊藤瑛子, 羽室淳爾, 外園千恵

加齢黄斑変性における炎症増悪と、RPE の機能変性

第8回網膜シンポジウム RRM (Retina research meeting), 2015年11月5日, 千代田区

2. 国際学会発表

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

Dysregulation of the Bmi-1/p16^{Ink4a} pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function.

EMBO Workshop, Developmental Circuits in Aging, May 26, 2015, Greece, Crete

Miyazaki T, Nakagawa H, Kobatake E, Maruyama M, Kawasaki Y.

Identification and analysis of critical genes to regulate life span and senescence.

Gordon Research Conference, July 22, 2015, Sunday River, USA

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

Immunosenescence-related gene Zizimin2 is implicated in Early BM B Cell

development and splenic marginal zone B cell localization.
Gordon Research Conference, July 23, 2015, Sunday River, USA

Miyazaki T, Nakagawa H, Kobatake E, Maruyama M, Kawasaki Y.
Identification and analysis of critical genes to regulate life span and senescence.
Gordon Research Conference, July 23, 2015, Sunday River, USA

Matsuda T, Takaoka A, Maruyama M
Immunosenescence-Associated Gene Murine Zizimin2 and Zizimin3 are
Involved in B1a Cell Development in Peritoneal Cavity.
A Satellite Symposium of the 4th European Congress of Immunology
(Immunosenescence – Hot Topics & Interventions), September 6, 2015, Vienna,
Austria

Akatsu H, Tomioka M, Kanematsu T, Toda Y, Yamagata H, Yamamoto S, Ohara H,
Ikeuchi T, Kuwano R, Hashizume Y, Ueda K
AUTOPSY CONFIRMED ALZHEIMER'S DISEASE, ESPECIALLY EARLIER
ONSET AND APOLIPOPROTEIN E4 NEGATIVE MALE HAS THE VARIANT IN
THE ATP-BINDING CASSETTE TRANSPORTER (ABCA7).
The 10th IAGG Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology and Geriatrics
2015, October 19, 2015, Chiang Mai

Arai S, Iwabuchi N, Matsuda T, Xiao J, Abe F, Hachimura S, Maruyama M
Effects of oral administration of heat-killed Lactobacillus on mucosal immunity of
mice with aging.
The 10th IAGG Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology and Geriatrics
2015, October 19, 2015, Chiang Mai

Maruyama M, Matsuda T, Miyazaki T, Takaoka A
PHYSIOLOGICAL PUTATIVE ROLE OF IMMUNOSENESCENCE-
ASSOCIATED GENE ZIZIMIN2 AND ITS FAMILY.
The 10th IAGG Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology and Geriatrics
2015, October 20, 2015, Chiang Mai

Iwashita Y, Ishizawa K, Sugimoto M, Maruyama M
THE TRANSCRIPTOME PROFILES OF LONG NON-CODING RNAs IN TWO
DIFFERENT TYPES OF CELLULAR SENESCENCE.
International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG) ASIA/OCEANIA
2015, October 20, 2015, Chiang Mai

Miyazaki T, Nakagawa H, Kobatake E, Maruyama M
IDENTIFICATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS FOR CRITICAL GENES TO
REGULATE LIFE SPAN AND SENESCENCE.

International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG) ASIA/OCEANIA
2015, October 20, 2015, Chiang Mai

Sugimoto M.

Ablation of ARF-expressing cells ameliorates aging-associated pulmonary hypofunction.

Biology of Ageing, October 23, 2015, Singapore

Iwashita Y, Ishizawa K, Sugimoto M, Maruyama M

THE TRANSCRIPTOME PROFILES OF LONG NON-CODING RNAs IN TWO DIFFERENT TYPES OF CELLULAR SENESENCE.

Biology of Aging Scientific Conference, October 24, 2015, Singapore

Matsuda T, Takaoka A, Maruyama M

Deduced Physiological function of Immunosenescence-associated gene Zizmin2 and its family.

Biology of Aging Scientific Conference, October 24, 2015, Singapore

3. 国内学会発表

山脇敬博、飛田直美、向 敦史、山田 潤、羽室淳爾、木下 茂

加齢黄斑変性の病態に関する炎症増悪回路の抑制法の開発

第 119 回日本眼科学会総会, 2015 年 4 月 17 日, 札幌

岩下 雄二、石澤 和也、杉本 昌隆、丸山 光生

二種類の細胞老化における長鎖非コード RNA のトランスクリプトーム解析

第 38 回日本基礎老化学会年会, 2015 年 6 月 13 日, 横浜

石澤和也、岩下雄二、松田剛典、杉本昌隆、丸山光生

細胞老化関連遺伝子 TARSH/Abi3bp のプロモーター領域の解析

第 38 回日本基礎老化学会年会, 2015 年 6 月 13 日, 横浜

石澤和也、岩下雄二、松田剛典、杉本昌隆、丸山光生

細胞老化関連遺伝子 マウス TARSH/Abi3bp のプロモーター領域の解析

第 38 回日本基礎老化学会大会, 2015 年 6 月 13 日, 横浜

山越貴水、片野 諭、飯田万由、木村広美、大熊敦史、池本-上住 円、大谷直子、原 英二、丸山光生

加齢に伴う顎下腺機能低下は Bmi-1/p16^{lnk4a} 経路の破綻によって生じる

第 38 回日本基礎老化学会大会, 2015 年 6 月 14 日, 横浜

松田剛典、築瀬正伍、丸山光生

免疫老化関連遺伝子 Zizimin2 は辺縁帯 B 細胞の形成に関する

第 38 回日本基礎老化学会大会, 2015 年 6 月 14 日, 横浜

鄒 岑、松田剛典、岩下雄二、杉本昌隆、丸山光生
マウス免疫老化関連遺伝子 Zizimin2 のプロモーター領域における機能解析
第 38 回日本基礎老化学会大会, 2015 年 6 月 14 日, 横浜

松田亜沙実、勝見章、天野睦紀、永田泰之、大西一功、清井仁、直江知樹
血球特異的 Rho ファミリー蛋白 RhoH は T cell activation GTPase activating protein (TAGAP) を介して Rac を不活性化する
第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 10 日, 名古屋市

松田亜沙実、勝見章、天野睦紀、永田泰之、小野孝明、大西一功、丸山光生、貝淵弘三、清井 仁、直江知樹
血球特異的な Rho ファミリー蛋白 RhoH による Rac の不活性化機構は T 細胞活性化 GAP (TAGAP) を介する
第 77 回日本血液学会学術集会, 2015 年 10 月 17 日, 金沢市

Takenori Matsuda, Akinori Takaoka, Mitsuo Maruyama
Murine Zizimin2 and Zizimin3 are Involved in B1 Cell Development in Peritoneum Cavity.
第 44 回日本免疫学会, 2015 年 11 月 20 日, 札幌市

