

国立長寿医療研究センター

研究所年報

2019 年度

目 次

1. 運動器疾患研究部	1
2. 再生再建医学研究部	9
3. 幹細胞再生医療研究部	16
4. 口腔疾患研究部	23
5. 老化機構研究部	37
6. 老化制御研究部	54
7. 統合加齢神経科学研究部	59
8. 共同利用推進室	69
9. 実験動物管理室	74
10. バイオセーフティ管理・研究室	84
11. 組織恒常性研究プロジェクトチーム	88
12. 中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム	93
13. 老化ストレス応答研究プロジェクトチーム	99

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・研究開発研究員

馬 凌云

研究生

加治屋 裕基

研究補助員・事務補助員

鈴木 三恵 猪飼 理奈

(2) 2019 年度研究活動の概要

高齢者の運動器機能に関わる疾患は、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、QOL や ADL の低下を招くのはもちろんのこと、要介護のリスク、さらに死亡のリスクが上昇することが明らかとなっている。従って、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と効果の高い抗体医薬などの生物製剤や低分子化合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、後期高齢者に対して十分な治療効果を示す方法は限られており、新しい方策が求められている。また、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、新規治療法の開発に直結した知見も限られている。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、KO 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ことがわかった。そこで、Waif1 に対するモノクローナル抗体を取得し、骨量を増加する抗体をスクリーニングした。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 Emilin2 を同定し、KO マウスの骨解析によりカップリング機能と骨折における骨再生に重要であることを明らかにした。

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、罹患と関連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モデル動物を作製して解析を進めるとともに、先天的変形性膝関節症のマウスの遺伝学的解析から病態関連遺伝子変異を同定し、発症に関する新たな現象を見出し、解析を進めている。

骨代謝制御研究室：竹下 淳、鈴木 三恵

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い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、カップリング因子として同定した Cthrc1 のシグナル伝達機構を明らかにするために受容体として Waif1 を同定し、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得た。

骨芽細胞特異的に Waif1 を欠損したマウスは骨量が増加し、骨形態計測法により骨形成と骨吸収の両方が低下し、骨形成が骨吸収を上回ることによって低骨代謝回転型高骨量を発症することがわかった。また、RANKL 投与実験により骨吸収から骨形成へのカップリング機能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、破骨細胞での Cthrc1 欠損と骨芽細胞での Waif1 欠損は共にカップリング機能障害という表現型を示すことが判明し、破骨細胞が産生する Cthrc1 と骨芽細胞上で発現する Waif1 はカップリング機能において極めて重要であることが示された。

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取得するために、リコンビナント可溶性 Waif1 タンパクを免疫源としてマウスに免疫し、モノクローナル抗体を自作した。ELISA 法、および FACS 解析によるスクリーニング後、ハイブリドーマ細胞の培養上清を ST2 細胞に添加して培養することにより ALP 活性を促進する抗体をスクリーニングし 10 種類の陽性抗体を得た。次に、マウスを用いて大量に抗体を精製し、マウスに皮下投与した。マイクロ CT を用いて骨量を増加する抗体をスクリーニングし、2 種類の陽性抗体を得ることに成功した。また、これら 2 種類の抗体は、血清骨形成マーカーである P1NP の上昇が確認され、内 1 種類は骨形態計測法による骨解析により骨芽細胞数、石灰化速度や骨形成速度など全ての骨形成のパラメーターがコントロールに比べ有意に上昇することが分かった。すなわち、マウスに投与することにより Cthrc1 刺激をミミックし骨形成を促進することで骨量を増加する活性を有する Waif1 抗体を取得することに成功した。

骨代謝制御研究室：竹下 淳、鈴木 三恵

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、休止相で完了する一連の骨改造の繰り返しにより一定の骨量と骨強度が維持される。逆転相において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、マクロファージの役割や存在意義についての詳細は分かっていない。

本研究課題では、これまでに報告されてい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手法を用いて同定しその分子の機能解析を試みた。

マウス骨髄由来マクロファージ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、マクロファージの培養上清を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・精製し、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 は約 150kDa 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。

