

運動器疾患研究部

(1) 構成員

室長

骨代謝制御研究室 竹下 淳

骨細胞機能研究室 渡辺 研

流動研究員

小原 幸弘

王 晨堯

研究・事務補助員

鈴木 三恵

猪飼 理奈

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

高齢者の運動器疾患は、骨折・変形性関節症・変形性腰椎症がその大半を占めており、日常生活動作（ADL）の低下を引き起こすばかりでなく、社会参加を難しくする上に、要介護状態に至る主因の一つである。そのため、これらの運動器疾患の克服は超高齢社会において極めて重要な課題の一つである。

骨折のリスクとなる骨粗鬆症や、関節リウマチなど研究の進んだ疾患に対してはすでに基礎研究の成果から骨折リスクの低下、炎症や骨破壊の抑制など効果の高い抗体医薬などの生物製剤が上市しており、治療選択肢が広がりつつある。一方で、変形性関節症・変形性腰椎症においてはこれらに匹敵するような分子情報が乏しく、実証するような動物モデルも少ない。そ

れが新しい治療法の開発の高いハードルとなっている。そのため、これらに資する基盤研究の進展が急務となっている。

骨代謝制御研究室では Cthrc1 の受容体として Waif1 を同定し、ノックアウトマウスの骨解析により Cthrc1 と同様にカップリング機能を制御する重要な分子であることがわかった (Matsuoka et al. JBMR 2018)。また、マクロファージが産生・分泌し骨芽細胞の遊走を刺激する新しいカップリング因子として生化学の手法を用い Emilin2 を同定した。現在、マウスの遺伝学の手法を用いてカップリング因子としての機能解析を行っている。

骨細胞機能研究室では、整形外科と協力し、脊柱管狭窄症の一因に関与する黄色靱帯について、脊椎手術から得られた試料を用いて行った多層オミックス解析情報を web サイト (Integrative Disease Omics Database) にて一般公開し、分子情報の提供を行った。さらに、脊柱管狭窄症の遺伝学的アプローチをすすめ、家族内集積例の全ゲノム解析から、罹患と相関した新規のミスセンスレアバリエーションを同定し、その遺伝子産物の活性が失われることを見出した。

小原 幸弘、鈴木 三恵、竹下 淳

破骨細胞が分泌し骨芽細胞に作用するカップリング因子の機能解明

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、骨吸収から骨形成へのカップリング機構に着目し、新たな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。我々が発見したカップリング因子 Cthrc1 の受容体として同定した Waif1 のシグナル伝達機構、及びマウスの遺伝学的手法を用いて骨芽細胞特異的に Waif1 をノックアウトした Δ OB マウスを作成し骨代謝における Waif1 の機能解明を試みた。

Δ OB マウスはマイクロ CT 解析により野生型に比べ約 20% 高骨量を示した。しかしながら、骨形態計測法により骨形成のみならず骨吸収も低下していることがわかった。骨芽細胞で Waif1 を欠損すると Cthrc1 による ALP 活性の上昇が消失することから骨形成低下の原因の一つが確認された。一方、骨吸収低下の原因は Δ OB マウスの骨において Rankl の発現が低下していることを見出した。そこで、CRISPR/Cas9 により ST2 細胞で Waif1 を欠失したところ Rankl の発現が低下し、Waif1 を再び強制発現すると Rankl の発現が上昇することが判明し、Waif1 の発現自体が Rankl の転写を制御することで骨吸収を制御している可能性が示唆された。さらに、 Δ

OB マウスに RANKL を投与することにより骨吸収から骨形成へのカップリング機能を評価したところ、破骨細胞特異的 Cthrc1 cKO マウスと同様に Δ OB においても骨吸収後の骨形成の障害により骨量回復が遅延することがわかった。すなわち、破骨細胞における Cthrc1 欠損と骨芽細胞における Waif1 の欠損は共にカップリング機能障害という同様な表現型を示すことが判明し、骨代謝制御機能における Cthrc1 とその受容体である Waif1 の重要性が明らかとなった。

そこで、Waif1 を認識し、Cthrc1 刺激をミミックするモノクローナル抗体を作出するために、リコンビナント可溶性 Waif1 タンパクを発現・精製し、これを免疫源としてマウスに免疫し、モノクローナル抗体を作製した。現在、骨芽細胞分化に作用し骨形成を促進する抗体のスクリーニングを行っている。

参考文献

Matsuoka K, *et al.*, WAIF1 is a cell-surface CTHRC1 binding protein coupling bone resorption and formation. **J Bone Miner Res.**, doi: 10.1002/jbmr.3436.

小原 幸弘、鈴木 三恵、竹下 淳

マクロファージが産生・分泌し骨芽細胞に作用する 新しいカップリング因子の同定と機能解析

骨リモデリングは、破骨細胞の分化成熟による吸収相からはじまり、逆転相を経たのち、骨芽細胞による骨形成により吸収された骨が新しく形成される形成相を経て、休止相で一連の骨の改造が完了する。逆転相では破骨細胞は消失し、骨芽細胞の分化成熟までの間にマクロファージが出現することが知られているが、リモデリングにおけるマクロファージの役割や意義についての詳細は分かっていない。

当研究室では、これまでに破骨細胞が産生し骨形成を促進するカップリング因子として Cthrc1 と補体成分 C3a を同定し、それらのカップリング機能を実証した。本研究課題では、これまでに報告されてない新しいカップリング因子としてマクロファージが産生・分泌し骨芽細胞の遊走活性を促進するタンパクを生化学的、及び分子生物学的手法を駆使し原因分子の同定を試みた。

マウス骨髄由来マクロファージ (BMM) を M-CSF 存在下で培養し、その培養上清を骨髄ストローマ細胞株 ST2 に添加して培養すると遊走活性が上昇することが分かった。そこで、BMM の培養上清を 500mL 調整し、陰イオン交換カラムを用いて骨芽細胞の遊走活性を指標に活性成分を分

離・濃縮した。濃縮したタンパクを SDS-PAGE で展開し、各サイズのタンパクを切り出し、LC-MS/MS 装置を用いた質量分析により分泌タンパクである Emilin2 を同定した。Emilin2 は 116kDa の細胞外基質糖タンパクであり、心臓の発達に関与することが知られていたが、骨代謝における役割は報告されてなかった。そこで、骨における発現解析をしたところ、マクロファージにおいて高い発現特異性が認められた。リコンビナント Emilin2 は ST2 の遊走活性を刺激することが確認された。また、レトロウィルスを用いて頭頂骨由来骨芽細胞で Emilin2 を過剰発現すると骨芽細胞分化マーカー遺伝子である Runx2 や Osteocalcin の発現上昇が認められ、アリザリン・レッド染色によるカルシウムの沈着の促進も確認された。一方、脂肪前駆細胞株 3T3-L1 細胞で過剰に発現すると脂肪細胞分化を抑制することがわかり、Emilin2 は骨芽細胞分化を促進する細胞運命決定に関与する基質タンパクであることが判明した。そこで、マウスの生体内における骨代謝制御機能を解析するために Crispr/CAS9 法を用いて Emilin2 ノックアウトマウスを作出中である。

王 晨堯、渡辺 研

脊柱管狭窄症家族内集積例のゲノム解析

高齢者の ADL を損なう腰部脊柱管狭窄症は、臀部から下肢への痺れや間欠跛行を特徴とする運動器疾患である。本症の一因として黄色靱帯の肥厚が挙げられるが、その原因となる分子情報はほとんど得られていない。われわれはその黄色靱帯の多層オミックス解析を行い、その分子情報をデータベース(DB)として一般公開した（頁末参照）。

腰部脊柱管狭窄症は、国内の推定患者数が数百万人にのぼるとされており、いわゆる Common Disease との認識があるが、最近の twin study による遺伝関与の解析では 66.9% という相当な遺伝率（hereditary index）を示すことが報告されている。しかしながら、先天性広範脊柱管狭窄症以外では、ゲノム解析がなされた例はほとんどない。そこで、倫理・利益相反委員会の承認、ならびに参加者の同意のもと、国立研究開発法人国立長寿医療研究センターに来院・通院されている方を発端者として、家族内協力者を得た。発端者ならびに協力者にはバイオバンク登録にも同意いただき、バイオバンクから試料提供をうけて全ゲノム解析を行った。全ゲノム解析は HiSeq2500 を用いたペアエンド法で行った。バリエーションフィルタリングの

結果、家系内の罹患に相関し、公開ゲノム DB に登録されていないもの、もしくは minor allele frequency が 1% 未満のレアバリエーションを抽出し、そのうち、コードするタンパク質に機能異常が推測されるもので、タンパク質機能への有害性が上位 0.1% に入る、Combined Annotation Dependent Depletion (CADD) スコア > 30 のものを抽出した。最も CADD スコアが高く、酵素の機能に重要なモチーフ内で生物種・分子ファミリー間を問わず高度に保存されているアミノ酸の置換を伴うバリエーションを見出した。既存の公開ゲノム DB においては検出されず、新規のバリエーションと考えられた。Sanger 法で確認後、同置換を伴った遺伝子と野生型遺伝子を発現させ、酵素活性の生化学的解析、ならびに luciferase assay などの in vitro の機能解析を行ったところ、その機能を完全に失っている機能喪失型変異であることがわかった。そこで、ゲノム編集法をもちい、マウスにおいてヒトと高い相同性を有すオーソログに同じ点変異を導入し、変異マウスを作出した。現在、その表現型の解析を進めている。

Integrative Disease Omics Database
<https://gemdbj.ncc.go.jp/omics/>

研究業績（運動器疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Matsuoka K, Kohara Y, Naoe Y, Watanabe A, Ito M, Ikeda K, Takeshita S
WAIF1 is a cell-surface CTHRC1 binding protein coupling bone resorption
and formation.

J Bone Miner Res. 2018 Apr 6. Doi: 10.1002/jbmr.3436.

Wang L, Iorio C, Yan K, Yang H, Takeshita S, Kang S, Neel BG, Yang W
A ERK/RSK-mediated negative feedback loop regulates M-CSF-evoked
PI3K/AKT activation in macrophages.

FASEB J. 32, 875-887, 2018.

Takeshita S, Fumoto T, Ito M, Ikeda K

Serum CTX levels and histomorphometric analysis in Src versus RANKL
knockout mice.

J Bone Miner Metab. 36, 264-273, 2018.

Mori T, Sakai Y, Kayano M, Matsuda A, Oboki K, Matsumoto K, Harada A,
Niida S, Watanabe K.

MicroRNA transcriptome analysis on hypertrophy of the ligamentum flavum
from patients with lumbar spinal stenosis.

Spine Surg. Rel. Res. 1, 211-217, 2017.

Murasawa Y, Nakamura H, Watanabe K, Kanoh H, Koyama E, Fujii S, Kimata
K, Zako N, Isogai Z.

The versican G1 fragment and serum-derived hyaluronan-associated proteins
interact and form a complex in granulation tissue of pressure ulcers.

Am. J. Pathol. 188, 432-449, 2018.

Nomoto K, Itaya Y, Watanabe K, Yamashita T, Okazaki T, Tokudome Y.

Epidermal permeability barrier function and sphingolipid content in the skin of
sphingomyelin synthase 2 deficient mice.

Exp. Dermatol. in press (online 13 February 2018)

2. 総説

竹下 淳

骨吸収と骨形成のカップリング

特集「骨リモデリング制御と疾患」

医薬ジャーナル社 CLINICAL CALCIUM, 27(12):1705-1711, 2017 年 11 月 28 日

王 晨堯、渡辺 研

運動器疾患とプレシジョン・メディシン

特集「プレシジョン・メディシンとアンチエイジング」

メディカルレビュー社 日本抗加齢医学会雑誌 アンチ・エイジング医学, 13, 651-656, 2017.

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

2. 国際学会発表

Kohara Y, Matsuoka K, Ito M, Ikeda K, Takeshita S

Osteoclast-secreted Cthrc1 Regulates Bone Remodeling through Waif1, a Receptor on Stromal/Osteoblastic Cells.

The 39th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, September 10, 2017, Denver, Colorado, USA.

Watanabe K

Possible roles of PAX9 on the integrity of ligamentum flavum.

Gordon Research Conference on Elastin, Elastic Fibers & Microfibrils, August 2, 2017, Biddeford, ME, USA.

3. 国内学会発表

Kohara Y, Matsuoka K, Watanabe A, Ito M, Ikeda K, Takeshita S
Waif1 on osteoblasts regulates bone remodeling as a receptor for
osteoclast-derived Cthrc1.

第 10 回 NAGOYA グローバルリトリート, 2018 年 2 月 16 日, 大府

小原幸弘、松岡和彦、直江吉則、渡邊 淳、伊東昌子、池田恭治、竹下 淳
Cthrc1 は Waif1 を介して骨カップリング機能を制御する

第 2 回 Skeletal Science Retreat, 2017 年 11 月 25 日, 岡山

森 大気、酒井義人、村澤裕介、原田 敦、新飯田俊平、渡辺 研
PAX9-FGF18 軸による黄色靱帯の恒常性維持機構

第 49 回日本結合組織学会学術大会, 2017 年 6 月 17 日, 津

森 大気、酒井義人、原田 敦、村澤裕介、新飯田俊平、渡辺 研
黄色靱帯における PAX9 下流因子 FGF18 の同定

生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017 年 12 月 7 日, 神戸

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
竹下 淳 (代表) 143 万円 (総額 143 万円)
基盤研究 C
骨カップリング因子 Cthrc1 の骨形成促進機構の解明と創薬への応用

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	細山 徹
流動研究員	坂口 和弥
実験補助員	古田 純子
	澤村 嘉代子
事務補助員	加藤 記代美

(2) 平成 29 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 29 年度、再生再建医学研究部は、設立 13 年目に於いて初めてスタッフメンバーが入れ替わることになった。すなわち、平成 29 年 1 月に上住が転出し、後任として、平成 29 年 6 月からは、細山徹が細胞再生室長として加わった。

平成 29 年度、当研究部は以下の課題を中心に研究を進めてきた。

- ① ヒト筋前駆細胞の特性解明に関する研究
- ② iPS 細胞および細胞遺伝子改変マウスを用いた骨格筋幹細胞の維持機構に関する研究
- ③ 加齢に伴うエピジェネティック変化の研究

平成 29 年度の研究進捗状況については、年度途中に赴任した細山室長は精力的に新規研究課題の導入に取り組んでおり、下田室長・坂口研究員は年度内に論文投稿を済ませるなど、まだ論文発表には到っていない水面下の努力を評価したい。

一方、部長研究グループからは、4 編の原著論文（橋本が corresponding author であるもの）を発表することができた。

特に、昨年度、世界で初めて不死化に成功したヒト膀胱平滑筋細胞の性質解明が進み、論文発表に結実したことは、素直に喜ぶたい。この研究は、センター泌尿器外科吉田正貴部長（副院長）の発案で始まった。平成 29 年度に発表した論文のうちの 2 編は、センター病院整形外科松井康素 部長（現口コモフレイルセンター長）、原田敦 病院長との共同研究であり、他の 1 編はセンター泌尿器外科前部長岡村菊夫先生（現 東名古屋病院）との年余にわたる共同研究が、やっと論文の形になったものである。

当センターの掲げる基礎（研究所）と臨床（病院）の連携という基本方針に対して、基礎研究の立場から一定の貢献ができたものと理解している。

当センター病院および外部研究機関（国立がん研究センター、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。

しかし、当研究部の有する潜在的能力を考えると、論文発表に関しては、満足できるレベルとは言えない。所属員一同、高い意識を持って臨みたい。

平成 30 年 3 月、再生再建医学研究部初代部長の橋本が退職することにより、再生再建医学研究部は、新設以来 13 年間にわたる黎明期の幕を閉じて、新たなステップを踏み出すことになる。

今、肝に銘ずべきは、チャーチルの言葉であろうか？

"Now this is not the end. It is not even the beginning of the end. But it is, perhaps, the end of the beginning."