石澤和也、岩下雄二、松田剛典、杉本昌隆、丸山光生
細胞老化関連遺伝子 マウス TARSH/Abi3bp のプロモーター領域の解析
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12 月 1 日, 神戸

鄒 岑、松田剛典、岩下雄二、杉本昌隆、丸山光生
マウス免疫老化関連遺伝子 Zizimin2 のプロモーター領域における機能解析
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12 月 1 日, 神戸

岩下雄二、石澤和也、杉本昌隆、丸山光生
二種類の細胞老化における長鎖非コード RNA のトランスクリプトーム解析
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12 月 2 日, 神戸

龍 訥、丸山光生、南山誠、丸山和佳子、本山昇
The depletion of FOXO3 transcription factor promotes neuronal phenotype of α -synuclein Lewy Body models.
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12 月 2 日, 神戸

石澤和也、岩下雄二、松田 剛典、杉本 昌隆、丸山 光生

細胞老化関連遺伝子 マウス TARSH/Abi3bp のプロモーター領域の解析
第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 2 日, 神戸

丸山光生
老化の分子メカニズムと関連する老年疾患
BMB2015 ワークショップ, 2015 年 12 月 2 日, 神戸

松田亜沙実、勝見章、天野陸紀、永田泰之、小野孝明、丸山光生、清井仁、直江知樹
血球特異的 Rho ファミリー蛋白 RhoH は T cell activation GTPase activating protein (TAGAP)を介して Rac を不活性化する
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12 月 3 日, 神戸

杉本昌隆
Pathophysiological roles of cellular senescence in pulmonary aging.
BMB2015 ワークショップ, 2015 年 12 月 2 日, 神戸

岩下雄二、杉本昌隆、丸山光生
THE TRANSCRIPTOME PROFILES OF LONG NON-CODING RNAS IN TWO DIFFERENT TYPES OF CELLULAR SENESCENCE.
第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート, 2016 年 2 月 12 日, 大府市

Matsuda T, Maruyama M
Murine Zizimin2 and Zizimin3 promote peritoneal cavity B-1b cell number and maintain pneumococcal polysaccharide-specific antibody titer in a later phase.
第 8 回名古屋グローバルリトリート, 2016 年 2 月 12 日, 大府市

山田潤, 戸田宗豊, 上野盛夫, 篠宮克彦, 外園千恵, 木下茂, 羽室淳爾
マウスを用いたヒト培養内皮細胞の接着に関する基剤の検討.
第40回日本角膜学会総会・第29回日本角膜移植学会, 2016年2月19日, 長野

中山知倫, 山田潤, 篠宮克彦, 外園千恵, 木下茂, 羽室淳爾
アロ角膜内皮細胞移植マウスモデルにおける免疫寛容誘導条件の検討.
第 40 回日本角膜学会総会・第 29 回日本角膜移植学会, 2016 年 2 月 20 日, 長野

4. その他、セミナー等

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」, 2015 年 5 月 22 日, 名古屋市

Sugimoto M
Role of cellular senescence in lung aging.

日本基礎老化学会第 38 回大会 日韓合同シンポジウム, 2015 年 6 月 13 日,
横浜市

丸山光生

免疫系の加齢変化における牛乳摂取効果に関する研究

平成 26 年度「牛乳乳製品健康科学」学術研究報告会, 2015 年 6 月 28 日,
東京都

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27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, 2015年7月4日,
名古屋市

新井 聡

腸内細菌と疾患

AD サロン, 2015 年 7 月 24 日, 大府市

Matsuda T, Maruyama M

Immunosenescence-related gene Zizimin2 (Dock11) and its family. Seminars in
Genetics (CECAD Research Center, Institute for Genetics, Cologne University),
Cologne, September 2, 2015, Germany.

丸山光生

免疫系の老化

中部大学 老化基礎医科学 第 9・10 時限, 2015 年 10 月 1 日, 春日井市

丸山光生

栄養、代謝と老化

中部大学 老化基礎医科学 第 9・10 時限, 2015 年 10 月 7 日, 春日井市

Maruyama M

Immunosenescence-related gene Zizimin2 (Dock 11) and its family.
Nanyang Technological University, October 26, 2015, Singapore.

丸山光生

癌と老化

中部大学 老化基礎医科学 第 9・10 時限, 2015 年 11 月 5 日, 春日井市

丸山光生

老化機構の解明に向けた挑戦

エイジングメタボリズム研究会, 2015 年 11 月 6 日, 京都市

丸山光生
健康長寿を目指した基礎老化研究の取り組みについて
不二製油株式会社, 2015年11月13日, つくばみらい市

丸山光生
生体防御論
至学館大学 健康科学部栄養学科3年講義, 2015年11月17日, 大府市

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11月18日, 石狩

岩下雄二
二種類の細胞老化における長鎖非コードRNAのトランスクリプトーム解析
ADサロン, 2015年11月27日, 大府市

山田 潤
角膜の免疫を身近で楽しむための基本情報
参天製薬研修会, 2016年2月24日, 京都市

丸山光生
実験動物を用いた基礎老化研究への取り組み
東海実験動物研究会例会, 2016年3月19日, 名古屋市

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構
なし

2. 厚生労働省
なし

3. 文部科学省
松田剛典（代表）351万円（総額351万円）
若手B 研究経費
Zizimin ファミリー遺伝子を介した免疫老化機構の解明

岩下雄二（代表）403万円（総額403万円）
若手B 研究経費
脂肪組織の老化に特異的な lncRNA の同定と発現制御による糖尿病態からの回復

4. 財団、その他

丸山光生（代表）36.5万円（総額36.5万円）

北海道大学遺伝子病制御研究所一般共同研究 研究経費
感染に対する老化関連遺伝子の自然免疫系における機能の解析

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

山越貴水,（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
口腔乾燥症（ドライマウス）モデルマウスを利用した加齢依存性ドライマウスの
原因解明

杉本昌隆（代表）50万円（総額50万円）

愛知健康増進財団
加齢による慢性呼吸器疾患発症機序の解明

杉本昌隆（代表）250万円（総額600万円）

長寿科学振興財団
呼吸器の加齢性変化と疾患機序の解明

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

久保田章乃

実験補助員

周妍

加藤晶子

金森久美子

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

要約；査読付き学術論文 4 報。

前年度に行ったセットアップもほぼ終了し、通常に研究活動ができるようになった。また、必要な機器は存在するが、一応実験が行えるようになった。また、研究所 4 階の老化制御研究部実験室以外の実験場所として共通実験施設が本研究所には存在する。即ち、放射線実験施設や実験動物施設等である。感染実験室も含めて、種々の申請等の業務をこなし、これら共通実験も滞りなく行えるようになった。

また、機関内共同研究や、機関外共同研究も徐々にはじまった。

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

機関外共同研究としては東京工業大学小林教授との共同研究で、世界的に合成が難しいといわれるプロスタグランジン誘導体の合成を行っていたき、その解析を行っている。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 27 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認知症治療に関するデリバリー担体