リコンビナント Emilin2 は ST2 の遊走活性を刺激し、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 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沈着の促進が確認されたことなどから Emilin2 は骨芽細胞分化を促進することがわかった。そこで、CRISPR/Cas9 法により Emilin2 ノックアウトマウスを作出したところ低骨量を発症することが判明した。このノックアウトマウスに RANKL を投与したところ類骨の増加により石灰化が遅延することでカップリング機能が障害されることを突き止めた。さらに、リコンビナント Emilin2 を骨折部位に塗布すると骨折の回復が改善することも分かった。

すなわち、Emilin2 は生理的条件下におけるカップリングで機能するだけでなく骨折などの病的条件下においても骨再生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

骨細胞機能研究室：馬 凌云、猪飼理奈、渡辺 研

変形性関節症自然発症マウスの疾患関連遺伝子の解析

変形性関節症は、骨折と同様に高齢者の QOL を著しく損なう最も罹患率の高い運動器疾患のひとつである。変形性関節症は運動機能障害と疼痛をもたらす慢性進行性関節破壊疾患で、国内の推定患者数は、自覚症状を有する患者数で約一千万人、X 線診断による潜在的な患者数で約三千万人と推定されており、患者数は年々増加している、頻度の高い難治性疾患ともいえる。しかし、その発症因子に関する研究は、骨折のリスクとなる骨粗鬆症研究に比べ、創薬に結びつく分子レベルの知見も非常に限られている。

本研究では世界的にも珍しい遅発性変形性関節症自然発症モデルマウスである *STR/ort* の遺伝連鎖解析ならびに全ゲノム解析を通して、発症関連染色体領域ならびに変異遺伝子の同定を行った。変異によりタンパク質に機能異常が推測されるもので CADD スコアの最も高いミスセンス変異が見出された遺伝子について解析を行ったところ、その遺伝子はマウスの加齢とともに発現上昇し、また IL1 処理により発現亢進した。これらの知見は変形性関節症発症に関連する加齢と炎症への関与を示唆するものであった。さらに、この変異について C57/BL6(B6)に戻し交配したところ、変異を持つマウスでは野生型に比べて有意に関節軟骨の変性スコアが高値であったことから、この変異が軟骨変性に関わっていることが強く示唆された。

軟骨細胞での変異型と野生型遺伝子の発現実験では IL1 誘導性の細胞死に対して変異型遺伝子を発現する細胞では感受性が高いことが見出された。さらにこの細胞死は最近定義された新しい細胞死の形であるフェロトーシスの阻害剤 Ferrostatin-1 処理により有意に抑制された。これらのことから、*STR/ort* における疾患関連遺伝子変異を同定し、変形性関節症発症の病理学的変化である細胞死にフェロトーシスが関与する可能性が示唆された。現在、外科的関節不安定化マウスモデルを用いて、変形性関節症の発症におけるフェロトーシスの関与について検討を行っている。

骨細胞機能研究室：馬 凌云、加治屋 裕基、渡辺 研

腰部脊柱管狭窄症の発症に関連する遺伝因子の解析

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。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 では66.9%という相当な遺伝率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報告例はほとんどない。また、一方で直近の診療ガイドラインでも「症候群」との位置付けがあることから、これまでの病態のみならず、遺伝因子による層別化が可能ではないかと考えた。そこで、疾患関連遺伝子ならびに層別化シーズの探索を目的として、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、発端者ならびに家族内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い疾患関連解析を行っている。その中である家系で罹患に相関し、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、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。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、ゲノム編集法によりヒトと高い相同性を有すオーソログに同じ点変異を持つ変異マウスを作出し、腰椎不安定化モデル実験ならびに ex vivo での椎間板変性モデルでそれぞれ感受性の亢進と炎症関連遺伝子の増強の傾向が観察されたことから、同変異が炎症やストレス等のシグナルに対する脆弱性に関与している可能性が示唆された。今後、同遺伝子やシグナルパスウェイに関わる遺伝子における多型の頻度分布について、検討を行っていく予定である。

研究業績（運動器疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Matsumoto G, Hashizume C, Watanabe K, Taniguchi M, Okazaki T.
Deficiency of sphingomyelin synthase 1 but not sphingomyelin synthase 2
reduces bone formation due to impaired osteoblast mineralization.
Mol. Med. 25:56, 2019.