Winston Churchill (1941)

再生再建医学研究グループ：
橋本有弘、古田 純子、澤村 嘉代子

不死化ヒト細胞による骨格筋細胞および平滑筋細胞の特性解明

我々は、分化能力を保持したまま未分化ヒト骨格筋細胞を不死化するために、独自の不死化法を確立した（国立がん研究センター 清野透 部長との共同研究）（Shiomi *et al.*, 2011）。

この不死化法を用いて、我々は、これまでに多数の成人および高齢者の骨格筋から分離した骨格筋幹細胞（筋サテライト細胞）を不死化し、細胞株を樹立した（不死化の過程で筋サテライト細胞は、幹細胞から筋前駆細胞に一段階分化が進んでいるため、「不死化筋幹細胞」ではない）。さらに、ディシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）、福山型先天性筋ジストロフィー、リー脳症（ミトコンドリア脳筋症病の一つ）などの遺伝子性筋疾患の患者骨格筋から分離した筋サテライト細胞の不死化にも成功している。

平成 29 年度は、不死化 DMD 筋細胞を用いた解析結果を論文発表することができた。DMD 筋細胞は、炎症性サイトカイン IL1 β に対する細胞応答性が正常筋細胞とは異なっていること、その違いは、Notch リガンドの一つ Jagged 1 の発現が DMD 筋細胞でのみ誘導されることが原因であることを明らかにした（Nagata *et al.*, 2017）。IL1 β による Jagged 1 の発現誘導は、非生理的高濃度の IL1 β や過酸化水素に暴露された正常筋細胞に

においても確認された。すなわち、Jagged 1 の発現は、過剰なストレス刺激に対する未分化筋細胞の生理的な細胞応答であり、必ずしも DMD 筋細胞にのみ見られる現象ではないことがわかった。

DMD 骨格筋では、壊死と再生が繰り返し起こっている。この過程で、筋サテライト細胞は、繰り返し酸化ストレスや炎症性サイトカインに曝される結果、Jagged 1 遺伝子は IL1 β による影響を受けやすくなったものと考えられる。この Jagged 1 遺伝子の脆弱性（susceptibility）は、Jagged 1 による DMD 筋細胞の増殖と筋分化の抑制をもたらし、DMD 患者の筋再生能力低下の原因となる。

IL1 β -Jagged 1 経路は、DMD における筋萎縮の進行を抑制する新たな治療法の分子標的となる可能性がある。

我々は、3 年余り前から、当センター病院泌尿器外科の吉田正貴部長との共同研究として、不死化ヒト平滑筋細胞を解析してきた。ヒト骨格筋細胞を不死化するために確立した方法をヒト平滑筋細胞に応用するという当初の狙いどおり、ヒト膀胱平滑筋細胞の不死化に成功し、解析を進めたところ、これまでに報告された例のない、ユニークな性質を見いだした。

不死化ヒト膀胱平滑筋細胞 hBS11 は、平均 18 時間という短い細胞周期で活発に分裂を繰り返しているが、至適分化条件で培養すると、分裂を止め、肥大化した。この時、 α SMA、calponin、h-caldesmon などの平滑筋細胞分化マーカーの発現は増大した。肥大化した hBS11 細胞は、アセチルコリン受容体 AchR2、AchR3 を発現しており、agonist である calbachol に応答してカルシウムを放出する。また、この hBS11 細胞の細胞膜は、膜電位依存的な興奮性を有していた（日本医大 斉藤博士らとの共同研究）。以上のことから、肥大化した hBS11 細胞は、分化した平滑筋細胞であると考えられる。

これまで、平滑筋細胞は、分化状態と分裂増殖状態を双方向に行き来していると考えられてきた。しかし、これまでのところ、平滑筋細胞が、分化状態と分裂増殖状態を双方向に行き来しうることを、直接的に示したデータは、報告されていない。hBS11 細胞を、分化条件において分化させた後、再び増殖条件に戻すと、肥大化した細胞は丸まるようにして厚みを増し、細胞分裂を再開した。

この細胞培養系は、平滑筋細胞生物学に新たな展開をもたらすブレークスルーツールとなるものであり、創薬研究への寄与も期待される。この研究成果は、血管平滑筋にも応用可能であり、その有用性はたいへん高い。

我々が樹立した不死化ヒト筋前駆細胞およびヒト膀胱平滑筋細胞は、将

来的に公的細胞バンクから供給可能となることを望んでいる。しかし、2017 年 5 月に施行された改正個人情報保護法に従い、当面は当研究部からの直接配布のみしかできない状況にある。不死化ヒト骨格筋細胞および平滑筋細胞を広く世界中の研究者・製薬企業等に提供し、我々の樹立した細胞が、ヒト疾患に対する予防法および治療法の開発に寄与できる日が来ることを切に望んでいる。

参考文献

1. Hashimoto *et al.*, Immortalization of human myogenic progenitor cell clone retaining multipotentiality. **Biochem Biophys Res Commun**, 348(4): 1383-1388, 2006.
2. Hashimoto *et al.*, Osteogenic Properties of Human Myogenic Progenitor Cells. **Mech Dev.**, 125 : 257-269, 2008.
3. Shiomi *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. Nagata *et al.*, Interleukin-1 β (IL-1 β)-induced Notch ligand Jagged1 suppresses mitogenic action of IL-1 β on human dystrophic myogenic cells. **PLoS One**., 12(12): e0188821, 2017.

5. Hashimoto *et al.*, Reversible differentiation of immortalized human bladder smooth muscle cells accompanied by actin bundle reorganization. **PLoS One.**, 12(10):e0186584, 2017.
6. Zeng *et al.*, Genetic and epigenetic characteristics of FSHD-associated 4q and 10q D4Z4 that are distinct from non-4q/10q D4Z4 homologs. **Hum Mutat.**, 35(8):998-1010, 2014.
7. Iwata *et al.*, Cancer cachexia causes skeletal muscle damage via transient receptor potential vanilloid 2-independent mechanisms, unlike muscular dystrophy. **J Cachexia, Sarcopenia Muscle.**, 7(3):366-376, 2016.

細胞再生研究室：細山 徹

サルコペニアの本態解明に向けた基礎的研究

細胞再生研究室は、平成 29 年 6 月に細山が室長に着任し、iPS 細胞や遺伝子組換えマウスを用いた「サルコペニアの本態解明へ向けた基礎的研究」を開始した。本年度は、①種々の遺伝子組換えマウスの導入と維持、および②骨格筋幹細胞の維持制御機構に関する *in vitro* 解析系の確立、等に主眼をおき研究を進めた。

筋特異的な Cre リコンビナーゼ発現マウス (Cre ドライバーマウス) は、近年の骨格筋研究に必須なツールの一つであり、細山は骨格筋幹細胞特異的な Cre ドライバーマウス (Pax7CreER) の開発に関わった経験を有する (Nishijo, Hosoyama *et al.*, 2009)。本年度は、国際的な mouse repository 機関の一つである National Cancer Institute (NCI：米国) から Pax7CreER マウスの凍結胚を輸入し、国立長寿医療研究センターにおいて個体復元した。さらに、The Jackson Laboratory (米国)、理研 BRC、山口大学、および東京都健康長寿医療センターより、他の Cre ドライバーマウスや種々の flox マウスを入手し、それらの系統維持および標的遺伝子のヘテロマウス作製等を行った。年度途中からのプロジェクト開始であったため、標的遺伝子欠損に対する表現型解析

には至らなかったが、骨格筋特異的な遺伝子欠損マウスを用いた研究基盤は概ね整い、次年度以降には何らかの成果が得られると期待される。

一方、骨格筋幹細胞の維持制御機構に関する *in vitro* 解析系には、スフィア培養によりヒト多能性幹細胞から高効率に骨格筋幹・前駆細胞を分化誘導する方法を採用した (Hosoyama *et al.*, 2015)。本法は、短期間であれば幹細胞の未分化維持モデルとして利用できる。本年度は、本モデルと微小重力培養を組み合わせた実験系 (前所属からの継続研究) (Hosoyama *et al.*, 2017)、および低分子化合物添加を組み合わせた実験系などにより、骨格筋幹・前駆細胞の維持における MAPK 経路の関与を示唆する結果などを得た。次年度以降は、遺伝子組換えマウスなどによる詳細な検討を行う。

参考文献

Nishijo, Hosoyama, *et al.*, **FASEB J.**, 23:2681-2690, 2009.

Hosoyama *et al.*, **Stem Cell Trans Res.**, 3:564-574, 2014.

Hosoyama *et al.*, **Biochem Biophys Res Comm.**, 493:998-1003, 2017.

組織再生再建研究室：下田修義、坂口和弥

DNA メチル化の基礎と応用研究

(1) モデル生物におけるゲノム編集技術の立ち上げ

AD を初めとする高齢者疾患に関与するゲノム情報を活用するためには、リスクバリエーションのモデル生物でのアノテーションが重要であり、そのためにはアノテーションにふさわしいゲノム編集技術やモデル生物を適宜使いこなせることが望ましい。そこで当研究室ではこれまでに多系統のゼブラフィッシュの飼育・継代システムを確立し、本年度はゲノム編集技術を利用した効率のよい欠損変異体作製、およびジェノタイピングを実施できるようにした。マウスについては NCGG 所属の複数の研究者による横断的なコラボレーションにより、組織および時期特異的な遺伝子 *in vivo* ノックダウンをきわめて低コストで行えるシステムの開発を続けている。

(2) 血液 DNA メチル化のアルツハイマー病早期診断バイオマーカーへの利用

血液 DNA のメチル化に基づくアルツハイマー病の早期診断法開発を目指している。バイオバンクから提供されるアルツハイマー病患者と高齢健康人の血液 DNA (ともに NCGG バイオバンク提供) を比較してメチル化レベルに差のあるゲノム領域(DMR: Differentially Methylated Region)をイ

ルミナ社の DNA メチル化解析アレイを利用して網羅的に検索後、DMR の中からメチル化レベルが神経心理テストのスコアと相関を示す 6 領域を見いだした。その再現性を別の解析手法 (パイロシーケンス法) で確認したところ 2 つの遺伝子領域において再現性が得られた。

(3) 遺伝子発現のエピジェネティック制御

DNA メチル化は遺伝子の発現制御、とりわけ抑制に関与すると一般的にいられているが、そのメカニズムや共役する因子についてはよくわかっていない。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、DNA メチル化酵素遺伝子 *dnmt3bb.2* の機能喪失型アレルを複数得た。現在、作製した変異体のトランスクリプトーム解析や全ゲノムメチル化解析を行っている。今後、これらの情報に基づくメチル化標的部位の探索、および分子プローブを用いた詳細な表現型解析を通して、メチル化により発現が調節される遺伝子の同定、およびその異常が発生・分化、および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

Nagata Y, Kiyono T, Okamura K, Goto YI, Matsuo M, Ikemoto-Uezumi M, Hashimoto N.

Interleukin-1 β (IL-1 β)-induced Notch ligand Jagged1 suppresses mitogenic action of IL-1 β on human dystrophic myogenic cells.

PLoS One, 12: e0188821, 2017.

Hashimoto N, Kiyono T, Saitow F, Asada M, Yoshida M.

Reversible differentiation of immortalized human bladder smooth muscle cells accompanied by actin bundle reorganization.

PLoS One, 12: e0186584, 2017.

Ikemoto-Uezumi M, Matsui Y, Hasegawa M, Fujita R, Kanayama Y, Uezumi A, Watanabe T, Harada A, Poole AR, Hashimoto N.

Disuse Atrophy Accompanied by Intramuscular Ectopic Adipogenesis in Vastus Medialis Muscle of Advanced Osteoarthritis Patients.

Am J Pathol, 187: 2674-2685, 2017.

Kawada S, Harada A, Hashimoto N.

Impairment of cold injury-induced muscle regeneration in mice receiving a combination of bone fracture and alendronate treatment.

PLoS One. 12: e0181457, 2017.

Sako Y, Ninomiya K, Okuno Y, Toyomoto M, Nishida A, Koike Y, Ohe K, Kii I, Yoshida S, Hashimoto N, Hosoya T, Matsuo M, Hagiwara M.

Development of an orally available inhibitor of CLK1 for skipping a mutated dystrophin exon in Duchenne muscular dystrophy.

Sci Rep, 7: 46126, 2017.

Shinohara M, Sumino Y, Sato F, Kiyono T, Hashimoto N, Mimata H.

Tumor necrosis factor-alpha inhibits differentiation of myogenic cells in human

urethral rhabdosphincter.

Int J Urol, 24: 461-467, 2017.

Hosoyama T, Ichida S, Kanno M, Ishihara R, Hatashima T, Ueno K, Hamano K.
Microgravity influences maintenance of the human muscle stem/progenitor cell pool.
Biochem Biophys Res Commun, 493: 998-1003, 2017.

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

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

細山 徹

微小重力環境によるヒト骨格筋幹細胞維持機構の阻害

第 63 回日本宇宙航空環境医学会大会, 2017 年 11 月 16 日, 福岡.

橋本有弘

筋ジストロフィー治療法開発のための基盤となるヒト筋細胞の特性解析

—分泌因子による未分化筋細胞の機能調節—

精神・神経疾患研究開発費 平成 29 年度研究班会議（武田班）, 2017 年 12 月 5 日, 東京.

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

坂口和弥, 光森理紗, 新飯田俊平, 橋本有弘, 下田修義

DNA methylation analyses indicated changes in leukocyte composition in Alzheimer's disease patients.

第 40 回日本基礎老化学会年会, 2017 年 6 月 16 日, 名古屋.

橋本有弘, 上住円

ヒト骨格筋の特性解明：細胞レベルおよび組織レベルの解析

第 3 回日本筋学会学術集会, 2017 年 8 月 4 日, 東京.

Ikemoto-Uezumi M, Hashimoto N, Uezumi A

MFG-E8 aberrantly accumulates at the arteries and the neuromuscular junction with age.

第 3 回日本筋学会学術集会, 2017 年 8 月 4 日, 東京.

細山徹, 市田春治, 神野正嗣, 石原玲一, 上野耕司, 畑島敏勝, 濱野公一
微小重力環境がヒト骨格筋前駆細胞維持に与える影響

第 3 回日本筋学会学術集会, 2017 年 8 月 4 日, 東京.

細山徹, 橋本有弘

微小重力培養によるヒト骨格筋幹・前駆細胞維持機構の破綻

第 5 回若手による骨格筋細胞研究会, 2017 年 11 月 13 日, 兵庫.

橋本有弘

マウス筋前駆細胞における BMP 刺激非依存的なアルカリ性フォスファターゼの発現誘導

2017 年度生命科学系学会合同学会, 2017 年 12 月 7 日, 兵庫.