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、久保田章乃、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- γ に結合して、転写を制御すると考えられている。PPAR- γ 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- γ 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- γ 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- γ 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、加藤晶子、金森久美子

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として、昨年度作成した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を利用して、BBB 通過モチーフのスクリーニングを行った。また、アルツハイマー病に対する経口ワクチン担体作成のため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

アルツハイマー病に対する免疫療法の治療効果改善のため、2 種のアプローチを行っている。一つは、抗 A β 抗体等の能動免疫療法の際に問題となる血液脳関門 (BBB) 透過性について、その向上を目指した BBB 通過モチーフスクリーニングの開発研究、もう一つは A β 等の能動免疫療法において、腸管への効率な抗原提示を目指した腸管ウイルスベクター開発の基盤研究である。

結果

昨年度作成した In vitro BBB モデル

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を利用して、BBB 通過モチーフのスクリーニングを行った。近年の研究によりトランスフェリン受容体 (TfR) に対する抗体は BBB を効率的に通過できることが知られているため、組換え TfR に結合できるペプチドモチーフから BBB 通過モチーフのスクリーニングを行うアプローチを採用した。新規ペプチドライブラリーより組換え TfR に結合するモチーフをスクリーニングし、次世代シーケンスにより約 20 種の結合モチーフを単離した（日本分子生物学会発表）。現在はこれらモチーフの透過性を in vitro BBB 系で検討中である。

腸管ウイルスの一種であるアスト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。アストロウイルスベクター作成の為にアストロウイルスを細胞内に強制的に発現させる実験システムを構築した。（論文発表）。

研究業績（老化制御研究部）

I 論文発表

1. 原著

Chapellier B, Tange S, Tasaki H, Yoshida K, Zhou Y, Sakon N, Katayama K, Nakanishi A.

Examination of a plasmid-based reverse genetics system for human astrovirus.

Microbiol Immunol 59(19):588-596, 2015.

Umeda M, Hiramoto M, Watanabe A, Tsunoda N, & Imai T*.

Arginine-induced insulin secretion in endoplasmic reticulum.

Biochem Biophys Res Commun 466(4):717-722, 2015.

IF=2.297

Umeda M, Hiramoto M & Imai T*.

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

Clinical and Experimental Gastroenterology 2015 (8):175-182, 2015.

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

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

取得特許

新たに同定したインスリン分泌制御因子を用いた抗糖尿病薬剤のスクリーニング法

発明人：今井剛、半田宏

出願人：国立大学法人東京工業大学

出願番号：特願 2010-196952

開示日：2010年11月1日

出願日：平成23年9月2日

出願番号：特願2012-531980

登録日：平成28年2月12日

特許番号：特許第5881065号

PCT 出願番号：PCT/JP2011/070067

国際公開番号：WO2012/029958

米国にて特許成立 2015年5月12日

特許登録第9109043号(H27.8.18)

欧州（英・独）審査中

出願特許

発明者：芳賀 慧、藤本 陽、戸高玲子、片山和彦、中西 章、三木元博、関根盛、大塚浩史、三森重孝

発明の名称：ノロウイルスが増殖可能な遺伝子組換え細胞、及び、その用途

出願年月日 国内出願：2016年2月3日

出願番号：特願 2016-019315(国内)

出願人：芳賀 慧、藤本 陽、戸高玲子、片山和彦、中西 章、デンカ株式会社

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

吉田和央、戸高玲子、片山和彦、中西 章

Role of minor capsid protein VP2 during murine norovirus life cycle.

第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 2015 年 11 月 22 日, 福岡

戸高玲子、村上耕介、朴英斌、吉田和央、中西章、片山和彦

細胞内ノロウイルス複製モニタリングシステムの構築

第 38 回日本分子生物学会, 2014 年 12 月 5 日, 神戸

吉田和央、周妍、中西 章

血液脳関門透過モチーフのスクリーニングに関する研究戸高玲子、村上耕介、

第 38 回日本分子生物学会, 2014 年 12 月 5 日, 神戸

4. その他、セミナー等

中西 章

血液脳関門の薬剤通過メカニズムとその実験的評価法

技術情報協会主催, 2015 年 11 月 13 日, 東京

III 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

中西 章 (分担) 140 万円

日本医療研究開発機構 感染症実用化事業 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

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）300 万円

日本医療研究開発機構 感染症実用化事業 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

中西 章（分担）120 万円

日本学術振興会 基盤研究（B）

ヒトノロウイルス感受性細胞の樹立とレセプターの探索

3. 財団、その他

今井 剛（分担 200 万円、総額 500 万円）

科学技術振興機構 戦略的国際科学技術協力推進事業 「日本-ブラジル研究交流」
肥満・糖尿病モデル動物におけるプロポリス由来機能性化合物の有効性検証

中西 章（代表）450 万円（総額 450 万円）

長寿医療研究開発費.

認知症治療用薬剤の血液脳関門通過促進を目的とした基盤研究（25-17）

統合加齢神経科学研究部

(1) 構成員

部長 田口明子

室長

生理学研究室 徳永暁憲

神経内分泌学研究室 多田敬典

流動研究員

山本耕裕 (~H28.1.31)

研究補助員・事務補助員

柏田舞波

原恵子

山本桂子

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

本研究部では、認知症、特に孤発性のアルツハイマー型認知症(病)のリスク要因として近年注目される糖尿病が、認知機能障害を誘導する分子機序を明らかにすることを介して、認知症発症の根本的な分子機序に迫ることを目的として研究を行っている。

糖尿病は認知機能障害を誘導し、認知症の発症を促進する重要な危険因子であることが、我が国の久山町研究をはじめとする大規模な臨床研究および疾患モデル動物を用いた解析から明らかにされ、認知機能障害は中枢神経系特異的な異常に由来するだけでなく、老化や糖尿病と言った身体全体の変化の一部として捉えることが必要になってきている。また、従来の

孤発性のアルツハイマー病研究は疾患発症後を対象にアミロイド β やタウの変化を指標として進められてきたが、未だアルツハイマー病の根本的な治療薬は存在しない。臨床前段階アルツハイマー病および軽度認知機能障害(MCI)と言った前認知症は生活習慣の改善により病態の改善が可能であるが、認知症発症後の病態治癒は困難であることから、前認知症を研究対象とし、経時的変化を明らかにすることが認知症発症の分子機序を理解する早道となり、認知症の早期診断を可能性にするバイオマーカーの同定及び予防法の開発へと繋がる可能性が考えられる。

本研究部では、前認知症の潜在的モデル動物として生理的糖尿病モデルマウスの利用を確立し、当該モデルマウスが呈する認知機能障害が体系的な変化に起因することを明らかにした。さらに前認知症のバイオマーカー候補であり、認知機能障害を導く糖尿病関連血中因子の探索を行い、複数の候補分泌因子を単離した。単離血中因子が認知機能に与える影響を査定するため、糖代謝調節経路であるインスリン様シグナルの脳における変化を重要な指標の1つとして解析を行い、興味深い結果を得た。