Taniguchi M, Ueda Y, Matsushita M, Nagaya S, Hashizume C, Arai K, Kabayama
K, Fukase K, Watanabe K, Wardhani L, Hayashi K, Okazaki T.
Deficiency of sphingomyelin synthase 2 prolongs survival by inhibition of
lymphoma infiltration through ICAM-1 reduction.
FASEB J. 34, 3838-3854, 2020.

2. 総説

なし

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

Naoe Y, Takehita S

Atf3/7 Transcriptionally Regulate the Expression of Cthrc1 in Osteoclasts.
The 41st Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral
Research. September 23, 2019, Orland, Florida, USA

Ma L, Shigemizu D, Akiyama S, Jokaji R, Nakamura H, Ozaki K, Watanabe K.
Identification of a gene mutation involved in cartilage degeneration in *STR/ort*, a
mouse line developing spontaneous osteoarthritis.
Orthopaedic Research Society 2020 annual meeting. February 10, 2020,
Phoenix, Arizona, USA.

3. 国内学会発表

馬 凌云、重水大智、秋山真太郎、尾崎浩一、渡辺 研

変形性関節症自然発症マウスのゲノム解析

日本人類遺伝学会第64会大会 2019年11月8日 長崎

馬 凌云、重水大智、秋山真太郎、定梶嶺、中村博幸、尾崎浩一、渡辺 研

変形性関節症を自然発症する *STR/ort* マウスのゲノム解析による軟骨変性関連
遺伝子の同定

第42回日本分子生物学会年会 2019年12月4日 福岡

4. その他、セミナー等

Ⅲ. 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

渡辺 研 (分担) 代表一括計上

臨床ゲノム情報統合データベース整備事業

ゲノム医療の実装に資する臨床ゲノム情報統合データベースの整備と我が国の継続的なゲノム医療実施体制の構築

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

渡辺 研（代表） 170万円（総額170万円）

科学研究費助成事業（基盤研究C 一般）

変形性関節症自然発症マウスモデルの解析

竹下 淳（分担） 39万円

科学研究費補助金（基盤研究B 一般）

顎顔面領域骨代謝性疾患におけるエピゲノム制御による新規骨リモデリング機構の解明

4. 財団、その他

なし

再生再建医学研究部

(1) 構成員

室長 細胞再生研究室 細山 徹 組織再生再建研究室 下田 修義
流動・研究開発研究員

宮川 良博、岩波 礼将

研究補助員・事務補助員

加藤 記代実、高石 美菜子、西村 夕子、澤村 嘉代子

(2) 2019年度研究活動の概要

2018年度より再生再建医学研究部は、研究室長2名により運営されている。2019年度には、細胞再生研究室に流動研究員が1名加わった。

細胞再生研究室では、骨格筋幹細胞の維持制御機構の破綻とサルコペニアとの関連性に着目し、iPS細胞技術を応用した骨格筋幹・前駆細胞未分化維持モデル、遺伝子組換え動物、老齢動物やヒト臨床検体を用いた研究を展開している。2019年度には、これまでの研究で同定した骨格筋幹細胞維持制御候補因子Xを骨格筋幹細胞特異的に欠損するマウスを作出し、表現型解析を通じて骨格筋幹細胞におけるその役割や重要性について検討した。また、骨格筋幹細胞維持制御候補因子Xについて、老齢動物などを用いて骨格筋老化（サルコペニア）との関連性についての解析を行った。さらに本年度から、高齢者の骨格筋に頻発する骨格筋内異所性脂肪蓄積の分子機構について、ヒト臨床検体を用いた解析を開始した。

組織再生再建研究室では、DNAのメチル化というエピジェネティクスの組織再生、老化、アルツハイマー病発症への関与について研究をしている。2019年度には、センター内の複数の研究者と共同で、時期組織特異的な遺伝子ノックダウンをマウスで簡便に実現するための手法の開発を行った。またこれもセンター内の共同研究により、脳アミロイドーシスへの関連が示唆される遺伝子を同定した。さらに老化とエピジェネティックドリフトの関連を実証するために、ゼブラフィッシュに存在する6種類の*de novo*メチル化酵素遺伝子、すべての変異体の作製を行った。

細胞再生研究室：細山 徹、宮川 良博

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、2017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研究」を開始した。