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

下田修義（分担） 主任一括計上
臨床ゲノム情報統合データベース整備事業

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

橋本有弘（代表） 110 万円（総額 370 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

細山 徹（代表） 100 万円（総額 370 万円）
科学研究費助成事業（基盤研究 C 一般）
血管成熟化に着目した重度末梢血管障害に対する新規細胞移植療法の開発

下田修義（代表） 120 万円（総額 380 万円）
科学研究費助成事業（基盤研究 C 一般）
ゼブラフィッシュ胚で可視化されるトランスジーンサイレンシングに関する研究

下田修義（分担） 200 万円
科学研究費助成事業（基盤研究 B 一般）
アルツハイマー病変形成を促進する新たなモデルマウスの開発

4. 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

細山 徹（代表） 50 万円
愛知健康増進財団 2017 年度医学研究・健康増進活動等助成
サルコペニア予防法開発の基盤となる iPS 細胞由来ヒト骨格筋の構築

幹細胞再生医療研究部

(1) 構成員

部長 中島 美砂子

室長

再生歯科医療研究室

庵原 耕一郎

流動研究員

Endrawan Pratama

外来研究員

渥美 優介

研究生

大桑 雄太

研究補助員

富永 三千代

長井 綾乃

山口 共子

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

歯髄幹細胞の移植による歯髄・象牙質再生治療を今後実用化するため、①細胞移植前の歯内（根管内）完全除菌、②中高齢者の歯髄再生促進、③同種移植による幹細胞源の確保 に関して以下の研究を行った。

まず、根管内細菌の完全除去法の開発のため、イヌ難治性感染根管モデルにおいて、閉鎖系の歯科用ナノバブル発生装置により作製したナノバブル水と抗菌剤を併用して根管洗浄および貼薬を行い、除菌効果を明らかにした。その後歯髄幹細胞を移植して歯髄および根尖部歯周組織の再生を検討した。

次に、中高齢者にも歯髄・象牙質再生治療を適用するため、高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor), CCL11 中和抗体/CCR3 拮抗剤あるいはトリプシンの作用を *in vitro* および *in vivo* で検討した。

さらに、同種移植による歯髄再生治療の非臨床試験における有効性および安全性を明らかにした。また、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。

ナノバブルの歯周病への効果を検討したところ、薬剤と共に適応することで、より効果的に歯周ポケット内の細菌を除去できる傾向が見られた。

歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生に関する研究

歯髄幹細胞の移植による歯髄・象牙質再生治療を今後実用化するために、解決すべき課題として、①細胞移植前の歯内（根管内）完全除菌、②中高齢者の歯髄再生促進、③同種移植による幹細胞源の確保 に関して以下の研究を行った。

まず、根管内細菌の完全除去法の開発のため、イヌ難治性感染根管モデルにおいて、閉鎖系の歯科用ナノバブル発生装置により作製したナノバブル水と抗菌剤を併用して根管洗浄および貼薬を行った。その結果、根管内部深くに抗菌剤が浸透でき、ナノバブル洗浄によるスメア層除去効果およびバイオフィルム除去効果により、数回の根管治療で、有意に除菌できた。その後歯髄幹細胞を移植して歯髄および根尖部歯周組織が再生されることを明らかにした。

次に、中高齢者にも歯髄・象牙質再生治療を適用するため、高齢者の組織再生を促進させる因子 RSF (regeneration stimulating factor) を検討した。まず、CCL11 中和抗体あるいは CCR3 拮抗剤を高齢マウスあるいは高齢イヌの歯に歯髄幹細胞とともに注入すると、歯髄再生が促進され、神経突起伸長が促進されることを明らかにした。また、*in vitro* において、CCR3 拮抗剤は老化歯根膜幹細胞に対して、老化マーカーの mRNA 発現を有意に抑制した。さらに高齢歯微小環境を想定した老化歯髄幹細胞の培養上清に CCR3 拮抗剤を添加すると神経突起伸長および遊走能が有意に促進された。これより中高齢において、CCR3

拮抗剤は根尖周囲組織の老化を抑制し、歯内微小環境を改善することにより歯髄再生を促進できる可能性が示唆された。また高齢イヌにおいて、歯髄幹細胞を自家移植する前にトリプシンで根管内を前処理すると歯髄再生が促進された。さらに非臨床研究においてその安全性と有効性を示唆した。よって高齢者において、トリプシン前処理により、歯髄幹細胞移植による歯髄再生が促進できる可能性が示唆された。

さらに、同種移植による歯髄再生治療のイヌ非臨床試験において有効性および安全性を明らかにした。すなわち、歯髄幹細胞の DLA タイプが不一致でも、一致で移植した場合と同様の歯髄組織が再生され(図)、有害事象もみられなかった。また、歯髄幹細胞を安定に増幅する最適な培養法として低酸素培養の有効性を明らかにした。

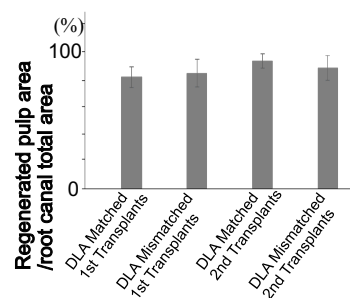


図 イヌ歯髄幹細胞同種移植における歯髄再生量の比較：一回目 DLA 一致・不一致、二回目 DLA 一致・不一致

参考文献

Iohara.K, Utsunomia S, Kohara S, Nakashima M. **Stem Cell Res. Therapy.** 9:116, 2018.

研究業績 (幹細胞再生医療研究部)

I. 論文発表

1. 原著

Nakayama H, Iohara K, Hayashi Y, Okuwa Y, Kurita K, Nakashima M
Enhanced regeneration potential of mobilized dental pulp stem cells from
immature teeth.
Oral Dis, 23: 620-628, 2017.

Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, Nakashima M
Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) with
the mismatched dog leucocyte antigen (DLA) type is safe and efficacious for
total pulp regeneration.
Stem Cell Res Therapy, 9:116, 2018.

Okuwa Y, Toriumi T, Nakayama H, Ito T, Otake K, Kurita K, Nakashima M,
Honda M
Transplanting effect of dental pulp-derived cells on peripheral nerve
regeneration in crushed sciatic nerve injury.
J Oral Science, 2018 (in press)

2. 総説

Nakashima M, Iohara K
Recent progress in translation from bench to a pilot clinical study on total pulp
regeneration.
J Endod, 43:S82-S86, 2017.

Ariji Y, Ariji E, Nakashima M, Iohara K
Magnetic resonance imaging in endodontics: a literature review.
Oral Radiol, 34: 10-16, 2018.

中島美砂子

歯髄・象牙質再生治療の現状と未来 歯界展望特別号—歯科医療 未来と夢—
医歯薬出版 pp. 257-259.

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：中島美砂子、庵原耕一郎、篠田昌孝

発明の名称：歯及び口腔内付着物の除去促進剤

出願年月日：2017 年 8 月 7 日

出願番号：特願 2017-152594

出願人：中島美砂子、庵原耕一郎、有限会社中島工業

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：非細胞性根管充填材及び非細胞性歯組織再生促進キット

出願年月日：2017 年 9 月 29 日

出願番号：特願 2017-190744

出願人：国立長寿医療研究センター

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

PCT 出願後 日本国内出願番号：特願 2017-558321

出願年月日：2018 年 3 月 5 日

出願人：国立長寿医療研究センター、東レ・メディカル株式会社、ネッパジャー株式会社

特許取得

発明者：中島美砂子、庵原耕一郎

発明の名称：非抜歯根管充填材及び非抜歯による歯組織再生方法

出願年月日：2010 年 9 月 10 日

PCT 出願番号：201080040308.9 14/102295

特許取得日：2017 年 8 月 8 日（米国）

特許登録番号：特許 US 9,724,368

権利者：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：2008 年 3 月 12 日

PCT 出願日：2009 年 3 月 12 日 PCT/JP2009/055541 (W02009/113733A1)

出願番号：特願 2008-063391 09718864.3 (2010 年 9 月 13 日)

特許取得日：2017 年 11 月 15 日（欧州）

特許登録番号：欧州 (EP) 2,263,706

権利者：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：2011 年 3 月 30 日

出願番号：特願 2011-075861

国際出願日：2012 年 3 月 30 日

出願番号：PCT/JP2012/058637 (W02012/133803 A1)

韓国出願移行日：2013 年 9 月 17 日

韓国出願番号：2013-7024722

特許取得日：2017 年 11 月 23 日（韓国）

特許登録番号：1802908

権利者：国立長寿医療研究センター、ネッパジーン株式会社

発明者：中島美砂子、立花克郎

発明の名称：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：2009 年 12 月 16 日

出願番号：特願 2009-285068

国際出願日：2010 年 12 月 16 日

出願番号：PCT/JP2010/007315 (W02011/074268A1)

特許取得日：2018 年 3 月 21 日（欧州 イギリス、ドイツ、フランス）

特許登録番号：2514387

権利者：国立長寿医療研究センター、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

Induction of pulp regeneration by mobilized dental pulp stem cells: a pilot clinical study

Symposium "Saving the Natural Tooth by Pulp and Dentin Regeneration". American Association of Endodontics (AAE) 2017, April 27, 2017, New Orleans, USA.

Nakashima M

Dental pulp regeneration from bench to clinic

Congreso Internacional de Endodoncia. 5th Encuentro Latinoamericano de Investigacion. 2017, September 2, 2017, Bucaramanga, Columbia.

Nakashima M

Nerve tissue regeneration by dental pulp stem cells (DPSCs)

10th Conference of African Society of Human Genetics, November 16, 2017, Cairo, Egypt.

中島美砂子

歯髄幹細胞を用いた再生医療

再生医療シンポジウム, 2018年3月10日, 沖縄

2. 国際学会発表

なし

3. 国内学会発表

山田志津香、山本耕平、榊田嘉治郎、林善彦、庵原耕一郎、中島美砂子
魚コラーゲンを足場材としたイヌにおける歯髄再生療法.

第146回日本歯科保存学会春季学術大会, 2017年6月9日, 青森

中島美砂子、庵原耕一郎

ナノバブルを用いた新しい根管拡大剤の開発

第147回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2017年10月26日, 盛岡

庵原耕一郎、中島美砂子

Trypsin 前処理による高齢の歯髄再生促進治療法の開発

第 147 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2017 年 10 月 26 日, 盛岡

中島美砂子、庵原耕一郎

高齢イヌにおける CCR3 拮抗剤を併用した歯髄幹細胞治療法による歯髄再生促進

第 17 回日本再生医療学会総会, 2018 年 3 月 22 日, 横浜

庵原耕一郎、中島美砂子

高齢イヌにおける Trypsin を用いた歯髄再生促進法の開発

第 17 回日本再生医療学会総会, 2018 年 3 月 22 日, 横浜

4. その他、セミナー等

中島美砂子

歯髄再生医療と歯髄幹細胞の可能性 再生医療研究と研究人材育成

甲南大学メディケミカル拠点形成プロジェクト公開フォーラム Part1,
2018 年 3 月 19 日, 神戸

中島美砂子

歯髄・象牙質再生治療の現状と未来.

長崎大学大学院セミナー, 2017 年 9 月 8 日, 長崎

中島美砂子

歯の延命化を目指した歯髄・象牙質の再生治療法の近未来

平成 29 年度神戸三区合同学術講演会, 2017 年 9 月 28 日, 神戸

学会賞受賞

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

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

The 2017 Journal of Endodontics Awards, April 26, 2017.

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

庵原耕一郎（代表）1,000万円

公益財団法人一般用医薬品 セルフメディケーション振興財団 平成29年度
セルフメディケーションのためのナノバブル含有アセスによる歯周病治療
促進効果の検討

庵原耕一郎（代表）1,500万円

公益財団法人 豊秋奨学会 平成29年度 平成29-30年
幹細胞・幹細胞由来産物を用いない新規歯髄再生治療法の開発

庵原耕一郎（代表）2,000万円

公益財団法人 臨床薬理研究振興財団 平成29年度 平成29-30年
ナノバブル薬剤導入法を用いた難治性感染根管治療の非臨床試験

庵原耕一郎（代表）332.5万円（外部配分500,000円を含む）

長寿医療研究開発費

オーラル・フレイル（歯や口の機能の虚弱）防止のための歯科用ナノバブル
発生装置開発

口腔疾患研究部

(1) 構成員

部長 松下 健二

室長

口腔感染制御研究室 四釜 洋介

口腔機能再生研究室

流動研究員

王 静舒

黒澤 実愛

外来研究員

須磨 紫乃

石田 直之

客員研究員

渡邊 裕

研究生

高田 鮎子

浮田 万由美

研究補助員・事務補助員

小暮 宏実

蒔田 千夏

杉浦 優子

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

当研究部は、口腔感染制御研究室と口腔機能再生研究室の 2 室で構成されており、総勢 12 名の構成員で研究活動を行っている。当研究部では、高齢者における歯の喪失の問題を血管生物学的、細菌学的、免疫学的、再生歯学的、アプローチにより総合的、統合的に解決することを目指している。また、口腔機能の改善、向上による高齢者の QOL 向上の取り

組みを行なっている。

松下部長の研究グループは、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するとともに、福岡県久山町の住民データの解析結果から、歯周病の炎症強度と認知機能の低下が負の相関関係を示すことを明らかにした。

また、高齢マウスの歯周組織の解析結果から、粘膜のバリア機能を担うタンパク分子の発現の低下や局在の変化が若齢マウスと比べて見られることを明らかにした。また、顎関節頭の著名な加齢変化が観察された。

歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis* がアレルギー関連タンパクの誘導を介して、口腔粘膜バリアの低下を来すこと、また高濃度グルコースが上皮バリアタンパク質の発現を増強することを明らかにした。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。

口腔感染制御研究室は平成 29 年 10 月から流動研究員が 1 名加わった。本年度より、1) 口腔粘膜での抗ウイルス自然免疫応答における interleukin (IL)-29 の役割、2) 加齢および糖脂質代謝異常が唾液腺機能に

およぼす影響：モデルマウスを用いた解析、をテーマに研究を進めている。

1) のテーマについては、口腔粘膜由来ケラチノサイトにおいて、IL-29 刺激により、ウイルスセンサーである RIG-I や IFI16 の発現上昇を介した抗ウイルス能を誘導することを明らかにし、学会発表を行った。

2) のテーマについては、ドライマ

ウスやドライアイを臨床症状とする原因不明の自己免疫疾患であるシェーグレン症候群のモデルマウス作製に時間を費やした。次年度よりこのマウスを用いて本格的に実験を開始する予定である。また、糖尿病や脂質異常症が、歯周病やシェーグレン症候群の病態形成に関与する可能性をまとめた総説を発表した。

口腔疾患研究部：松下健二

王静舒、高田鮎子、浮田万由美、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Aβ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Aβ蓄積が出現することが明らかになり、ADをAβ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Aβ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。さらに、福岡県久山町の住民データの解析結果から、歯周病の炎症強度と認知機能の低下が負の相関関係を示すことを明らかにした。

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わっ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。また、老化マウスにおける顎関節頭の変化老齢マウスは若齢マウスに比べて、線維軟骨細胞層の破壊、軟骨細胞層の菲薄化がみられ、下顎頭の吸収が顕著であった。加えて、下顎頭軟骨細胞におけるメチル化ヒストン陽性細胞数が減少することが明らかとなった。

3. アレルギー疾患としての歯周病病因論の解明

歯周病病態とアレルギー応答との関連性について解析した。そこで、*P. gingivalis* によるアレルギー炎発症の可能性を検討した。その結果、*P. gingivalis* が産生するトリプシン様プロテアーゼ gingipain が肥満細胞、好塩基球、好酸球、Th2 リンパ球といったアレルギー関連細胞を活性化し、IL-33 の発現を増強し、歯周組織におけるアレルギー炎発症を惹起する可能性を示した。また、同酵素は IL-31 に産性を促し、歯肉上皮の接着因子 claudin-1 の発現レベルを低下させて、口腔粘膜のバリア機能を減弱することで、歯周病原細菌や口腔内の易害性