部長研究グループ（生理学研究室・神経内分泌学研究室）：
徳永暁憲、多田敬典、山本耕裕、柏田舞波、田口明子

糖尿病に伴う認知機能障害誘導機構の解明

研究環境：

本研究部は、平成 27 年 1 月に国立長寿医療研究センターに新しく発足したが、センター内における研究部のスペースは同年 5 月に決定され、さらに 6~8 月の実験室内の工事を経て、研究部のセットアップが開始された。その後、同年 9 月に生理学研究室長が赴任し、平成 28 年 1 月に神経内分泌学室長が着任した。これらの経緯から、本年度前半はセンター内で実験を本格的に行うことが難しい状況にあったため、部長の前所属であり兼任する宮崎大学医学部で主に実験を行った。

研究内容：

インスリン様シグナルは糖代謝を調節する主要な経路であるが、近年、本研究部を含む複数のグループは、インスリン様シグナルの中樞神経系における低下が寿命の延長や老化の遅延を導き、神経変性疾患モデルマウスの病態を改善することを明らかにしていた。これまでの研究結果を基盤として、さらに本研究部では、前認知症の潜在的モデル動物として、認知障害を呈する生理的糖尿病モデルマウスの利用を確立し、糖尿病による全身の変化が認知機能へ与える影響を解析するための評価系として、評価体系が確立している海馬における変化を指標とした解析・スクリーニング系（a.

海馬依存的行動解析、b. 海馬の神経細胞新生の解析、c. 海馬インスリン様シグナルの解析）を構築した。

生理的糖尿病モデルマウスの基礎解析：解析・スクリーニング系から、

a. 海馬依存的認知機能は明らかに低下することを確認し、b. 海馬の神経細胞新生は顕著に低下することが判った。さらに、c. 海馬インスリン様シグナルは有意に亢進していることを突き止めた。これらの結果から、海馬の神経細胞新生の変動と認知機能の変化には正の相関関係があることが確認されたことに加え、海馬インスリン様シグナルの促進と認知機能の低下は連動し、逆の相関関係が存在することが示唆された。

これらの変化を呈する生理的糖尿病モデルマウスの血中で変化する分泌因子を探索し、複数の血中因子を選定/単離した。単離した血中因子が認知機能へ与える影響を精査するため、血中因子を若齢野生型マウスへ投与し、解析・スクリーニング系について検討した結果、a. 若齢野生型マウスの海馬依存的認知機能と b. 海馬の神経細胞新生は有意に低下し、c. 海馬インスリン様シグナルは顕著に亢進することが判った。

これらの結果から、単離した糖尿病関連分泌因子は、脳インスリン様シグ

ナルの活性化を誘導することを介して認知機能を低下させ、その血中濃度の変化は認知障害発症の指標となることが示唆された。

研究業績（統合加齢神経科学研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Hijiya N, Tsukamoto Y, Nakada C, Tung NL, Kai T, Matsuura K, Shibata K, Inomata M, Uchida T, Tokunaga A, Amada K, Shirao K, Yamada Y, Mori H, Takeuchi I, Seto M, Aoki M, Takekawa M, Moriyama M.

Genomic loss of DUSP4 contributes to the progression of intraepithelial neoplasm of pancreas to invasive carcinoma.

Cancer Res. 76: 2612-2625, 2016.

Kai T, Tsukamoto Y, Hijiya N, Tokunaga A, Nakada C, Uchida T, Daa T, Iha H, Takahashi M, Nomura T, Sato F, Mimata H, Ikawa M, Seto M, Matsuura K, Moriyama M.

Kidney-specific knockout of Sav1 in the mouse promotes hyper-proliferation of renal tubular epithelium through suppression of the Hippo pathway.

J Pathol. 239(1):97-108, 2016.

Matsumoto T, Fujimori K, Andoh-Noda T, Ando T, Kuzumaki N, Toyoshima M, Tada H, Imaizumi K, Ishikawa M, Yamaguchi R, Isoda M, Zhou Z, Sato S, Kobayashi T, Ohtaka M, Nishimura K, Kurosawa H, Yoshikawa T, Takahashi T, Nakanishi M, Ohyama M, Hattori N, Akamatsu W, Okano H.

Functional Neurons Generated from T Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells for Neurological Disease Modeling.

Stem Cell Reports. 8;6(3):422-35, 2016.

Jitsuki S, Nakajima W, Takemoto K, Sano A, Tada H, Takahashi-Jitsuki A, Takahashi T.

Nogo Receptor Signaling Restricts Adult Neural Plasticity by Limiting Synaptic AMPA Receptor Delivery.

Cerebral cortex. 26(1):427-39, 2016.

Takahashi M, Tsukamoto Y, Kai T, Tokunaga A, Nakada C, Hijiya N, Uchida T, Daa T, Nomura T, Sato F, Mimata H, Matsuura K, Moriyama M.

Downregulation of WDR20 due to loss of 14q is involved in the malignant transformation of clear cell renal cell carcinoma.

Cancer Sci.107(4):417-23, 2016.

Tokunaga A, Anai H, Hanada K.

Mechanisms of gene targeting in higher eukaryotes.

Cell Mol Life Sci. 73(3):523-33, 2016.

Tada H, Koide M, Ara W, Shibata Y, Funabashi T, Suyama K, Goto T, Takahashi T.

Estrous Cycle-Dependent Phasic Changes in the Stoichiometry of Hippocampal Synaptic AMPA Receptors in Rats.

PLoS one. 10(6):e0131359, 2015.

2. 総説

多田敬典、高橋琢哉

ストレスと認知機能.

生体の科学 67(1) 47-50, 2016.

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

田口明子

脳インスリン様シグナルと認知機能障害

第 88 回日本内分泌学会学術総会, 2015 年 4 月 24 日, 東京

田口明子

糖尿病と認知症、特にインスリンの功罪について

第 3 回郡山糖尿病と血管障害研究会, 2015 年 6 月 17 日, 郡山市

田口明子

インスリンシグナルをインターフェイスにした糖尿病、老化、認知症の新たな相関

日本老年医学会, 第 9 回老年医学サマーセミナー, 2015 年 7 月 30 日, 軽井沢

田口明子

認知機能調節における脳インスリン様シグナルの役割

第 14 回関西・中部認知症研究会, 2016 年 3 月 5 日, 名古屋

Akiko Taguchi

Inductive mechanism of cognitive impairment through neural insulin-like Signaling

— How does glucose metabolism disorders affect cognitive function? —
The 11th International Symposium on Geriatrics and Gerontology,
Feb 6 2016, Obu, Japan