2019年度は、①ヒトiPS細胞技術を応用した骨格筋幹細胞未分化維持モデルを用いた骨格筋幹細胞維持制御候補因子Xの同定、②老齢マウス由来骨格筋幹細胞における候補因子Xの活性低下、等の研究成果を得た。本年度は、候補因子Xを骨格筋幹細胞特異的に欠損するマウスの作出とその表現型解析を行い、以下に示す成果を得ることが出来た。

Pax7CreERマウス (Hosoyama *et al.*, 2011) と候補因子X-floxedマウスとを交配することで、タモキシフェン誘導性の骨格筋幹細胞特異的X欠損マウスを得た。その表現型解析の結果、候補因子Xは骨格筋幹細胞の細胞周期エントリ―や細胞増殖の制御に関わることが明らかとなり、その欠損マウスでは骨格筋幹細胞の有意な減少と著しい再生不良が認められた。また興味深いことに、老齢マウス由来の骨格筋幹細胞において候補因子Xの活性が有意に低下していること、さらにこの活性低下が、骨格筋幹細胞の上流因子に対する応答性の低下によって引き起こされている可能性が示された。高齢者や老齢動物の骨格筋においては、骨格筋幹細胞の質的・量的な変化が生じているとされることから、候補因子Xに関連したシグナル経路の加齢性変化との関連性が推察される (本研究に関連した成果の一部を学術論文として報告した; Hosoyama, 2020)。今後は、骨格筋幹細胞の維持制御における候補因子Xの作用機序についてさらに詳細に検討していく予定である。

また2019年度には、高齢者で頻発する骨格筋内異所性脂肪蓄積機構に関する研究も開始し、臨床検体や老齢マウス、*in vitro*実験系を用いて、特に加齢に伴って変化する栄養素との関連性に着目して研究を展開した。2020年度には、遺伝子組換えマウスや培養細胞などを用いて更に詳細な解析を進める。

参考文献

Hosoyama *et al.*, J Biol Chem., 286:19556-19564, 2011.

Hosoyama. Biochem Biophys Res., 21:100744, 2020.

老化におけるエピジェネティクス変動に関する研究

(1) マウスの *in vivo* ノックアウトシステムの確立

当研究室では NCGG 内の横断的なコラボレーションにより、ゲノム編集技術と Cre-loxP 系を組み合わせた、組織および時期特異的な *in vivo* での欠損変異導入法の開発を行ってきた。この手法は従来の Cre-loxP 系に比べ、簡便、安価であり、GWAS により浮かびあがった多数の疾患関連候補遺伝子のアノテーションに適していると期待される。本年度は上記手法確立の前段階として、老人斑蓄積に関与することが示唆された遺伝子のジャームライン変異体を作製することができた。

(2) 老人斑蓄積に関与する、あるハプロタイプの同定

アルツハイマー病の早期診断法開発を目指し、NCGG 内の横断的なコラボレーションにより、PiB-PET による画像情報のついたアルツハイマー病患者と高齢健常人の血液 DNA のメチル化レベルに差のあるゲノム領域 (DMR: Differentially Methylated Region) を探索した。我々はその過程において偶然、PiB-PET 陽性に関連する SNP を見出した。この SNP は機能未知の遺伝子のイントロン内に存在していた。サンガーシーケンスによる解析を進めた結果、この SNP の周囲には複雑な構造多型が存在し、それに起因すると考えられるハプロタイプを形成していた。

(3) DNA メチル化酵素の多重変異体作製

DNA メチル化の加齢による変動はエピジェネティックドリフトと呼ばれる。エピジェネティックドリフトは初期発生時に元に戻る（リセット）ため、同じく寿命が次世代でリセットされる老化との関連が指摘されてきたがその因果関係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エピジェネティックドリフトが単純なゼブラフィッシュを採用し、ゲノム編集技術を用いて、ゼブラフィッシュに6種類存在する *de novo* DNA メチル化酵素遺伝子すべての変異体を作製した。今後、それぞれの変異体におけるエピジェネティックドリフトのリセットを解析するとともに、単一変異体胚で異常が認められなければ多重変異体を作製して同解析を実施する予定である。

研究業績（再生再建医学研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Hosoyama T.

Possible Application of Muscle-Specific Conditional Mouse-derived Induced Pluripotent Stem Cells for Muscle Research.

Biochemistry and Biophysics Reports, 21: 100744, 2020.