抗原の侵入を容易にすることで、歯周炎の発症や進行を助長する可能性があることを明らかにした。さらに、高濃度グルコースの局所投与が上皮バリア機能を担う claudin-1 や filaggrin の発現を増強し、歯周病や慢性皮膚炎などの慢性炎症を制御できる可能性を in vitro およびマウスモデルで明らかにした。現在、これらのバリア関連分子を誘導する条件について詳細に検討中である。

4. 試作紫外線 LED を用いた歯科治療用機器の評価

当センターの角保徳部長との共同研究として、試作した紫外線 LED 歯科治療用機器を用いて、310nm UVB の口腔内細菌と対する殺菌作用を in vitro の実験系で検討した。その結果、310nm 紫外線 LED を 1050mJ/cm² 照射することによって、*P. gingivalis* が 90%以上殺菌されること、Vitamin K を添加することで殺菌作用が 20%程度増強されること、またその殺菌機序として Pyrimidine dimer や活性酸素種の生成が関与することが明らかとなった。さらに、310 nm UVB-LED は、口腔バイオフィルム形成細菌に対して殺菌作用を示すとともに、同細胞の細胞接着因子の発現を誘導することで上皮バリア機能を高める可能性が示唆された。以上より、本機器は歯周炎の新しい治療や予防への応用が期待できる可能性が示された。

口腔感染制御研究室：四釜洋介、黒澤実愛

高齢者が罹患する口腔疾患の新たな治療法開発を目的とした研究

1. 口腔粘膜での抗ウイルス自然免疫応答における interleukin (IL)-29 の役割

口腔粘膜疾患の原因は多岐にわたるが、ウイルス感染が原因と考えられている疾患も数多く存在する。近年、口腔粘膜を構成する上皮細胞や線維芽細胞にもウイルス由来核酸に対する受容体が発現しており、核酸刺激により自然免疫を介した I 型 interferon (IFN) を誘導する事が報告されている。本研究は、III 型 IFN の一つである IL-29 を臨床応用するための礎となる基礎研究を行う事を目的とする。これまでの研究結果より、i) ヒト歯肉上皮細胞を IL-29 刺激する事により、RNA ウイルスの核酸認識を担う受容体である RIG-I、2 本鎖 DNA を認識する受容体である IFI16 発現を誘導する事、ii) IL-29 は濃度依存的に IL-29 受容体を介し STAT1 をリン酸化する事、iii) IL-29 前処理により RIG-I アゴニストによる I 型 IFN mRNA 発現が増強される事を見出している。今後ウイルス感染実験等を行い、口腔粘膜を介するウイルス性疾患および口腔粘膜におけるウイルス感染に起因した良性・悪性疾患に対する新たな予防・治療法を確立するための基盤構築を目指す。

2. 加齢および自己免疫疾患に起因する口腔乾燥症における老化関連 T 細胞の役割解明

近年、様々な代謝性疾患、慢性炎症性疾患の発症や病態に、加齢に伴う免疫系の制御異常が深く関与する事が明らかになってきた。この免疫老化ともよばれる現象の主たる要因は、末梢で増加する老化関連 T (SA-T) 細胞が、免疫老化や加齢関連疾患発症に重要な役割を担っている事が明らかになっている。興味深いことに、この SA-T 細胞は、高脂肪食負荷された内臓脂肪組織内においても顕著に増加し、2 型糖尿病の病態形成に寄与することが最近明らかになっている。我々は老齢マウスを用いた実験から、主要リンパ節における SA-T 細胞の数および割合を検討した所、唾液腺の所属リンパ節である顎下リンパ節において、若齢マウスと比較し SA-T 細胞数および CD4 陽性 T 細胞に対する割合が著しく増加することを見出している。今後本研究により、加齢および免疫老化が、ドライマウス発症にどの様に関与し得るか明らかになれば、健康長寿の実現に貢献できる治療法の開発に繋げることが出来ると考えられる。

研究業績（口腔疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Yamada K, Matsushita K, Jingshu W, Kanekura T

Topical Glucose Induces Claudin-1 and Filaggrin Expression in a Mouse Model of Atopic Dermatitis and in Keratinocyte Culture, Exerting Anti-inflammatory Effects by Repairing Skin Barrier Function.

Acta Derm Venereol, 98(1):19-25, 2018.

Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Tada H, Funaki-Kato Y, Hagiwara M, Ferdous T, Abdullah M, Mitan A, Michikawa M, Matsushita K

Periodontitis induced by bacterial infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice.

npj Aging and Mechanisms of Disease 3, Article number:15, 2017.

Takada A, Matsushita K, Horioka S, Furuichi Y, Sumi Y

Bactericidal effects of 310 nm ultraviolet lightemitting diode irradiation on oral bacteria.

BMC Oral Health, 6;17(1):96, 2017. doi: 10.1186/s12903-017-0382-5.

Tada H, Suzuki R, Nemoto E, Shimauchi H, Matsushita K, Takada H

Increases in IL-33 production by fimbriae and lipopeptide from *Porphyromonas gingivalis* in mouse bone marrow-derived dendritic cells via Toll-like receptor 2.

Biomed Res, 38(3):189-195, 2017.

Tada H, Shimizu T, Matsushita K, Takada H

Porphyromonas gingivalis induced IL33 downregulates hCAP18/LL37 production in human gingival epithelial cells.

Biomed Res, 38(3):167-173, 2017.

Horibe Y, Watanabe Y, Hirano H, Edahiro A, Ishizaki K, Ueda T, Sakurai K

Relationship between Masticatory Function and Frailty in Community-Dwelling Japanese Elderly.

Aging Clin Exp Res, 2017. doi: 10.1007/s40520-017-0888-3.

Tokudome Y, Okumura K, Kumagai Y, Hirano H, Kim H, Morishita S, Watanabe Y
Development of the Japanese version of the Council on Nutrition Appetite
Questionnaire and its simplified versions, and evaluation of their reliability,
validity, and reproducibility.

J Epidemiol, 27(11):524-530, 2017.

Tanaka T, Takahashi K, Hirano H, Kikutani T, Watanabe Y, Ohara Y, Furuya H,
Tsuji T, Akishita M, Iijima K
Oral Frailty as a Risk Factor for Physical Frailty and Mortality in
Community-Dwelling Elderly.

J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2017. doi:10.1093/gerona/glx225.

Ohara Y, Yoshida N, Kawai H, Obuchi S, Yoshida H, Matakai S, Hirano H,
Watanabe Y

Development of an oral health-related self-efficacy scale for use with older adults.

Geriatr Gerontol Int, 17(10):1406-1411, 2017.

Takagi D, Watanabe Y, Edahiro A, Ohara Y, Murakami M, Murakami K, Hironaka
S, Taniguchi Y, Kitamura A, Shinkai S, Hirano H
Factors affecting masticatory function of community-dwelling older people:
Investigation of the differences in the relevant factors for subjective and objective
assessment.

Gerodontology, 34(3):357-364, 2017.

Akihiko Tanaka, Kenji Takeuchi, Michiko Furuta, Toru Takeshita, Shino Suma,
Takashi Shinagawa, Yoshihiro Shimazaki, Yoshihisa Yamashita
Relationship of tooth brushing to metabolic syndrome in middle-aged adults.

J Clin Periodontol, 2018. doi: 10.1111/jcpe.12876.

Takeuchi K, Furuta M, Okabe Y, Suma S, Takeshita T, Akifusa S, Adachi M,
Kinoshita T, Kikutani T, Yamashita Y
Swallowing disorders and 1-year functional decline in community-dwelling older
adults receiving home care.

J Oral Rehabil, 44(12):982-987, 2017.

Kageyama S, Takeshita T, Furuta M, Tomioka M, Asakawa M, Suma S, Takeuchi K, Shibata Y, Iwasa Y, Yamashita Y

Relationships of variations in the tongue microbiota and pneumonia mortality in nursing home residents.

J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2017. doi: 10.1093/gerona/glx205.

白部麻樹、中山玲奈、平野浩彦、小原由紀、遠藤圭子、渡邊裕、白田千代子
顔面および口腔内の過敏症状を有する要介護高齢者の口腔機能および栄養状態
に関する実態調査.

日本公衆誌, 第 64 巻 7 号 351-358, 2017.

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

通所介護事業所利用者に対す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.

日衛学誌, Vol.12No.1 36-46, 2017.

本川佳子、田中弥生、菅洋子、細山田洋子、枝広あや子、平野浩彦、渡邊裕.
認知症グループホームにおける認知症重症度と栄養状態の関連.

日本在宅栄養管理学会誌, 4(2), 1-7, 2017.

2. 総説

Shikama Y, Kudo Y, Ishimaru N, Funaki M

Potential Role of Free Fatty Acids in the Pathogenesis of Periodontitis and
Primary Sjögren's Syndrome.

Int J Mol Sci, 14;18(4), pii:836, 2017.

Ohara Y, Yoshida N, Kawai H, Obuchi S, Mataka S, Hirano H, Watanabe Y

Response to comments on: Development of an oral health-related self-efficacy
scale for use with older adults.

Geriatr Gerontol Int. 18(3):514-515, 2018.

渡邊裕 著分担

健康寿命延伸に寄与する老年歯科医療，高齢者の現状と近未来.

松風クラブ, 2-27, 2018.

渡邊裕

歯科との連携をどうする -高齢者の生活を支えるために-
オーラルフレイル, PROGRESS IN MEDICINE, 37, 1139-1143, 2017.

渡邊裕

高齢者の口腔機能の低下とフレイル
地域リハビリテーション 13 巻 3 号 pp.187-192, 2017.

渡邊裕

オーラルフレイルへの対策を考える
全国大学歯科衛生士教育協議会雑誌, 2017.

渡邊裕

オーラルフレイル最前線・神奈川県における取り組み ～神奈川県口腔ケア
による健康寿命延伸事業オーラルフレイル改善プログラム介入調査について～
社会歯科学会雑誌, 2017.

3. 著書、Chapters

平野浩彦、飯島勝矢、渡邊裕
オーラルフレイルQ&A.
医学情報社, 2017.

渡邊裕 著分担

ポイントチェック歯科衛生士国家試験対策④第5版.
歯科衛生士国家試験対策検討会編, 2018.

4. その他

渡邊裕

周術期のオーラルマネジメント 周術期における医科歯科連携と看護師の役割.
看護技術, 63 (14) : 4-7, 2017.

松下健二

認知症と口腔ケア.
トライアングルmini Vol.12, 2017年7月号

5. 新聞・報道等

松下健二

朝日新聞, 2018 年 1 月 5 日朝刊, 歯周病で認知症悪化、仕組みを解明 脳の「ゴミ」増やす.

渡邊裕

岩手日日新聞社, 2018年2月12日, 健康 老化予防は口から.

渡邊裕

釧路新聞, 2018年2月9日, 健康 老化は口から.

渡邊裕

福島民報, 2018年2月8日, 情報ナビTime 老化は口から表れる.

渡邊裕

北国新聞, 2018年1月10日, はつらつ健康ライフ 口の衰えが全身に.

渡邊裕

ラジオ日本, 2017年12月4日, 長野祐也の医療界キーパーソンに聞く.

渡邊裕

ラジオ日本, 2017年11月27日, 長野祐也の医療界キーパーソンに聞く.

渡邊裕

メディカルトリビューン, 2017年11月16日, オーラルフレイル予防を起点に高齢者医療へアプローチ.

渡邊裕

TBS 系列テレビ, 2017 年 8 月 14 日, TBS【人間とは何だ!? 健康・長寿の最新常識】

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

歯周病とアルツハイマー病.

日本歯周病学会 61 周年記念京都大会, シンポジウム IV「超高齢社会を生き抜く
歯周病予防・治療の考え方」, 2017 年 12 月 17 日, 京都.

渡邊裕

フレイル、オーラルフレイルの疫学.

日本歯周病学会 61 周年記念京都大会, シンポジウム IV「超高齢社会を生き抜く
歯周病予防・治療の考え方」, 2017 年 12 月 17 日, 京都.

渡邊裕

論文を書くために押さえておくべきポイントについて, 読者目線のやさしい論文作成法.

第34回日本障害者歯科学会総会・学術大会, 教育講演, 2017年10月28日, 福岡.

渡邊裕

フレイル研究の現状及び展望 オーラルフレイル研究の現状および展望

第 30 回老年学会総会, 2017 月 6 月 14-16 日, 名古屋.

1. 国際学会発表

Shikama Y, Ishimaru N, Kudo Y, Matsushita K, Funaki M

Palmitate may exacerbate the pathogenesis of periodontitis.

American Academy of Periodontology 103rd Annual Meeting, September 9, 2017, Boston, USA.

Watanabe Y, Arai H, Hirano H, Ohara Y, Edahiro A, Shimada H, Kikutani T, Suzuki T.

Identifying oral function as an indexing parameter for detection of Mild Cognitive Impairment in elderly people.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics. July 23-27, 2017, San Francisco, California.

Yasuda J, Watanabe Y, Hirano H, Edahiro A, Shirobe M, Motokawa K, Awata S.

Role of the mini nutritional assessment-short form as a predictor for 30-month mortality in nursing home in Japan.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics, July 23-27, 2017, San Francisco, California.

Shirobe M, Nakayama R, Ohara Y, Keiko E, Watanabe Y, Hirano H, Hakuta C.
Effect of the Professional Oral Health Care Including Removal of Body
Hypersensitivity among Older People Requiring Long-term Care.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics, July 23-27, 2017, San Francisco, California.

Hirano H, Watanabe Y, Murakami M, Edahiro A, Motokawa K, Shirobe M,
Yasuda J.

Relationship Between Sarcopenia and Chewing Ability in Japanese
Community-Dwelling Elderly.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics , July 23-27, 2017, San Francisco, California.

Edahiro A, Hirano H, Watanabe Y, Ohara Y, Motokawa K, Shirobe M, Yasuda J,
Awata S

Eating Dysfunction Accompanying Deterioration of AD on the Basis of
Functional Assesment Staging.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics, July 23-27, 2017, San Francisco, California.

Motokawa K, Edahiro A, Shirobe M, Yasuda J, Hirano H, Obuchi S, Kawai H,
Watanabe Y

Relationship Between Frailty and Dietary Among Older Adults.

The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics, July 23-27, 2017, San Francisco, California.

2. 国内学会発表

多田浩之、松下健二

Fusobacterium nucleatum による好中球の neutrophil extracellular traps 産生を
介した炎症反応の増悪.

第 60 回春季日本歯周病学会学術大会, 2017 年 5 月 11 日, 福岡

高田鮎子、王静舒、古市保志、松下健二

老齡マウスにおける細胞間接着分子発現動態の解析 ―加齢関連疾患としての
歯周病病態形成との関連性―

第 17 回日本抗加齢医学会総会, 2017 年 6 月 2 日, 東京

王静舒、山田きよ子、金蔵拓郎、松下健二

皮膚バリア修復による炎症改善の可能性：高濃度グルコース局所塗布による
Claudin-1 および Filaggrin の発現誘導.

第 17 回日本抗加齢医学会総会, 2017 年 6 月 2 日, 東京

須磨紫乃、渡邊裕、平野裕彦、枝広あや子、白部麻樹、本川佳子、木村藍、松下健二、荒井秀典、櫻井孝

アルツハイマー型認知症（AD）とレビー小体型認知症（DLB）の食行動特性の
比較検討.

第 28 回日本老年歯科医学会学術大会, 2017 年 6 月 14 日, 名古屋

四釜洋介、新垣理恵子、大塚邦紘、石丸直澄、松下健二

糖脂質代謝異常とシェーグレン症候群の病態：Adipokine の関連性.