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

田口明子, 牧ノ段学, Gabriel Corfas, Morris White

代謝調節シグナルを介した成体脳海馬神経細胞新生・認知機能調節機構
第 11 回成体脳のニューロン新生懇談会, 2015 年 11 月 14 日, 名古屋

徳永暁憲、川上絵理、濱田文彦、田口明子、吉田進昭

ヒストン脱メチル化酵素 Fbxl11 による神経分化制御機構の解析

第 11 回成体脳のニューロン新生懇談会, 2015 年 11 月 14 日, 名古屋

山本耕裕、福岡屋航、川邊健士朗、倉田栄子、田口明子

糖尿病は海馬インスリンシグナルを介して成体海馬の神経細胞新生・認知機能を低下させる

第11回成体脳のニューロン新生懇談会, 2015年11月14日, 名古屋

徳永暁憲、福岡屋航、川邊健士朗、倉田栄子、山本耕裕、田口明子

糖尿病における認知機能障害と海馬インスリンシグナルの関連

第30回日本糖尿病合併症学会, 2015年11月28日, 名古屋

Hirobumi Tada, Akinori Tokunaga, Wataru Fukuokaya, Eiko Kurata,

Akiko Taguchi

Hippocampal insulin-like-signaling induces impairment of cognitive function and adult neurogenesis in diabetic model mice.

第8回 NAGOYA グローバルリトリート, 2016年2月12日, 大府市

徳永暁憲、福岡屋航、川邊健士朗、倉田栄子、山本耕裕、田口明子

海馬インスリン様シグナルを介した糖尿病随伴認知機能障害の発症機序の解明

第30回日本糖尿病・肥満動物学会, 2016年3月11日, 大宮

4. その他、セミナー等

なし

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

なし

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

田口明子 (代表) 430万円 (総額 1,290万円)

文部科学省科研費 基盤研究 (B)

慢性の高脂肪食摂取による学習記憶障害誘導経路の同定と解析

田口明子（代表） 170 万円（総額 280 万円）

文部科学省科研費 挑戦的萌芽研究
体系的認知機能調節機構の解明

徳永暁憲（代表） 160 万円（総額 390 万円）

文部科学省科研費 基盤研究（C）
神経系における NMD 依存的 RNA 分解機構の生理的意義

徳永暁憲（分担） 10 万円

文部科学省科研費 基盤研究（C）
アデノウィルスベクター及び CRISPR を用いた受精卵遺伝子組換えの効率化

多田敬典（代表） 170 万円（総額 290 万円）

文部科学省科研費 挑戦的萌芽研究
成熟期社会性獲得に影響をおよぼす若年期優劣性交互関係の神経ネットワーク
メカニズム

多田敬典（分担） 5 万円

文部科学省科研費 基盤研究（B）
社会的隔離動物の脳皮質回路形成の解析

4. 財団、その他

なし

共同利用推進室

(1) 構成員

室長 渡邊 淳

客員研究員

脇田 英明

外来研究員

吉田 裕孝

研究補助員

松崎 三記子

(2) 平成27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。

本年度は既に導入されている次世代シーケンサー(MiSeq)、分子間相互作用解析装置 Proteon の共用機器の講習会を再度行った。また、ゲノム編集ツール、細胞の動きを非染色/非侵襲で定量評価するライブセルイメージングシステム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、バイオバンクから提供して頂いたアルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿タンパク質の網羅的解析及び ApoE の解析を行った。

血漿タンパク質の網羅的解析：アルツハイマー病 (AD) 患者 20 例、認知機能正常 (Normal) 20 例の血漿を当

センターのバイオバンクから提供して頂き解析を行った。検体は男女比、年齢層を出来るだけ合わせた症例を用いた。また、AD の危険因子 ApoE4 も偏りが無い検体で解析を行った。

血漿 40 μ l をリン酸バッファーで 5 倍に希釈し、0.22 μ m のスピンフィルターを用いて、16,000 x g で 2 分間遠心し、夾雑物を除去した。得られたサンプルは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。各画分の質量分析によって得られたデータは Proteome discoverer で mascot 検索を行い、同定されたタンパク質は Scaffold ソフトウェアを用い、スコアをもとにタンパク質のリストを作成した。その結果、各血漿をアフィニティーカラムで分離を行うことによって、微量タンパク質の同定を行う際の大きな妨げとなっていたアルブミン等の主要なタンパク質を除け、よりマイナーなタンパク質を同定することが可能となった。しかしながら、一部の Haptoglobin や Keratin に違いが見られたものの、上

位にリストアップされたタンパク質のほとんどは血漿由来のタンパク質であり、大きな違いは見られなかった。現在、さらに下位にリストアップされたタンパク質について違いがないか解析している。

アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の ApoE の解析：各血漿を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、素通り画分と吸着した画分に分離した。その後、各検体の素通り画分と吸着した画分の各々1ug を SDS-電気泳動を行い、抗 ApoE 抗体を用いたウエスタンブロットを行った。ApoE 抗体はアフィニティーカラムには固定化されていないので、本来ならば素通り画分に回収される。実際、素通り画分では AD 検体、認知機能正常検体ともに約 35kDa に ApoE の強い反応性を示すバンドが確認できた。これらは ApoE のアイソフォームに関係はなかった。一方で、素通り画分ほど量は多くないが、アフィニティーカラムに吸着した画分に AD 検体、認知機能正常検体ともに約 35kDa に ApoE の反応性を示すバンドが確認でき、AD 検体の方が強い反応性が見られた。更に興味深いのは ApoE4 を持つ検体はすべて、約 35kDa のバンドに加えて、約 50kD にブロードなバンド、更には高分子領域までスメアを呈したことである。これらも AD 検体の方が強い反応性を呈した。ApoE4 保有者は認知機能正常の段階からこの

ような変化がみられ、AD を発症すると更にその変化が大きくなることが推測された。これらのことから、各血漿のアフィニティーカラムに吸着した画分及び素通り画分に回収される ApoE の違いを更に解析することで、アルツハイマー病の早期診断ができないか、さらには、患者の重篤度の評価に利用できないか検討している。

研究業績（共同利用推進室）

I. 論文発表

1. 原著

Umeda M, Hiramoto M, Watanabe A, Tsunoda N, Imai T.
Arginine-induced insulin secretion in endoplasmic reticulum.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 466, 717-722, 2015.

Hiramoto M, Udagawa H. Watanabe A, Miyazawa K, Ishibashi N, Kawaguchi M,
Uebanso T, Nishimura W, Nammo T, Yasuda K.
Allele comparative analysis of type 2 diabetes-associated SNPs identifies
allele-specific DNA-binding proteins for the *KCNQ1* locus.
Int. J. MOL. MED., 36, 222-230, 2015.

2. 総説

該当なし

3. 著書、Chapters

該当なし

4. その他

該当なし

5. 新聞・報道, 等

該当なし

6. 特許申請、取得状況

該当なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

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.

アルツハイマー病患者の血漿を用いたプロテオーム解析
第34回日本認知症学会学術集会, 2015年 10月, 青森

吉田裕孝

タウの細胞外放出に影響するタウ分子内領域の解析
第 34 回日本認知症学会学術集会, 2015 年 10 月, 青森

4. その他、セミナー等

該当なし

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

該当なし

2. 厚生労働省

該当なし

3. 文部科学省

吉田裕孝（主任） 120 万円
科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究

4. 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

流動・研究開発研究員

六車 香織

研究補助員

高野 聡美

秋山 彩子

(2) 平成 27 年度研究活動の概要

実験動物管理室は、実験動物施設棟のマウスやラット、エイジングファーム動物の飼育等を中心とした施設管理や運営をはじめとして、センター内で実施される動物実験の適正化に向けた指導や助言を行った。

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）、動物実験手技（プラグ確認、交配、気管内投与等）の支援や指導を行った他、動物福祉に配慮したマウス尾静脈採血の実技講習会をはじめて 1 月に開催した。

1) 実験動物施設棟の利用実績

平成 27 年度の実験動物施設棟の利用者はのべ 2,778 人（前年比 6.8%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 123 件（マウス 91 件 1,897 匹、ラット 32 件 273 匹）の動物の搬入があった。一方、動物の搬出についてはマウス 10

件（163 匹）と減少（前年比 9.1%減）した。

3) 実験動物施設棟の環境衛生整備

平成 27 年 1 月から継続していた実験動物施設棟 1 階の動物管理区域のクリーン化が 3 月末で終了し、空調ダクトの構造に問題点（真菌類が発生しやすい）を残しつつも利用者会での同意のもとで 7 月に運用を開始した。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) 技術支援業務

生殖工学に関する技術支援業務として、6 研究部・室から 32 件（前年比 13.5%減）の依頼があった。その内訳は、マウスクリーン化（他研究機関から供与による SPF 化）3 件、配偶子凍結保存 33 件（精子 22 件、胚 5 件、凍結精子融解確認試験 6 件）を行った。

その他、マウスの実験動物手技に関する技術支援（指導含む）3 件（プラグ確認 2 件、交配 1 件、気管内投与 1 件）を行った。

5) 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 48 件（承認 48 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127名(継続者含む)の受講があった。

長寿医療研究のためのモデル動物の開発と環境統御との総合評価に関する研究:

長寿研で育成しているエイジングファーム動物(AF動物)の加齢・老化モデルとしての有用性を検証するとともに、検証を確立する中で自然発症の『フレイル』モデル動物の開発、長期飼育に適切な飼育環境を行うために以下の検討を行った。

1. 行動学的解析(老化度判定、長期活動計測、行動観察、体重測定等)
2. 生理学的解析(テレメトリーシステムによる血圧、体温、心拍数計測等)
3. 形態学的解析(Sirtuinやp53等の加齢・老化遺伝子発現部位や発現量、MRI撮影による観察)
4. 生化学・免疫学的解析(IL等の炎症性サイトカイン、Bifidobacterium、Lactobacillus等の腸内細菌叢)

a) 行動学および生理学的解析

AFマウス(C57BL/6NCrSlc、♂40匹、♀40匹)に床敷材(紙製2種類、木製2種類)を用いて、月齢ごとに運動量(ロータロッド試験)、体重、摂餌量(1日の平均摂餌量)、生存率に

ついて検討を行った。

その結果、運動量は平均体重が大きい床敷き群では運動時間(走行時間)が短い傾向にあった(♂ 57.8 ± 32.2 sec、♀ 77.2 ± 8.6 sec)。雄については、生後6ヶ月齢を越えた頃から運動時間の減少傾向が観察されたが、18ヶ月齢頃(24ヶ月齢まで)からその傾向が停止した。一方、雌については12ヶ月齢を越えてから急激に運動時間が減少したが、15ヶ月齢から停止した。体重との比較から、30gを超える頃から運動時間が急激に減少する傾向が見られた。

体重は、雌雄ともに11ヶ月齢頃から床敷きによる顕著な差が認められはじめて、雄では19ヶ月齢(43-58g)、雌では14-16ヶ月齢(33-41g)でピークになった。26ヶ月齢において雄では、紙製で平均47.5gであったのに対して、その他の床敷材(紙製1種類、木製2種類)は平均40-41gであった。雌では床敷材による顕著な差は認められなかった。また、環境エンリッチメント(バイオトンネル)導入の有無による体重の差は、エンリッチメント導入による体重抑制の傾向はあるものの顕著な差は見られなかった。摂餌量(1日あたり)の雌雄差は認められなかった(♂ 3.5 ± 0.2 g、♀ 3.6 ± 0.3 g)ため、体重測定結果の比較から雌の方が代

謝量が多いことが考えられた。生存率では、床敷材や雌雄により差があることがわかった。さらに、ケージ単位による生存率の差も認められたため、ケージ内飼育匹数が減少することがマウス同士のコミュニケーションとの因果関係があると推察された。

現在のところ、SAM (Senescence Accelerated Mouse; SAM) マウスの老化度判定 (反応性、受動性、毛の光沢や目の状態、外傷等の外観) に使用される老化度スコアを用いて月齢ごとの評価を進めているところである。

b) 形態学的解析 (組織)

8 ヶ月齢および 27 ヶ月齢のマウスを用いて神経筋シナプスとその関連組織に関する形態学的な解析 (蛍光染色) を実施したところ、27 ヶ月齢のマウスに神経シナプスの構造 (脱神経、前シナプスあるいは後シナプスの断片化、軸索の膨潤) が認められた。行動 (運動) 機能解析による運動機能低下と神経筋シナプスの構造異常の相関性が確認できた。

その他、加齢に伴う脳の萎縮や加齢に伴う病変 (神経細胞萎縮や変性)、細胞増殖を検出するための一般染色 (H. E. 染色) をはじめとした抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色の他、関連遺伝子 (例. Sirtuin、Mitoracker、

Merge, p53) 等について、MRI 画像を含めた解析を進めている。

c) 生化学・免疫学的解析

3, 12, 18, 21 ヶ月齢のマウスの腸内細菌叢をリアルタイム PCR により解析した結果、12 ヶ月齢から細菌叢の変化が認められた。

研究業績（実験動物管理室）

I. 論文発表

1. 原著

なし

2. 総説

小木曾昇

研究者と技術者が支える実験動物科学の柱を再考する.

—施設管理の立場から— **実験動物技術**, 50 : 33-38 (2015).

加藤恒雄, 小林英治, 高野聡美, 六車香織, 小木曾昇

動物実験施設内の耐震固定の問題点と対策 : 穴を開けない固定方法の提案.