第 26 回日本シェーグレン症候群学会学術集会, 2017 年 9 月 8 日, 東京

多田浩之、西岡貴志、松下健二、菅原俊二

Neutrophil extracellular traps によるヒト血管内皮細胞の Del-1 産生抑制.

第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017 年 9 月 16 日, 松本

四釜洋介、工藤保誠、石丸直澄、船木真理

飽和脂肪酸が歯周病の病態形成に関与する可能性.

第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017 年 9 月 18 日, 松本

多田浩之、西岡貴志、松下健二、尾之上さくら、川原一芳

歯周病における neutrophil extracellular traps 産生と血管内皮細胞の炎症誘導.

第 23 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会, 2017 年 12 月 2 日, 西宮

高田鮎子、松下健二、堀岡悟、古市保志、角保徳

新しい歯周炎予防・治療法としての 310 nm UVB-LED の可能性.

日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 2017 年 12 月 16 日, 京都

四釜洋介、松下健二

口腔粘膜での抗ウイルス自然免疫応答における interleukin (IL)-29 の役割.
日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 2017 年 12 月 16 日, 京都

多田浩之、松下健二、根本英二

歯周病原細菌感染による NETs 産生は血管内皮細胞における炎症反応を増悪させる.
日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 2017 年 12 月 16 日, 京都

石原裕一、石田直之、道川誠、松下健二

実験的歯周炎はアルツハイマー病モデルマウスの病態を悪化させる.
第 3 回日本骨免疫学会 ウインターセミナー, 2018 年 1 月 25 日, 軽井沢

渡邊裕

「人工呼吸器関連肺炎予防のための気管挿管患者の口腔ケア実践ガイド」 歯
科医からみたケア実施上の留意点.
第 13 回 日本クリティカルケア看護学会学術集会 2017/6/10-11

渡邊裕

フレイル研究の現状及び展望 オーラルフレイル研究の現状および展望.
第 30 回老年学会総会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

金憲経、小島成実、藤野健、大須賀洋祐、吉田祐子、渡邊裕、井原一成、平野浩彦
都市部在住の後期高齢女性における認知機能低下の関連要因 -2 年後の分析結果より-
第 59 回老年医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

本川佳子、枝広あや子、村上正治、白部麻樹、田中弥生、河合恒、大淵修一、
平野浩彦、渡邊裕
地域在住高齢者における咀嚼機能と栄養素・食品群別摂取量および低栄養との関わり.
第 59 回老年医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

永島圭悟、古屋裕康、渡邊裕、大島克郎、田村文誉、菊谷武
通所施設における栄養改善および口腔機能向上サービスの実施体制に関する調査.
第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

古屋裕康、永島圭悟、岩淵信、石黒幸枝、久保山裕子、渡邊裕、大島克郎、田

村文誉、菊谷武

通所介護施設での口腔機能低下及び低栄養に対する食支援モデルの検討.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

本橋佳子、平野浩彦、櫻井孝、櫻井薫、市川哲雄、高野直久、深井獲博、武井典子、大塚礼、山田律子、田中弥生、野原幹司、渡邊裕、枝広あや子

認知症高齢者に対する口腔管理と経口摂取支援に関する GL 作成の試み 予備文献検索

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

堀部耕広、渡邊裕、平野浩彦、枝広あや子、本川佳子、白部麻樹、大淵修一、大神浩一郎、上田貴之、櫻井薫

Frailty への移行に咀嚼機能の低下が及ぼす影響.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

松原ちあき、白部麻樹、渡邊裕、尾花三千代、本川佳子、村上正治、枝広あや子、平野浩彦、古屋純一

地域在住高齢者の唾液中潜血に関連する因子の検討.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

釘宮嘉浩、渡邊裕、平野浩彦、本川佳子、堀部耕広、小野高裕、上田貴之、櫻井薫
都市部在住高齢者の咀嚼機能および食品摂取の多様性の低下と認知機能との関係.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

森下志穂、渡邊裕、平野浩彦、枝広あや子、本川佳子、白部麻樹、村上正治、糸田昌隆

介護老人保健施設退所後の在宅療養継続に影響する因子の検討.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

白部麻樹、平野浩彦、枝広あや子、小原由紀、森下志穂、本川佳子、村上正治、村上浩史、高城大輔、渡邊裕

アルツハイマー型認知症高齢者の嚥下機能低下に関連する予知因子の検討.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

五十嵐憲太郎、渡邊裕、平野浩彦、枝広あや子、梅木賢人、伊藤誠康、河相安彦、小野高裕

都市部在住高齢者のフレイルと口腔機能低下との関連に関する検討.

第 28 回老年歯科医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16 日, 名古屋

本川佳子、枝広あや子、白部麻樹、田中弥生、平野浩彦、渡邊裕

要介護高齢者における自発摂食力評価と入院・死亡との関連.

第 5 回日本在宅栄養管理学会学術集会, 2017 年 7 月 1~2 日, 名古屋市

渡邊裕

編集委員会主催セミナー 査読のポイント、論文の書き方について.

第 23 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会, 2017 年 9 月 15~16 日,
千葉市

枝広あや子、平野 浩彦、渡邊裕

介護保険施設の経口摂取支援に関する研修効果.

第 23 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会, 2017 年 9 月 15~16 日,
千葉市

渡邊裕

ランチョンセミナー 地域で望む暮らしを支援するために必要なオーラルフレイル対策とは.

第 28 回日本在宅医療学会学術集会, 2017 年 9 月 17~18 日, 東京

本川佳子、枝広あや子、白部麻樹、井原一成、田中弥生、 金憲経、藤原佳典、
大淵修一、河合恒、平野浩彦、渡邊裕

オーラルフレイルと食事・栄養の関わり.

第4回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2017年10月14-15日, 京都

枝広あや子、本川佳子、白部麻樹、小原由紀、杉山美香、稲垣宏樹、宇良千秋、
宮前史子、岡村毅、 村山洋史、大淵修一、藤原佳典、金憲経、井原一成、河合
恒、渡邊裕、平野浩彦、栗田主一

オーラルフレイルと食事・栄養の関わり.

第4回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2017年10月14-15日, 京都

渡邊裕

論文を書くために押さえておくべきポイントについて, 読者目線のやさしい論文作成法.

第34回日本障害者歯科学会総会・学術大会, 2017年10月28日, 福岡

稲垣宏樹、栗田主一、佐久間尚子、金憲経、枝広あや子、杉山美香、白部麻樹、
本川佳子、宇良千秋、小川まどか、宮前史子、渡邊裕、新開省二
高島平Study (1) 大都市部認知症高齢者の生活実態調査の方法と課題に関する検討.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

佐久間尚子、稲垣宏樹、栗田主一、小川まどか、枝広あや子、宇良千秋、杉山
美香、宮前史子、鈴木宏幸、渡邊裕、栗田主一
高島平Study (2) 大都市部在住高齢者の会場 調査と訪問調査のMMSE-J得点.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

金憲経、栗田主一、渡邊裕、小島成実、藤野健、大須賀洋祐、本川佳子、佐久
間尚子、稲垣宏樹、杉山美香、小川まどか、枝広あや子、新開省二
高島平study (3) 大都市部在住高齢者における 重複フレイルの特徴と関連要因.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

枝広あや子、杉山美香、稲垣宏樹、小川まどか、宇良千秋、佐久間尚子、宮前
史子、本川佳子、本橋佳子、渡邊裕、岡村毅、金憲経、新開省二
高島平Study (4) 大都市在住高齢者の食欲低下に関連する要因の検討.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

杉山美香、宮前史子、佐久間尚子、稲垣宏樹、宇良千秋、小川まどか、枝広あ
や子、本川佳子、岡村毅、渡邊裕、金憲経、新開省二、栗田主一
高島平Study (5) 認知機能低下がみられる地域在住高齢者の生活支援ニーズ.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

本川佳子、渡邊裕、平野浩彦、枝広あや子、本橋佳子、白部麻樹、三上友里江、
大須賀洋祐、佐久間尚子、宇良千秋、稲垣宏樹、小川まどか、金憲経、新開省
二、栗田主一
高島平Study (6) 大都市在住高齢者における 認知機能と栄養指標との関連.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

本橋佳子、渡邊裕、本川佳子、枝広あや子、白部麻樹、三上友里江、大須賀洋
祐、平野浩彦、金憲経、北村明彦、藤原佳典、大淵修一、石崎達郎、新開省二、
栗田主一
高島平Study (7) 大都市部在住高齢者における口腔への関心に関連する因子の検討.

第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

三上友里江、渡邊裕、本川佳子、枝広あや子、白部麻樹、本橋佳子、大須賀洋祐、平野浩彦、金憲経、北村明彦、藤原佳典、大淵修一、石崎達郎、新開省二、栗田主一

高島平Study (8) 都市部在住高齢者の外出頻度の減少と口腔機能低下との関連.
第76回日本公衆衛生学会総会, 2017年10月31日-11月2日, 鹿児島

渡邊裕、本川佳子、枝広あや子、平野浩彦、田中弥生
特別養護老人ホーム入所要介護高齢者の食欲と死亡との関係：1年間の縦断調査.

第33回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2018年2月23日, 横浜

本川佳子、枝広あや子、平野浩彦、田中弥生、渡邊裕
地域在住高齢者のフレイル重症度と栄養関連指標の検討.
第33回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2018年2月23日, 横浜

早川美知、渡邊裕、本川佳子、枝広あや子、白部麻樹、大須賀洋祐、金憲経、新開省二、栗田主一
高島平 Study 食品摂取多様性に関連する因子の検討.
第37回食事療法学会, 2018年3月4日, 沖縄

本川佳子、枝広あや子、平野浩彦、白部麻樹、大淵修一、河合恒、田中弥生、渡邊裕
地域在住高齢者のフレイル重症度と食品摂取多様性の関わり.
第37回食事療法学会, 2018年3月4日, 沖縄

3. その他、セミナー等

松下健二

歯周病病因論について.

第一三共ヘルスケア社内講演, 2018年2月9日, 東京.

松下健二

長生きを享受するための歯科医療の問題点.

次世代金型クラスター・事業化研究会, 2018年1月31日, 岐阜.

松下健二

口腔疾患と全身疾患の予防～特に歯周病について～

平成 29 年度大阪府在宅保健師の会, 第 1 回研修会, 2017 年 8 月 31 日, 大阪.

四釜洋介

ジョスリン糖尿病センターでの研究、現在の研究について.

一般財団法人カスター財団 第 2 回金田博夫研究助成基金帰国受給者交流会, 2018 年 1 月 26 日, 大阪.

渡邊裕

よく噛み、よく話し、よく笑い、健康寿命を延ばしましょう！

研究所友の会セミナー, 2018 年 3 月 16 日, 東京.

渡邊裕

オーラルフレイル、口腔機能低下、摂食嚥下障害について.

東京都歯科衛生士会学術研修会, 2018 年 2 月 25 日, 東京.

渡邊裕

健康づくり中央セミナー 歯・口腔の健康づくり.

全国老人クラブ連合会主催, 2018 年 2 月 22 日, 神奈川

渡邊裕

オーラルフレイル予防・改善対策について.

オーラルフレイル対応力研修会, 2018 年 2 月 22 日, 神奈川.

渡邊裕

介護予防にける口腔機能と栄養.

東京都地域リハビリテーション推進広域派遣アドバイザー設置事業講演会,
2018 年 2 月 20 日, 東京.

渡邊裕

オーラルフレイル対策を通じて健康寿命延伸を考える.

市川市歯科医師会学術講演会, 2018 年 2 月 17 日, 市川.

渡邊裕

口腔機能向上.

神奈川県介護予防従事者研修会, 2018 年 2 月 10 日, 横浜.

渡邊裕

要介護者の口腔の状況と口腔関連の平成 30 年度介護報酬改定について.
大曲大仙歯科医師会講演会, 2018 年 2 月 7 日, 大曲.

渡邊裕

高齢者の生活を支えるオーラルフレイル対策.
戸畑歯科医師会学術講演会, 2018 年 1 月 27 日, 北九州.

渡邊裕

口腔機能向上.
神奈川県介護予防従事者研修会, 2018 年 1 月 20 日, 相模原.

渡邊裕

オーラルフレイル予防で地域を支える.
船橋市歯科医師会学術講演会, 2018 年 1 月 18 日, 船橋.

渡邊裕

高齢者の栄養ケア 望む暮らしの支援に必要なオーラルフレイル予防とは.
高知県在宅歯科医療連携推進事業講演会, 2018 年 1 月 14 日, 高知.

渡邊裕

オーラルフレイル対策を通じて国家の健康寿命延伸を考える.
群馬県歯科医師会講演会, 2018 年 1 月 8 日, 群馬.

渡邊裕

健康長寿世界一の沼津を目指して.
平成 29 年度 オーラルフレイル研修会, 市民総活躍のまちづくり静岡県歯科医師会主催, 2017 年 12 月 14 日, 沼津.

渡邊裕

健康寿命の延伸と新たな 8020 運動の展開 口腔機能の向上と歯科保健の向上に向けて.
第 15 回フォーラム 8020, 公益財団法人 8020 推進財団主催, 2017 年 12 月 2 日, 東京.

渡邊裕

地域で行うオーラルフレイル予防 ～よく噛み、よく話し、よく笑いましょう～
平成 29 年度 8020 運動推進員大交流会, 神奈川県歯科医師会主催, 2017 年 11 月 26 日, 神奈川.

渡邊裕

食べる、しゃべる、笑うことで 健康長寿をめざしましょう！
平成 29 年度県民公開講座, 群馬県歯科医師会主催, 2017 年 11 月 18 日, 前橋.

渡邊裕

健口寿命と健康寿命.
平成 29 年度世界糖尿病デーイベント in 益田, 益田地域糖尿病支援ネットワーク主催, 2017 年 11 月 4 日, 益田.

渡邊裕

オーラルフレイル改善プログラム介入調査について～
社会歯科学会秋季研修会～神奈川県口腔ケアによる健康寿命延伸事業, 社会歯科学会主催, 2017 年 10 月 21 日, 横浜.

渡邊裕

オーラルフレイルに対する戦略について.
九州歯科大学大学院セミナー, 九州歯科大学主催, 2017 年 10 月 19 日, 北九州.

渡邊裕

形態から機能へ 歯科医学研究の現状.
日本大学松戸歯学部大学院セミナー, 日本大学松戸歯学部主催, 2017 年 10 月 12 日, 松戸

渡邊裕

口腔から始まる健康寿命延伸への道筋.
逗葉歯科医師会学術講演会, 2017 年 9 月 30 日, 逗子市.

渡邊裕

ストップ！ オーラルフレイル.
福岡歯科大学公開講座 教育講演, 2017 年 9 月 24 日, 福岡.