静岡実験動物研究会会報, 40 : (2015) (印刷中)

加藤恒雄, 小林英治, 高野聡美, 六車香織, 小木曾昇

ラックの耐震固定時に発生予測される残留リスクへの対策

実験動物と環境 47 : (2016) 印刷中

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

なし

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

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

—老化動物育成における適正な飼育環境をめざして—

第 62 回日本実験動物学会総会, 2015 年 5 月 28-30 日, 京都

富田耕平, 小木曾昇, 高野聡美, 山口一路, 六車香織

マウスにおける長期飼育に適した床敷材の検討

第 62 回日本実験動物学会総会, 2015 年 5 月 28-30 日, 京都

小木曾昇, 富田耕平, 山口一路, 高野聡美, 六車香織

加齢・老化モデルマウスを用いた動物福祉に配慮した飼育環境の検討

—床敷材の観点から—

第 49 回日本実験動物技術者協会総会, 2015 年 10 月 9-10 日, 静岡

山口一路, 富田耕平, 高野聡美, 六車香織, 小木曾昇

加齢・老化モデルマウスを用いた動物福祉に配慮した飼育環境の検討

—給水瓶内の生菌数の変化について—

第 49 回日本実験動物技術者協会総会, 2015 年 10 月 9-10 日, 静岡

富田耕平, 小木曾昇, 山口一路, 高野聡美, 六車香織

微酸性次亜塩素酸水を用いた施設内衛生管理方法および消毒効果について

第 49 回日本実験動物技術者協会総会, 2015 年 10 月 9-10 日, 静岡

4. その他、セミナー等

小木曾昇

実験動物飼育の衛生管理における光触媒の応用事例について

—長寿医療研究に用いるモデル動物の長期飼育から—

第 62 回日本実験動物学会総会, ランチョンセミナー2015 年 5 月 28-30 日, 京都

小木曾昇

実験動物学入門 —アマからプロへの道のり—

日本実験動物技術者協会実技講習会, 2015年8月1-2日, 豊明

加藤恒雄, 小林英治, 高野聡美, 六車香織, 小木曾昇

動物実験施設内の耐震固定の問題点と対策：穴を開けない固定方法の提案

第45回静岡実験動物研究会総会・第43回研究発表会, 2015年10月9-10日,
静岡

加藤恒雄, 小林英治, 高野聡美, 六車香織, 小木曾昇

ラックの耐震固定時に発生予測される残留リスクへの対策

第55回日本実験動物環境研究会, 2015年11月21日, 東京

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 中西 章

流動研究員

吉見達也

特任研究員

奥野海良人

研究生

三河隆太

田中貴啓

水梨寛康

後藤弥生

客員研究員

滝川 修

研究補助員

高柳亜紀子

岸 智美

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 27 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 27. 年 4 月 22 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 8 名であり、再登録者は 43 名であった。前半 1 時間は放射線医学総合研究所 大岡先生による講演、後半は新規登録者のみ、放射性同位元素等の安

全な取扱いなどについて講習を実施した。

研究活動：

研究課題 1

トリプトファン栄養が神経変性性疾患に及ぼす影響の基礎研究
ほ乳類の脳内におけるトリプトファン(Trp)代謝は、主にキヌレニン経路によって行われることが知られている。面白いことにこのキヌレニン代謝経路内には内在性の神経保護因子であるキヌレン酸(KYNA)と、同じく内在性の神経毒であるキノリン酸(QA)が代謝産物として存在する。上記のうち KYNA はアルツハイマー病やハンチントン病などの神経変性性疾患における治療ターゲット因子と考えられ、一方、QA は増悪因子とされている。これら因子の体内における濃度は、必須アミノ酸である Trp の摂取量に依存して変化することから、栄養学的に Trp 栄養は神経変性疾患に影響を及ぼすと予想される。

本年度においては、0.5、1.0、2.0、5.0%トリプトファン含有試料をマウスに与え、30 日後に脳内及び血中の KYNA、QA、Trp 濃度を高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。Trp 2%以上の投与で KYNA が、また Trp 1%以上投与で QA の量が増加することを見出した。この原因として 2.0、

5.0%の Trp 添加食において血中の炎症性サイトカイン (IFN- γ) 濃度の上昇と、それによって腸管の Trp 代謝酵素の活性化が見出された。結果として、マウスにおける Trp の経口投与を行ったところ脳内 KYNA/QA 比が減少したため、極端な高 Trp 食は AD 発症の一因子となる可能性を示した (J. Tryptophan Res., submitted)。

研究課題 2

タウ凝集体 PET プローブ開発に関する研究

高齢化が急速に進む我が国では認知症患者が急増している。治療法の開発が喫緊の課題となっており、特に、根本治療薬の開発が強く求められている。このような状況下、神経細胞死に直結するとされるタウ凝集体を標的とする創薬が内外において開始されている。タウ凝集体を標的とする創薬にはタウ凝集体の蓄積量を評価する PET プローブが有用であり、当研究室では平成 23 年度からその開発を進めてきた (長寿医療研究開発費研究：課題番号 23-37)。

2014 年度までにイメージング質量分析装置を用いた独創的な AIMS システムを開発し、論文発表を行った (Yoshimi et al., Analyst 2015)。この AIMS システムを使用してライブラリ化合物 3000 種をスクリーニングし、タウ凝集体が蓄積した脳切片に高い親和性を示す 14 化合物を得

た。これらの化合物はこれまでに報告されているタウ親和性化合物 (PBB3 等) とは異なる構造を有する化合物であった。本年度は、当該化合物について合成タウ凝集体への親和性の検討、及び質量顕微鏡によるタウ凝集体への結合特異性を検証するためのサンプル作りを行った。今後、詳細解析を行っていく予定である。

研究業績（ラジオアイソトープ管理室）

I. 論文発表

1. 原著

Yoshimi T, Kawabata S, Taira S, Okuno A, Mikawa R, Murayama S, Tanaka K, Takikawa O.

Affinity imaging mass spectrometry (AIMS): high-throughput screening for specific small molecule interactions with frozen tissue sections.

Analyst, 2015, 2015,140, 7202–7208, DOI: 10.1039/C5AN01381J

Yoshio S, Sugiyama M, Shoji H, Mano Y, Mita E, Okamoto T, Matsuura Y, Okuno A, Takikawa O, Mizokami M, Kanto T.

Indoleamine-2,3-dioxygenase as an effector and an indicator of protective immune responses in patients with acute hepatitis B.

Hepatology. 63:83-94, 2016. doi: 10.1002/hep.28282.

2. 総説

三河隆太、杉本昌隆

News & Hot Paper Digest:がん抑制タンパク質 p53 による新たな細胞死誘導機構.
実験医学, 33 : 2255-2257, 2015.8.

2. 著書、Chapters

なし

3. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

6. 特許申請、取得状況

発明者：滝川修、新飯田俊平、檜垣小百合、松本健治、茅野光範

発明の名称：軽度認知障害を検査する方法

出願年月日：国内出願 平成 27 年 9 月 3 日

出願番号：特願 2015-173901 (国内)

出願人：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター、国立研究開発法人国立成
育医療研究センター、国立大学法人帯広畜産大学

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

該当無し

2. 国際学会発表

Okuno A, Yoshimi T, Mikawa R, Takikawa O.