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

松下健二（分担） 10 万円

平成 29 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

松下健二（分担） 10 万円

平成 29 年度科学研究助成事業（基盤研究 C）

歯周病原細菌によるマスト細胞の IL-31 を基軸とした歯肉上皮バリア破綻機序の解明

四釜洋介（代表）110 万円（総額 110 万円）

平成 29 年度科学研究助成事業（研究活動スタート支援）

シェーグレン症候群の病態に対する食事由来の脂質の影響：新規治療法の確立にむけて

3. 財団、その他

四釜洋介（代表） 10 万円

第 29 回歯科基礎医学会 学会奨励賞

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

流動・研究開発研究員

玻名城 隼(~4月)

門岡 桂史(~6月)

三河 隆太

金 湘殷

坂本 明彦

亀井 優香 (10月~)

川口 耕一郎(6月~12月)

特任研究員

川口 耕一郎(~5月,1月~)

外来研究員

赤津 裕康

客員研究員

石神 昭人

島田 順一

本山 昇

保田 朋波流

研究生

新井 聡 古茂田 かおり

森田 悠治 駒野 悠太

研究補助員・事務補助員

岡山美和子 長坂 真有

松井 直美 太田 祐子

山田あかね 近藤 麻衣

村松 加代 飯田 万由(~12月)

十鳥夕子 西島 里咲(1月~)

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

老化の機構解明をミッションとして代謝、免疫室長グループに部長グループを加えた3つのPIグループが相互補完的に、分子、細胞、組織、個体レベルでの基礎老化研究を進めることができた。加齢に伴う生体機能の低下のメカニズムに対しては高齢者にとって大きな脅威となる感染症の罹患と予後に深く関わる①免疫老化の低下のメカニズム解明に加え、今年度はいずれもその破綻が慢性炎症の発症にもつながるとされる②加齢育成動物を用いた皮膚の自然加齢の分子メカニズムや栄養介入と腸内常在細菌の制御を通じた腸管免疫系の健康維持に関する研究も立ち上げた。③代謝研究室では口腔乾燥症状の原因を明らかにしていくことで健康長寿社会や高齢者自身の生活の質の向上の実現を目指す研究を推進している。今年度は老化に伴い生じる口腔乾燥症状の原因について、老化に伴い発現が上昇するシアル酸転移酵素遺伝子とシアロ糖鎖の増加には正の相関があることを見出した。④免疫研究室では肺気腫のモデルマウスを樹立し、ARF-DTRマウスと組み合わせて解析を行い、肺気腫病態の進行に細胞老化がどのような役割を持つのかについて解析し、老化細胞が肺気腫の治療・予防に有効な創薬標的となり得ることが強く示唆す知見を得ている。

部長グループ：丸山光生、坂本明彦、亀井優香、保田 朋波流
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

老化に伴う免疫系の生体防御機能の低下が感染症をはじめとする高齢者を脅かす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のかを明らかにする事が健康長寿社会の実現に向けた喫緊の課題の一つになっている。私たちは免疫組織に特異的に発現するグアニンヌクレオチド交換因子のひとつである Zizimin2 /Dock11(Ziz2)とそのファミリーに着目して B 細胞を中心とした獲得免疫系の老化機構の解明を続けている。今年度は腹腔に存在する B 細胞で、平常時の免疫グロブリン M (IgM) 抗体の供給源とされている B-1a 細胞で、加齢に伴って Ziz2 の発現が低下する J 事と細菌感染の一つである肺炎球菌の感染防御に関わる IgM 産生との関連について解析した。また今年度から老化した免疫担当細胞を可視化する事で差別化し、選択的に除去する事ができるモデルシステムを構築し、細胞レベルでの変化が免疫系の老化にどのような影響を及ぼすのかを確認できるか病原体感染防御能やワクチン効果等を含む生理的役割を議論する。

研究結果と考察

近年、加齢に伴って感染防御に重要な IgM の量が減ることが示唆されていたので、先ず私たちは B-1a 細胞での Ziz2 の発現を定量 PCR で調べた。その結果、若齢マウス (2~4 ヶ月齢) に比べ、老

齢マウス (18 ヶ月齢以上) の方が Ziz2 の発現量が低い事が判明した。B-1a 細胞には Ziz2 だけでなく Zizi3 も発現し、いずれも CDC42 を活性化することから、Ziz2,3 のダブルノックアウトマウス (DKO) を作製し、腹腔 B-1a 細胞由来の肺炎球菌の感染防御に関わる IgM の産生細胞数を調べた結果、DKO で IgM の産生細胞数が少ないことが明らかになった。さらに肺炎球菌に対する抵抗性を Ziz2,3DKO で解析したところ、DKO の方が肺炎球菌に対する抵抗性が低い傾向が見られたが IgM を投与することで回復した。以上により、肺炎球菌に対する抵抗性については B-1a 細胞における Ziz2 の関与が明らかとなり、肺炎球菌の感染を予防する上で重要なことが示唆された。

モデルマウスに関する研究は既に先行研究で老化細胞の可視化には基質を、除去にはジフテリア毒素 (DT) の投与を必要としたトランスジェニックマウスが存在しているので、今回は同じく老化細胞遺伝子座の下流に遺伝子発現を妨げないようにマーカー遺伝子と DT 受容体遺伝子をノックインしたモデルマウスの作成を試みることにした。

参考文献

Sakamoto A et al., Involvement of Zizimin2/3 in the age-related defect of peritoneal B-1a cells as a source of anti-bacterial IgM. *Int Immunol*. Nov 1; 29(9): 431-438, 2017

部長グループ：丸山光生、杉本昌隆、川口耕一郎、金 湘殷
個体老化における機能低下と炎症反応の分子機構に関する研究

研究目的と背景

分子、細胞レベルで細胞の分裂や増殖を指標に発展した基礎老化研究、すなわち細胞老化を中心とした研究の多くは *in vitro* の実験で明らかにされてきた。一方で私たちの体を構成する細胞単位での老化が組織（臓器）あるいは個体レベルの老化とどのように関連するのかは近年、細胞、組織の老化と個体老化との関連性に関する研究として、老化した細胞が分泌する因子や血中など体内に存在する液性因子が組織、器官の老化を制御していること（SASP：細胞老化関連分泌現象）による老化制御が明らかになるにつれ、炎症反応の分子メカニズム、あるいはその改善につながる栄養介入を含めた代謝、生理機能解析とキーワードにする研究が注目されている。そこで、今年度は通常は感染、損傷から保護するために必須なプロセスである炎症が加齢とともに慢性化するメカニズムについて、一つには病原体侵入の第一のバリアと言われる皮膚の自然老化のメカニズムの解析と他方、炎症関連疾患に抑制、治療効果が期待される栄養介入物質としての水溶性イソフラボンを用いたマウスマクロファージ細胞株（Raw264.7 細胞）における抗炎症作用メカニズムの解明を目標とした。

研究結果と考察

皮膚の老化は紫外線による老化（光老化）に比べて加齢に伴う自然老化に関

しての知見は少ない。そこで、まず加齢育成マウス（24 ヶ月齢）の皮膚において SASP 因子の発現量を realtime PCR 法にて検証したところ、老齢マウスの皮膚においては IL-1 β 、IL-18、TNF α 遺伝子などの発現量が顕著に増加していた。また病的にも真皮層への炎症性細胞の浸潤がみられたので、炎症発生の機構について今後も解析を継続する。一方、炎症抑制効果については Raw 264.7 細胞株を用いて水溶性イソフラボンを前処理する事で LPS に対する応答性の変化を検証した。結果は NO や IL-1 β および IL-6 等の炎症性サイトカインの発現量が遺伝子、蛋白レベルの双方で低下したことを見だし、誘導される一酸化窒素シンターゼ（iNOS）も抑制的に制御されていることが判明した。さらに水溶性イソフラボン処理する事で LPS 刺激に対して NF- κ B（NF- κ B）の核への移行を阻害することを通して NF- κ B の転写活性を抑制していることも明らかにした。これら一連の結果は水溶性イソフラボンに見られた抗炎症効果は今回、用いたマウスマクロファージ Raw264.7 細胞株が活性化することで NF- κ B の核移行を介した iNOS が発現抑制されることで、過剰な NO 産生が減少する結果としてみられる抗炎症効果ではないかと考察している。今後は自然加齢マウスを用いての加齢に伴って惹起される慢性炎症に対する抗炎症効果の解析を続けたい。

代謝研究室：室長 山越貴水,研究補助 飯田万由,西島里咲,村松加代

口腔乾燥症状の原因究明に関する基礎研究

唾液は口腔内だけでなく全身の機能に非常に重要な役割を果たしている。しかし、多くの高齢者において、唾液の分泌量の減少や唾液の粘性亢進が観察され、口腔内が乾燥する口腔乾燥症状を示す。口腔乾燥は口腔衛生状態を悪化させ虫歯や歯周病などの口腔疾患を生じさせるだけでなく、感染症や誤嚥性肺炎などの発症リスクを高め全身に影響を及ぼす。このため、口腔乾燥症状の原因を明らかにしていくことが高齢者の健康長寿を実現するうえで非常に重要である。

私達は、モデル動物としてマウスを用い、唾液を分泌する唾液腺の一つの顎下腺を研究対象として、唾液粘性物質であるグリコサミノグリカンやムチンの老化による変化についてこれまで解析を行ってきた。前年度の研究結果から、マウスの顎下腺において若齢では発現せず、老齢においてのみ発現する酸性のムチンが存在する可能性が示唆されていたため、本年度は、老齢マウスの顎下腺において新たに発現するムチンのコアタンパクの同定を試みた。酸性ムチンは、ムチンの粘性を高める働きがあることが知られているため、唾液粘性亢進の一因となっている可能性がある。しかし、ムチンのコア蛋白質は分子量の 50-80%

を占める豊富な糖鎖によって覆われており、質量分析と免疫ブロット法を用いた解析は困難を極めた。コアタンパク質同定には至らなかったが、高分子糖タンパク質を上手く分離する方法である分子マトリクス電気泳動（SMME）を用いた解析において、老齢マウスにおいてのみ発現すると考えられる酸性のムチンは分泌型であることが示唆された。また、マウスの顎下腺では一生を通じて Muc10 が発現しているが、SMME 法を用いた Muc10 の同定に成功すると同時に、老齢マウスにおいてのみ発現するムチンは Muc10 でないことが明らかになった。更に、前年度の解析から、老齢マウス特異的に発現する酸性ムチンの糖鎖の殆どはシアロ糖鎖であることが分かっていたが、本年度の解析から、老化により幾つかのシアル酸転移酵素遺伝子の発現が上昇することとシアロ糖鎖の増加との間にやはり正の相関がみられることが確かめられた。

以上のことから、老化により顎下腺で起こる変化が、口腔乾燥症状の大きな特徴の一つとして知られる唾液粘性増加の一因となっていることが示唆された。

免疫研究室：杉本昌隆、三河隆太

呼吸器の加齢性変化と疾患メカニズムに関する研究

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、増殖停止とともに SASP（senescence-associated secretory phenotype）と呼ばれる特異的な分泌表現型を示す。現在では SASP を介した老化細胞の細胞非自律的機能が加齢に伴う生体機能の変化に関与していると考えられている。

これまでに本研究室では、生体から特異的に老化細胞を排除可能なマウス（ARF-DTR マウス）を樹立し、呼吸器の加齢性変化に肺組織内に蓄積する老化細胞が重要な役割を持つことを報告した。

肺組織の老化は、他の組織同様に様々な疾患が生じるリスクを高める

と考えられている。そこで平成 29 年度は、現在先進国で死因の上位を占める肺気腫のモデルマウスを樹立し、ARF-DTR マウスと組み合わせて解析を行い、肺気腫病態の進行に細胞老化がどのような役割を持つのかについて解析を行った。

肺気腫モデルとしてエラストアーゼ吸入による肺障害モデルを作製した。エラストアーゼをマウスに吸入させると、重篤な肺気腫が誘導され、呼吸機能の低下が見られたが、老化細胞を排除したマウスでは、エラストアーゼによる肺胞壁の崩壊や呼吸機能の低下は顕著に抑制された。また肺気腫病態の進行に重要である組織内炎症も、老化細胞を排除したマウス組織では軽減されていた。これらの結果から、少なくとも肺気腫のような呼吸器疾患においては、老化細胞が炎症を惹起しやすい環境を形成することにより病態の進行を加速させる働きを持つこと、そして老化細胞が肺気腫の治療・予防に有効な創薬標的となり得ることが強く示唆された。

参考文献

Hashimoto M, et al., Elimination of p19^{ARF}-expressing cells enhances pulmonary function in mice. JCI insight 1: e88057. 2016.

研究業績（老化機構研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Takahashi D, Suzuki H, Kakei Y, Yamakoshi K, Minami Y, Komori T, Nishita M
Expression of Ror2 Associated with Fibrosis of the Submandibular Gland.
Cell Struct. Funct., 42(2), 159-167, 2017.

Suzuki Y, Sato T, Sugimoto M, Baskoro H, Karasutani K, Mitsui A, Nurwidya F,
Arano N, Kodama Y, Hirano SI, Ishigami A, Seyama K
Hydrogen-rich pure water prevents cigarette smoke-induced pulmonary
emphysema in SMP30 knockout mice.
Biochem Biophys Res Commun. 492. 74-81. 2017.

Sakamoto A, Matsuda T, Kawaguchi K, Takaoka A, Maruyama M
Involvement of Zizimin2/3 in the age-related defect of peritoneal B-1a cells as a
source of anti-bacterial IgM.
Int. Immunol. Nov 1; 29(9): 431-438. 2017

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. Repir. J, 11(6), 915–924, November 2017

2. 総説

Choo DW, Goh SH, Cho YW, Baek HJ, Park EJ, Motoyama N, Kim TH, Kim JY,
Kim SS
CHK2 is involved in the p53-independent radiosensitizing effects of valproic acid.
Oncol Lett, 13, 2591-2598, 2017.

Maruyama M

老年医学を支える基礎老化研究, 序文

Geriatric Medicine 老年医学, Vol.55 (5):469-470, 2017

坂本明彦、船津高志

全反射蛍光顕微鏡による細胞膜受容体 MPL 二量体の 1 分子イメージング.

生体の科学, 68 (5): 384–385, 2017

坂本明彦、丸山光生

細胞老化と個体老化.

病理と臨床 36(2): 98–101, 2018

三河隆太、杉本昌隆

老化細胞除去モデルと senolytic 薬 Semigenetic and pharmacological approaches to senolysis.

Anti-Aging Medicine, 13, 30-36, 2017.

杉本昌隆、三河隆太

組織の老化と細胞老化－Pathophysiological roles of cellular senescence in tissue aging

BIO Clinica, 32, 756-760, 2017.

三河隆太、杉本昌隆

細胞老化研究の新展開－老化細胞は新たな創薬標的となるか－

Biomedical Gerontology, 41, 31-37, 2017.

杉本昌隆

細胞老化研究の新展開—The light and dark sides of cellular senescence—
Geriatric Medicine

老年医学, 55, 477-480, 2017.

3. 著書、Chapters

山越貴水

糖鎖制御異常を介したポリコーム蛋白質のがん促進機構

日本基礎老化学会会誌, 41(3), p37-40, 2017.

4. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

6. 特許申請、取得状況

発明者:森田悠治、城内健太、藤原大介、丸山光生

発明の名称:乳酸菌を有効成分とする加齢による網膜細胞死を抑制するための組成物

出願年月日:2016 年 9 月 9 日

出願番号:特願 2016-177056

出願人:国立長寿医療研究センター、小岩井乳業株式会社、キリン株式会社R&D本部健康技術研究所

発明者:丸山光生、坂本明彦、森田悠治

発明の名称:ラクトバシラス・パラカゼイ乳酸菌を有効成分とする加齢による身体活動量低下を抑制するための組成物

出願年月日:2017 年 11 月 30 日

出願人:国立長寿医療研究センター、キリン株式会社R&D本部健康技術研究所

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

杉本昌隆

組織老化・疾患における細胞老化の役割.

第3回川島カンファレンス, 2017 年 11 月 11 日, 岐阜県.

杉本昌隆

Roles of cellular senescence in pulmonary aging and disease.

第49回日本結合組織学会学術大会, 2017 年 6 月 17 日, 三重県.

2. 国際学会発表

Sakamoto A, Takaoka A, Maruyama M

Putative function of Zizimin2/3 in Immunosenescence of peritoneal B-1a cells as a source of natural antibacterial IgM.

KEYSTONE SYMPOSIA, February 27, 2017, Texas.

Hayakawa T, Kimura Y, Nagasaki M, Nagata M, Morimoto R, Maruyama M, Motoyama N

P21 negatively regulates DNA damage-induced pro-inflammatory response during senescence.

KEYSTONE SYMPOSIA, February 27, 2017, Texas.

Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M

Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2.

Gordon Research Conferences (Aging), July 12, 2017, Switzerland.

Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M

Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2.

Keystone Symposia, May 18, 2017, 横浜.

Maruyama M, Sakamoto A, Matsuda T, Matsui N, Takaoka A

Concomitant deletion of Zizimin2/3 to mimic impaired protective immunity in aged mice.

Gordon Research Conferences (Aging Biology of), July 11, 2017, Les Diablerets, Switzerland.

Maruyama M, Jounai K, Sakamoto A, Morita Y, Kirisako T, Matsuda T, Fujiwara D.

A novel food constituent potentially mitigates inflammation in physiologically aged mice.

IAGG 2017 World Congress, July 24, 2017, San Francisco, CA, USA.

Sakamoto A, Matsui N, Takaoka A, Maruyama M

Involvement of Zizimin2 in the defective natural antibacterial antibody production by aged peritoneal B-1a B cells.

2017 Aging Seminar between Korea and Japan, August 24, 2017, Korea.

Maruyama M, Sakamoto A, Takaoka A

Zizimin2-deficient mice showing defective production of natural antibacterial immunoglobulin M and interruption in B-cell development.

19th GCC, September 14, 2017, Venice, Italy.

Akatsu H, Arai S, Tanaka T, Kamiya A, Arakawa K, Masaki Y, Tanaka H, Kanematsu T, Ohara H, Inoue K, Xia J-Z, Maruyama M

Investigation on the effect of aminolevulinic acid on intestinal environment of aging mice.

39th ESPEN CONGRESS, Sep 10, 2017, Hague, Nederland.

Muguruma K, Ogiso N, Tomita K, Takano S, Yamaguchi K, Matsui N,
Maruyama M

Search for definitive senescence biomarkers in mice: What changes will occur in naturally-aged mice?

68th AALAS National Meeting, Oct 17, 2017, Austin, USA.

Ogiso N, Muguruma K, Tomita K, Takano S, Tamura S, Tanii S, Maruyama M
Development of naturally-aged rats and elucidation of aging mechanism.

68th AALAS National Meeting, 17 October, 2017, Austin, USA.

3. 国内学会発表

丸山光生

腸管免疫系の加齢変化における大豆関連成分摂取効果に関する研究

不二たん白研究発表会, 2017 年 5 月 30 日, 東京都

丸山光生

高齢者の健康寿命延命をめざす基礎免疫老化研究～B 細胞における加齢変化と免疫老化～

旭川医科大学 第 17 回教育研究推進センター講演会, 2017 年 10 月 20 日, 旭川市

Kawaguchi K, Sugiyama D, Maruyama M

The analysis of molecular mechanisms underlying inflammatory reactions in chronological skin aging

第 40 回 日本分子生物学会年会 ポスター, 2017 年 12 月 6 日, 神戸市

川出義浩、赤津裕康、丸山光生、大原弘隆

ペクチン含有濃厚消化態流動食（ハイネーゲル®）の長期投与が栄養状態および消化管に及ぼす影響

第 33 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 ポスター, 2018 年 2 月 22 日, 横浜市

三河隆太、杉本昌隆

細胞老化の除去による肺気腫病変の抑制

ConBio 2017, 2017 年 12 月 8 日, 神戸

三河隆太、鈴木洋平、丸山光生、佐藤 匡、杉本昌隆

Clearance of senescent cells ameliorates emphysema-associated pathologies in mice

第 30 回日本老年学会総会, 2017 年 6 月 15 日, 名古屋

Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M

Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyl-transferase C2GnT2

第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 15-16 日, 名古屋.

坂本明彦、松田剛典、高岡晃教、丸山光生

Involvement of Zizimin2 in the defective antibody production by aged peritoneal B-1a B cells

第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 16 日, 名古屋

城内健太、森田悠治、松田剛典、桐浴隆嘉、坂本明彦、藤原大介、丸山光生

Effects of food constituents on immunosenescence in physiological aged mice

第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 16 日, 名古屋

長友涼介, 岡田泰毅, 筒井陽仁, 赤津裕康, 丸山光生, 井之上浩一

ピコリルアミン誘導体化 LC-MS/MS を用いた腸内細菌叢解析を目指した短鎖脂肪酸の網羅的分析法の開発

日本医用マススペクトル学会第 42 回年会, 2017 年 9 月 15 日, 東京

川出義浩、赤津裕康、丸山光生、大原弘隆

ペクチン含有濃厚消化態流動食(ハイネーゲル®)の長期投与が栄養状態および消化管に及ぼす影響

第 33 回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2018 年 2 月 22 日, 横浜市

岡田泰毅, 長友涼介, 赤津裕康, 丸山光生, 井之上浩一

Pattern analysis of branched-chain short-chain fatty acids by derivatized LC-MS/MS 誘導体化 LC-MS/MS 法によるマウス便中の分岐鎖短鎖脂肪酸のパターン解析

日本薬学会第 138 年会, 2018 年 3 月 27 日, 金沢市

4. その他、セミナー等

丸山光生

基礎老化研究の最前線と健康長寿社会への取り組み
第 13 回加齢皮膚医学研究会, 2017 年 4 月 29 日, 福島市

保田朋波流

Epstein-Barr ウイルスによる B 細胞リンパ腫発症とその免疫監視機構
第 21 回 生物機能研究会, 広島大学健康長寿研究拠点(HiHA), 2017 年 6 月 17 日, 東広島市

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, 2017 年 10 月 26 日, 春日井市

丸山光生

栄養・代謝と老化について
中部大学 老化基礎医科学 第 9・10 時限, 2017 年 11 月 2 日, 春日井市

丸山光生

老化研究の最前線 ～老化と免疫系、栄養との関わりについて～
至学館大学 健康科学部栄養学科 3 年講義, 2017 年 11 月 21 日, 大府市

丸山光生

老化の研究の最前線 ～老化と免疫系の関わりについて～
あいちシルバーカレッジ講義, 2017 年 11 月 28 日, 名古屋市

丸山光生

老化の研究の最前線 ～老化と免疫系の関わりについて～
あいちシルバーカレッジ講義, 2018 年 1 月 18 日, 東海市

丸山光生

加齢に伴う腸内環境の変化と防御免疫機能低下に関する研究
農林水産省「知」の集積と活用の中 H29 年度第 3 回公開ワークショップ,
2018 年 1 月 26 日, 中央区

丸山光生

老化の研究の最前線 ～老化と免疫系の関わりについて～
あいちシルバーカレッジ講義, 2018 年 2 月 2 日, 名古屋市

丸山光生

自然加齢マウスの皮膚から学ぶ基礎老化研究の現状と応用
第一三共ヘルスケア社内報告会, 2018 年 2 月 9 日, 東京

丸山光生

腸内細菌と免疫老化研究
中部大学ヘルスサイエンスヒルズシンポジウム, 2018 年 2 月 16 日, 春日井市

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

山越貴水（代表）481 万円（総額 481 万円）
学術研究助成基金助成金(基盤研究 C(一般))
糖鎖シグナルを介した発癌防御機構の解明

杉本昌隆（代表）110 万円（総額 370 万円）
文部科学省科研費 基盤研究（C）
細胞の老化に起因する肺組織の病態解明

4. 財団、その他

丸山光生（代表）500 万円（総額 500 万円）
公益財団法人不二たん白質研究振興財団
大豆関連タンパク成分を利用した高齢者の免疫機能低下の分子機構の解明に
関する研究

杉本昌隆（代表）120 万円（総額 540 万円）
長寿科学振興財団

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

磯部 智康

津川 陽司

特任研究員

伊藤 美由紀

実験補助員

金森久美子

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

前年度に行ったセットアップもほぼ終了し、通常に研究活動ができるようになった。まだ、必要な機器は存在するが、一応実験が行えるようになった。また、研究所 4 階の老化制御研究部実験室以外の実験場所として共通実験施設が本研究所には存在する。即ち、放射線実験施設や実験動物施設等である。感染実験室も含めて、種々の申請等の業務をこなし、これら共通実験も滞りなく行えるようになった。また、機関内共同研究や、機関外共同研究も徐々にはじまった。機関内共同研究としては、独自性の高い、ナノテクノロジーを用いて精製した、種々のタンパク質を「共同利用推

進室 渡辺淳室長」との共同研究により同タンパク質の同定を行ったことがあげられる。

機関外共同研究としては東京工業大学小林教授との共同研究で、世界的に合成が難しいといわれるプロスタグランジン誘導体の合成を行っていた、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 29 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新規糖代謝制御シグナル

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: 津川陽司、伊藤美由紀、今井剛

新規糖代謝制御シグナルに関する研究

要約；健康寿命の延伸・認知症に関わる因子として糖代謝は極めて重要である。糖代謝に最も重要なホルモンはインスリンである。そのため、インスリンの新規分泌促進機構について解析をおこなった。その結果新規因子 ATIS1 は β 細胞内、試験管内、マウス、糖尿病患者において重要な役割を果たしていた。

はじめに；健康寿命の延伸において、また、認知症における双方のキーパラメータとして、糖代謝が挙げられる。その糖代謝制御の中心的役割を果たすインスリンの分泌促進機構についての研究をおこなっている。

インスリンの分泌促進因子は数多く存在する。しかし、最も強力な促進物質の一つとしてアルギニンが知られている。アルギニンは準必須アミノ酸の一つで、基本的に食物から摂取する。そのため、まず野生型 C57BL6J マウスを摂食後、絶食させた。継時的に血中アミノ酸・糖・インスリン濃度の測定を行った。インスリン濃度は摂食直後を最大値として、減少曲線を描いた。糖は同様に減少したが、後半は糖新生により、減少が見られなかった。また、インスリンと同様の減少傾向を示したものはアルギニンのみであっ

た。他アミノ酸（特にインスリン分泌促進活性を有する）は全く異なった。そのため、摂食・絶食状態によるインスリン分泌制御因子としてアルギニンがアミノ酸・糖の中で最も有力であることが判明した。

アルギニンによるインスリン分泌促進は糖依存的であることが知られている。そのため、糖・アルギニンを除いた培地を作成し、培養インスリン分泌細胞を用いて糖・アルギニンのインスリン分泌制御活性を測定した。その結果、アルギニンによるインスリン分泌促進は糖依存的であったが、逆に糖によるインスリン分泌促進はアルギニン依存的であった。

インスリンの細胞内局在について解析したところ、アルギニンを培地から除くとインスリンは小胞体に集まることを見出した。培地にアルギニンを投与すると、秒単位でゴルジ体、分泌顆粒へ移動することが判明した。よって、アルギニンの受容体は小胞体に存在し、インスリンの小胞体局在活性を有すること、そしてアルギニンにより乖離して分泌することが考えられた。同アルギニン受容体を ATIS1 として、ATIS1 の精製・同定に成功した。

老化制御研究部遺伝子治療研究室：中西章、磯部智康、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、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。

結果：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。本研究室で作成した新規ディスプレイプラットフォームで提示されたランダムペプチドライブラリーを利用し、組換え TfR に結合できるペプチドモチーフをスクリーニングした。T7 ファージディスプレイにより、組換え TfR に結合するモチーフを 13 種選び、昨年度開発した能動的な経内皮細胞輸送（トランスサイトーシス）活性を検出できる *in vitro* BBB モデルを利用して透過性を検証したが、弱い透過性のみ検出された。この結果から現在のスクリーニング法の改良が必要と判断し、本年度はファージディスプレイ法より高速でかつ簡便なりボソームディスプレイ法によりランダムペプチドライブラリーから TfR 結合性モチーフの選定を行っている。今後は、スクリーニング中の各モチーフについて TfR との結合性を細かく解析

しつつ、BBB 透過性検討に耐えうるモチーフの単離を目指す。

養護施設等での集団感染で大きな問題となっているヒトノロウイルスは、細胞培養系での増殖が難しいためにウイルス学的な種々の手法でワクチン・抗ウイルス剤開発ができない。ノロウイルスモデルとして使用されているマウスノロウイルス（MuNoV）は、マウス個体から単離された直後は培養細胞での増殖が極めて遅いが、継代後には培養細胞に馴化して、速く増殖するようになる。この細胞馴化過程でのウイルスゲノム全長での遺伝子変異を次世代シーケンスで網羅的に解析し、MuNoV が細胞培養馴化に関わる遺伝子変異動態を明らかにした。この解析により、ヒトノロウイルスの培養馴化についても特定の遺伝子変異の導入により細胞増殖効率を促進させる可能性が示唆された。また、馴化の際に蓄積する変異のコンセンサス配列を基にして、全ての変異を単離直後の配列に集約した MuNoV は、全く増殖能を失っていたところから、馴化変異の逆行によるウイルス弱毒化も可能であることが明らかになった。MuNoV ベクター作成にむけた基盤研究では、パッケージング細胞作成に向けて各ウイルス遺伝子を誘導発現できる各種細胞株を作成した。今後は、これら細胞を用いベクター作成を試みる

研究業績（老化制御研究部）

I 論文発表

1 原著

Kitamoto T, Takai-Todaka R, Kato A, Kanamori K, Takagi H, Yoshida K, Katayama K, Nakanishi A

Viral Population Changes during Murine Norovirus Propagation in RAW 264.7 Cells.
Front. Microbiol. 2017 Jun 15;8:1091.

2 総説

なし

3 著書、Chapters

小関弘恵知、中西章

血液脳関門の薬物透過性の評価法

DDS 先端技術の製材への応用開発 技術情報協会, p477-483, 2017

片山和彦、芳賀慧、藤本陽、戸高玲子、村上耕介、村田和義、中西章

ノロウイルス研究の最近の知見

感染制御と予防衛生

メディカルレビュー社, p4-11, 2017

中西章

ウイルス学会関連研究集会紹介 第 36 回アメリカウイルス学会

ウイルス

日本ウイルス学会 第 67 巻, 第 2 号, p173-176, 2017

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 (2014-2016)

Guest editor of Letters in Applied NanoBioScience

Marquis Who's Who Publication 2013, 2014, 2015, 2016

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

Nakanishi A, Takai-Todaka R, Kato A, Katayama K, Kanamori K, Kitamoto T

Viral Population Changes during Adaptation of Murine Norovirus to RAW 264.7 Cell-Culture Conditions.