Trp supplementation decreases KYNA/QA ratio in the mouse brain.
2015 ISTRY Conference, November 16, 2015, Grand Rapids, USA.

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

Development of High-speed and Super Sensitive Device for Detection of
Amyloid- β Peptide Using an Ion Image Sensor.
26th IEEE International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human
Science in 2015, Nov. 23-25, 2015, Nagoya, Japan.

3. 国内学会発表

三河隆太、奥野海良人、吉見立也、滝川修

ヒト血清中のアミロイド β 分解活性の性状解析

第38回日本基礎老化学会大会，2015年6月14日，横浜

奥野海良人、三河隆太、吉見立也、滝川修

マウスにおけるトリプトファン摂取が神経保護物質キヌレン酸および神経毒キ
ノリン酸の脳内および血液レベルに及ぼす影響

日本アミノ酸学会第9回学術大会（JSAAS2011），2015年10月24日，彦根

澤田和明、奥野海良人、滝川修、奥村弘一、服部敏明

マイクロバイオ化学センサによる健康管理

日本機械学会第7回マイクロ・ナノ工学シンポジウム，2015年10月30日，
新潟

吉見立也、川畑慎一郎、奥野海良人、三河隆太、田中耕一、滝川修
AIMS: 親和性化合物イメージング質量分析スクリーニングシステム
第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015 年 12
月 3 日 (ポスター発表), 12 月 4 日 (口頭発表), 神戸

4. その他、セミナー等

奥野海良人

アルツハイマー病原因物質の高速・高感度検出

「知の拠点あいち」重点研究プロジェクト超早期診断技術開発プロジェクト公
開セミナー2015, 2015 年 8 月 7 日, 豊田

澤田和明、奥野海良人

循環器および脳関連疾患の超早期診断技術とデバイス開発

「知の拠点あいち」重点研究プロジェクト超早期診断技術開発プロジェクト成
果報告会、2015 年 9 月 8 日, 名古屋

滝川修

在宅型アルツハイマー病早期診断装置の開発

「知の拠点あいち」重点研究プロジェクト超早期診断技術開発プロジェクト成
果報告会、2015 年 10 月 9 日, 豊橋

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測定装
置の開発

メッセナゴヤ 2015 (機器展示), 2015 年 11 月 4 - 6 日

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測定装
置の開発

Tech Biz Expo 2015 (機器展示), 2015 年 11 月 18-20 日

滝川修

(1) 化合物溶液の長期保存バックの開発 (2) 在宅型の血液 1 滴認知症早期診断装
置の開発 (3) 細胞特異的リキッドバイオプシーの紹介

ウェルネスバレー構想推進事業 医療系ニーズ・シーズ発表会, 2016 年 1 月 27
日, 大府

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バイオマーカーの高速感度測定装置の開発

中部地区医療・バイオ系シーズ発表会，2016年2月3日，名古屋

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

奥野海良人（分担）325万円

感染症実用化研究事業（肝炎等克服実用化研究事業 i）

非炎症性肝がんに関与する微小環境の解明に基づく病態関連マーカーと治療法
の開発

2. 文部科学省

滝川修（代表）182万円（総額494万円）

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)

脳細胞由来血漿エクソソームの多層的オミックス解析によるアルツハイマー病
の病態解析

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）1,000万円

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

向出 貴裕

角田 京子

特任研究員

橋本 成花

研究生

中山 貴美子

客員研究員

岩瀬 環

(2) 平成 27 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に関する研究の基盤として、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活用する研究を行った。病理解剖に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ご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。

近年もっとも大切な「病理組織バイオリソース」の活用研究は、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である。バイオリソース研究室では明快に研究成果を国民に還元する研究を実施した。病理解剖の機会は減少し、更に高齢者に対する在宅医療の推進事業などにより、病理解剖を簡単に実施できる状況は減少している。他方では、アルツハイマー病などの認知症に対する診断方法の開発や神経変性に対する治療方法の開発は喫緊の課題である。病理解剖や由来する試料バイオリソースだけでなく、病理診断などの基本情報を整備し研究を推進する必要がある。

バイオリソース研究室では、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。平成 27 年度から本格的に病理解剖組織の活用研究に関する研究成果を、民間企業と連携し共同で開発する神経変性に対する創薬研究として具体化した。研究成果を科学的な論文として発表することに留まらずに、患者さんに届く神経変性の治療薬を開発するためである。

1) 神経病理解剖診断ネットワークの構築

近年、病理解剖の症例数が減少する一方で、維持又は増加している病院がある。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。本年度は認知症の新しい組織診断分類に取り組んだ。

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」の活用研究では、病理解剖で得られた神経変性に関する新知見を、細胞・動物モデルに反映させ、それらの解析を行い神経変性に対する治療法を確立する。すなわち、ヒトの病理解剖で明らかになる病態解析から、疾患の新しい治療法開発や創薬研究へと連続することを示すことにより、病理解剖に関する国民の理解に繋げ重要性を発信する。組織形態や組織診断学だけではなく、生化学や分子生物学などの幅広い分野で研究を行い、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を可能にする。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できるようにする。

具体的な研究成果として、バイオリソース研究室では認知症の原因となるタンパク質の一つである alpha-synuclein について、その蓄積による神経変性の機序を解明し、さらに蓄積に対する分子標的を検討した。認知症において中枢神経の病気の中で「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、治療の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、蓄積することを明らかにした。第一に、マウス脳の初代培養の研究から、微小管と結合し蓄積するalpha-synucleinの蓄積では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。第二の成果として、治療標的として微小管チューブリンタンパク質の重合を阻害すると、alpha-synuclein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。これら二つの研究成果は、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C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。今後は解明した標的分子について、民間企業と連携して創薬研究を行い、患者さんに届く治療研究へと展開する。以上により、病理組織バイオリソースが疾患の治療研究に役立つことを示し、病理解剖の重要性を国民へと発信する。

研究業績（バイオリソース研究室）

I. 論文発表

1. 原著

Jin C, Washimi Y, Yoshida K, Hashizume Y, and Yazawa I.

Characterization of spheroids in hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids.

Journal of the Neurological Sciences 2015; 352, 74-78.

Iwase T, Yoshida M, Mizuno T, Sato S, and Nokura K.

An autopsy case of hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy syndrome manifesting as cerebral hemiatrophy in an elderly man.

Neuropathology 2015; 35, 592-598.

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

Iwase T, Yoshida M, and Hashizume Y.

Factors contributing to improving the quality of life in dementia-free centenarians. XXII World Congress of Neurology, October 31 - November 5, 2015, Santiago,

Chile.

3. 国内学会発表

なし

4. その他、セミナー等

矢澤生

認知症の神経病理から神経変性疾患の治療法開発へ

小野薬品工業水無瀬研究所神経変性疾患勉強会，平成27年12月18日，大阪府島本町

III. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

なし

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

なし

4. 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