36th Annual Meeting of American Society for Virology, June 25, 2017, Madison, WI, USA

3. 国内学会発表

磯部智康、田崎秀尚、金森久美子、中西章

ヒトアストロウイルス感染時のストレス顆粒様構造体の形成

第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 25 日, 大阪

小関弘恵知, 北本卓也, 吉田 和央, 中西 章

血液脳関門透過モチーフに関する探索研究

第 38 回日本分子生物学会, 2017 年 12 月 6 日, 神戸

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

中西 章（分担）140 万円

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）160 万円

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
下痢症ウイルスの病原性発現機構の解明及び新規治療薬・ワクチン等の開発に向けた研究

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

今井剛（分担）200 万円

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「機能性磁性ナノビーズ技術を基盤とする
難治性疾患におけるタンパク質分解機構の解明と新規治療法の開発」

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

津川陽司(代表) 143 万円(総額 273 万円)

平成 28 年度 文部科学省科研費 研究活動スタート支援

膵β細胞自己増殖のメカニズム解明に基づいた糖尿病治療の開発

3 財団、その他

なし

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

田之頭 大輔

客員研究員

大澤 匡弘 (平成 29 年 4 月～)
(名古屋市立大学薬学部准教授)

研究生

今井 萌乃 (平成 29 年 4 月～)
(金城学院大学薬学部 5 年)

研究補助員・事務補助員

佐治 多美子
柏田 舞波
竹井 喜美
新村 美希

(2) 平成 29 年度研究活動の概要

本研究部は、平成 27 年 1 月に新設研究部として発足したが、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を開始した。その後、平成 27 年 9 月に生理学研究室長、平成 28 年 1 月に神経内分泌学室長がそれぞれ着任し、平成 28 年 4 月には流動研究員も新たに加わり、平成 28 年度から本格的に研究活動を開始した。

本研究部では、認知症のリスク要因として注目される糖尿病が、認知機能障害を誘導するメカニズム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。

これまでの解析から、2 型および 1 型の糖尿病モデルマウスの認知機能低下に海馬インスリン受容体基質のリン酸化の基礎レベルの変化が連動することを見出していた。

本年度は、次世代型アルツハイマーモデルマウスの認知機能障害にも同様な変化が伴うことを見出した。

さらに、ドラッグリポジショニングの研究として、糖尿病の第一選択薬であるメトホルミンの長期投与は、2 型糖尿病を伴う認知機能の低下を血糖値降下作用とは独立に海馬インスリン受容体基質の特定セリン残基の活性化を介して改善することを明らかにした (In press)。

統合加齢神経科学研究部（生理学研究室・神経内分泌学研究室）
田口明子、徳永暁憲、多田敬典、田之頭大輔、今井萌乃、
佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美

糖尿病に伴う認知機能障害誘導機構の解明

これまでに、DIO マウスおよびインスリン欠損 1 型糖尿病モデル (STZ) マウスの認知機能障害に海馬インスリン受容体基質 2 (Insulin Receptor Substrate 2: IRS2) のリン酸化の基礎レベルの変化が連動することを突き止めていた。

次世代型アルツハイマーモデル (APPKI) マウスは、半年齢で認知機能の衰退を示す事が報告されていたが、本センター環境下の同じタイムポイントでは、認知機能の低下を観察できなかった。そのため、さらに加齢させることで認知機能障害を誘導した。この時の APPKI マウスの代謝パラメーター（体重、血糖値、耐糖能）について解析を行ったところ、APPKI マウスの体重は同齢対照群と比べても変化は無く、血糖値も正常であったが、Glucose Tolerance Test (GTT) の結果は、同齢対照群に比べ、APPKI マウスの耐糖能は有意に高い事が明らかとなった。さらに、この際、糖尿病モデルマウスと同様に、海馬 IRS2 のリン酸化の変化が伴うことを突き止めた。これらの結果から、海馬 IRS2 のリン酸化の変化は、糖尿病の種類、有無とは独立に、認知機能の低下に連動する事が示唆された。

一方、近年、ドラッグリポジショニ

グとして、糖尿病治療薬が認知機能へ与える効果について関心が高まっている。我々は、中年期 DIO マウスの認知機能低下に海馬 IRS2 のリン酸化の変化および海馬における神経新生の低下、ミクログリアの活性化上昇が観察されることを見出していた。メトフォルミンは、ビグアナイド系の主要な糖尿病治療薬であるが、我々は、メトフォルミンが中年期 DIO マウスのこれらの表現型に与える影響について解析を行った。その結果、長期のメトフォルミン経口投与は、中年期 DIO マウスが示す認知機能および海馬神経細胞新生の低下を改善し、ミクログリアの活性化を有意に抑制した。さらにこの時、海馬において、メトフォルミンの標的分子 AMPK、aPKC λ のスレオニン残基および IRS1 の特定セリン残基のリン酸化が惹起されることを明らかにした。興味深いことに、この際、中年期 DIO マウスの血糖値増加は改善されなかった。これらの結果から、長期メトフォルミン投与は、血糖値降下作用とは独立に海馬 AMPK/IRS1/aPKC λ のセリン/スレオニンの活性化を介して、認知機能改善効果を発揮する事を明らかにした (In press)。

研究業績（統合加齢神経科学研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Mamada N, Tanokashira D, Ishii K, Tamaoka A, Araki W

Mitochondria are devoid of amyloid β -protein ($A\beta$)-producing secretases: Evidence for unlikely occurrence within mitochondria of $A\beta$ generation from amyloid precursor protein.

Biochem Biophys Res Commun, 486(2):321-328, 2017

Tada H, Miyazaki T, Takemoto K, Jitsuki S, Nakajima W, Koide M, Yamamoto N, Taguchi A, Kawai H, Komiya K, Suyama K, Abe H, Sano A, Takahashi T.

Social isolation suppresses actin dynamics and synaptic plasticity through ADF/cofilin inactivation in the developing rat barrel cortex.

Sci. Rep., 8471, 2017

Takemoto K, Iwanari H, Tada H, Suyama K, Sano A, Nagai T, Hamakubo T, Takahashi T.

Optical inactivation of synaptic AMPA receptors erases fear memory.

Nat Biotechnol, Jan;35(1):38-47, 2017

Tanokashira D, Kurata E, Fukuokaya W, Kawabe K, Takeuchi H, Kashiwada M, Nakazato M, Taguchi A.

Metformin treatment ameliorates diabetes-associated decline in hippocampal neurogenesis and memory via phosphorylation of insulin receptor substrate 1.

FEBS Open Bio, In press

2. 総説

田之頭大輔、田口明子

糖尿病治療薬アクトスの認知症への応用

Medical Science Digest, 43(10):2-4

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

糖尿病と認知症を結ぶ潜在的経路としての脳インスリンシグナルの機能
第 30 回日本老年学会総会 第 59 回日本老年医学会学術集会, 2017 年 6 月 14-16
日, 名古屋市

田口明子

糖尿病関連疾患として捉える認知症の誘導機構における脳インスリンシグナルの関与
関西医科大学Diabetes Research Forum, 2017年10月25日, 大阪市

Tanokashira D, Fukuokaya W, Tokunaga A, Saji T, Kurata E, Taguchi A

Neural insulin signaling correlates with diabetes-related cognitive impairment.
Cell Symposia-Metabolic Disease Therapies, October15-17, 2017, San Diego,
USA

Taguchi A

Altered neural insulin signaling correlates with both age and diabetes-related
cognitive impairment.

The International Symposium on Dementia 2017, November 25, 2017, Kuala
Lumpur, Malaysia

2. 国際学会発表

Tada H, Tokunaga A, Tanokashira D, Kashiwada M, Saji T, Imai M, Taguchi A
Analysis of synaptic insulin signaling in the hippocampus and prefrontal cortex in diabetes-associated cognitive impairment.
Society of Neuroscience, November 14, 2017, Washington DC, USA

Tokunaga A, Tada H, Tanokashira D, Saji T, Kashiwada M, Taguchi A
Mechanisms linking between impaired hippocampal insulin signaling and diabetes-associated cognitive dysfunction.
Society of Neuroscience, November 15, 2017 Washington DC, USA

3. 国内学会発表

田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子
糖尿病に付随する脳インスリンシグナルの変容 がアルツハイマー病態に与える影響
第26回海馬と高次脳機能学会, 2017年9月30-10月1日, 名古屋市

徳永暁憲、多田敬典、田之頭大輔、佐治多美子、柏田舞波、田口明子
糖尿病モデル動物を用いた認知機能障害発症喜寿尾の解析.
第26回海馬と高次脳機能学会, 2017年9月30-10月1日, 名古屋

田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子
糖尿病による脳インスリン様シグナルを介したアルツハイマー病態増悪化機構の検討
第32回日本糖尿病合併症学会, 2017年10月27-29日, 東京

田之頭大輔、福岡屋航、倉田栄子、中里雅光、田口明子
神経細胞新生に対する糖尿病薬の効果についての検討
The effect of diabetes drug on adult hippocampal neurogenesis.
第13回成体脳のニューロン新生懇談会, 2017年12月2日, 福岡市

田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子
糖尿病に伴う脳インスリン様シグナル変容がアルツハイマー病態に与える影響.
第36回認知症学会学術集会, 2017年11月24-25日, 石川

田之頭大輔、徳永暁憲、多田敬典、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子

糖尿病によるアルツハイマー病態増悪化メカニズムの検討

第32回日本糖尿病肥満動物学会，2018年2月23-24，名古屋

徳永暁憲、多田敬典、田之頭大輔、佐治多美子、柏田舞波、竹井喜美、佐藤駿介、齊藤貴志、西道隆臣、田口明子

糖尿病モデル動物を用いた認知機能障害発症機構の解析

第32回日本糖尿病肥満動物学会，2018年2月23-24，名古屋

今井萌乃、田之頭大輔、倉田栄子、福岡屋航、柏田舞波、中里雅光、田口明子

メトフォルミンが海馬依存的認知機能へ与える影響についての検討

第32回日本糖尿病肥満動物学会，2018年2月23-24，名古屋

多田敬典、徳永暁憲、田之頭大輔、柏田舞波、佐治多美子、田口明子

糖尿病に伴う脳内糖代謝シグナル活性異常を介したシナプスを起点とする認知機能障害誘導メカニズムの解析

第95回日本生理学会大会，2018年3月28-30，高松市

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） 728 万円（総額 1716 万円）

文部科学省科研費 基盤研究（B）

アルツハイマー病への移行機構における脳代謝調節経路の役割

田口明子（代表） 390 万円（総額 650 万円）

文部科学省科研費 挑戦的研究（萌芽）

脳の代謝調節因子を制御する化合物の探索

徳永暁憲（代表） 143 万円（総額 507 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）

アデノウイルスベクター及び CRISPR を用いた受精卵遺伝子組換えの効率化

多田敬典（代表） 1209 万円（総額 2457 万円）

文部科学省科研費 挑戦的萌芽研究

糖代謝シグナル異常を介したシナプスを起点とする認知機能障害機構の解明

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

研究生

吉田 裕孝

研究補助員

松崎 三記子

(2) 平成29年度研究活動の概要

長寿医療研究を推進していく上で様々な共同利用機器は必要不可欠であり、当研究室では前年度に引き続き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、ルミノイメージアナライザーAmersham Imager 680を導入し、講習会を行った。さらに、当センターの各研究部・室及び外部の研究機関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、質量分析による微量タンパク質解析法の開発及びヒト血漿中のApoEの翻訳後修飾及び結合タンパク質の解析を行った。

質量分析による微量タンパク質解析法の開発：患者の血液の網羅的解析でマーカー候補となるペプチドの同定率を上げるには、液体クロマトグラフィーでのペプチドの分離条件の検討が必要不可欠であることから、カラム

の選択や流速及びグラジエント等のパラメーターの条件検討を行い、解析方法の最適化を試みた。標品としてリコンビナントApoEを用い、SDS電気泳動後ゲルを銀染色し、得られたApoEのバンドを切り出し、還元アルキル化後、トリプシンで消化した。得られた消化物はC18 column (Magic C18AQ, 0.1 x 300 mm; Michrom Bioresources, Inc.)を用いて、500nl/minといった低流量で流せるHPLCを連結し、高感度質量分析装置LTQ Orbitrap Velos (Thermo Fisher Scientific)によるショットガン分析に供した。質量分析によって得られたデータはProteome discoverer1.3 software (Thermo Fisher Scientific)で Mascot 検索を行いタンパク質の同定を行った。条件検討を行った結果、現在リコンビナントApoE 0.25ugからApoEの配列のほぼ80%の領域をカバーすることが出来た。アルツハイマー病の早期診断法の開発を目的として、先ず、nano-LC/MS/MSをベースとする微量蛋白質の解析・同定システムを構築した。

ヒト血漿中のApoEの翻訳後修飾及び結合タンパク質の解析：アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿中ApoEを調べることで、ApoEの翻訳後修飾や結合タンパク質の同定を試みた。Dynabeads ProteinG (VERITAS)を用い、アルツハイマー病

患者及び認知機能正常者の血漿100ulから、ApoE抗体（A299; IBL）による免疫沈降によって各々ApoEを精製し、さらにApoEとともに溶出されたタンパク質をSDS電気泳動で分離した。ゲルは銀染色し、得られたバンドは切り出し、還元アルキル化後、トリプシンで消化した。得られた消化物は上記で構築したシステムを用い、質量分析装置によるショットガン分析に供した。質量分析によって得られたデータはmascot 検索を行いタンパク質の同定を行った。アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿100ulからそれぞれApoEの配列の約65%及び約70%の領域をカバーすることが出来た。逆に同定出来なかった領域については翻訳後修飾の可能性があり、特にApoEのN末側の同定率が低かったので、アルツハイマー病患者及び認知機能正常者で

違いがないか、さらなる解析を試みている。ApoEとともに溶出されたタンパク質については、Immunoglobulin、Complement C1q、Serum albumin、Coiled-coil domain-containing protein、Probable ATP-dependent RNA helicase、Syntaxin-binding protein、Apolipoprotein L domain-containing protein、Tyrosine-protein kinase Fes/Fps、Potassium voltage-gated channel subfamily KQT member、Protein virilizer homologといったタンパク質が同定されたが、Immunoglobulinが多く同定されており、ProteinGにヒト血液由来のImmunoglobulinが結合し、ApoEとは無関係に溶出された可能性もあるので、今後Immunoglobulinをアフィニティーカラムで除いた上で解析する必要があると考えられた。

研究業績（共同利用推進室）

I. 論文発表

1. 原著

Matsuoka K, Kohara Y, Naoe Y, Watanabe A, Ito M, Ikeda K, Takeshita S.
WALF1 is a cell-surface CTHRC1 binding protein coupling bone resorption and formation.

J Bone Miner Res., in press.

Shirafuji N, Hamano T, Yen SH, Kanaan NM, Yoshida H, Hayashi K, Ikawa M, Yamamura O, Kuriyama M, Nakamoto Y.

Int J Mol Sci.,19(3), 891, 2018.

Mizutani K, Sonoda S, Wakita H.

Ritanserin, a serotonin-2 receptor antagonist, inhibits functional recovery after cerebral infarction.

Neuroreport., 29:54-58, 2018.

2. 総説

Wakita H, Shindo A, Tomimoto H.

What is the Aftermath of Cerebral Microembolism?

J Alzheimers Dis Parkinsonism., 7:375, 2017.

脇田英明、富本秀和

認知症の治療の進歩

神経治療学 2017, 34, 491-494.

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道, 等

認知症の人への運転中止指導
中日新聞, 2017 年 10 月 17 日

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

Wakita H, Takahashi Y, Masuzugawa S, Ito K, Miyasaka H, Sonoda S, Tomimoto H.

Driving performance in patients with Alzheimer's disease, Dementia with Lewy Bodies, and mild cognitive impairment.

XXIII World Congress of Neurology, September 20, 2017, Kyoto

Takahashi Y, Wakita H, Mizutani K, Sonoda S, Tomimoto H.

Spatial and temporal distribution of adiponectin in the rat brain under chronic cerebral hypoperfusion.

XXIII World Congress of Neurology, September 20, 2017, Kyoto

3. 国内学会発表

渡邊 淳.

血漿中のApoEのプロテオーム解析

第36回日本認知症学会学術集会, 2017年11月24日, 金沢

吉田裕孝.

Characterization of extracellular tau

第36回日本認知症学会学術集会, 2017年11月24日, 金沢

高橋雄、宮坂裕之、園田茂、真鈴川聡、富本秀和、脇田英明

ドライビングシュミレーターを用いた認知症患者の自動車運転特性の解析

第59回日本老年医学会学術集会, 2017年 6月, 名古屋

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
吉田裕孝（主任） 117 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