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

Hosoyama T.

Effects of Vitamin D on Intramuscular Cells.

The 5th NCGG-ICAH Symposium, April 11, 2019, Obu, Aichi.

細山 徹

ヒト培養細胞を用いた骨格筋研究

第2回 筋スマート社会実現コンソーシアム, 2019年9月11日, 大阪市

Hosoyama T.

Molecular Regulation of Muscle Stem Cell Pool and Its Relationship with Sarcopenia.

The 5th Conference for Frailty and Sarcopenia, Oct 22, 2019, Taipei, Taiwan.

細山 徹

ERK シグナルによる骨格筋幹細胞の維持制御

NCGG 秋のミニシンポジウム「老化と老年病・認知症」, 2019年11月15日, 大府市

細山 徹

骨格筋幹細胞の維持制御における ERK の重要性

精神・神経疾患研究開発費・令和1年度研究班会議(武田班), 2019年11月27日, 東京(招待発表)

2. 国際学会発表

Hosoyama T, Takaishi M, Miyagawa Y, Endo S, Hashimoto N.

ERK plays a crucial role in maintenance of stem/progenitor cell pool in postnatal muscle.

The 5th Conference for Frailty and Sarcopenia, Oct 22, 2019, Taipei, Taiwan.

3. 国内学会発表

岩波礼将、横井勇人、秋山真太郎、重水大智、荒木夏生、二宮尚、松田勝、鈴木徹、下田修義

ジーンボディにおける DNA メチル化の機能的役割

第13回日本エピジェネティクス研究会年会, 2019年5月28日, 横浜市

高石美菜子、宮川良博、橋本有弘、本田健、乾 誠、細山 徹

筋線維特異的 PDZRN3 欠損がマウス後肢筋に及ぼす影響

第5回日本筋学会学術集会, 2019年8月2日, 東京

岩波礼将、横井勇人、秋山真太郎、重水大智、荒木夏生、二宮尚、松田勝、鈴木徹、下田修義

De novo methylation of zebrafish angptl1b gene body by Dnmt3bb.2 secures the

expression level and integrity of the transcript.

第 25 回小型魚類研究会, 2019 年 9 月 4 日, 宇都宮市

宮川良博、高石美菜子、橋本有弘、本田 健、乾 誠、細山 徹
CreER システムを用いた成熟筋線維における PDZRN3 の機能解析
第 7 回若手による骨格筋細胞研究会, 2019 年 10 月 22 日, 京都市

細山 徹、遠藤昌吾、高石美菜子、宮川良博、橋本有弘
ERK は成体骨格筋における幹細胞プール維持に重要な役割を果たす
第 6 回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2019 年 11 月 9 日, 新潟市

岩波礼将、横井勇人、秋山真太郎、重水大智、荒木夏生、二宮尚、松田勝、鈴木
徹、下田修義
ジーンボディにおける DNA メチル化の機能的役割
第 42 回日本分子生物学会, 2019 年 12 月 4 日, 福岡市

細山 徹、遠藤昌吾、Gilles Pages、Jacques Pouyssegur、橋本有弘
骨格筋幹細胞プール維持における ERK の役割
第 42 回日本分子生物学会ワークショップ, 2019 年 12 月 4 日/12 月 6 日, 福岡市

白井均樹、高橋治子、高山和也、下田修義、菊池裕
ゼブラフィッシュ DNMT3aa が標的とするゲノム領域の同定
第 42 回日本分子生物学会, 2019 年 12 月 6 日, 福岡市

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
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

細山 徹（代表） 110 万円（総額 340 万円）

科学研究費助成事業（基盤研究 C 一般）

無作為ゲノム変異挿入法による骨格筋老化機構の解明

下田修義（分担） 135 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

岩波 礼将 150 万円

豊秋奨学会

DNA メチル化状態変動による老化機序の解析

幹細胞再生医療研究部

(1) 構成員

室長 庵原 耕一郎

流動・研究開発研究員

ザイド モハメド ナギブ ハッセイン

特任研究員

ジアウディン エス エム

外来研究員

森川 直樹 岸田 成史

竹内 美貴 藤田 将典

客員研究員

中島 美砂子

研究補助員

富永 三千代 長井 綾乃

藤井 陽子

(2) 2019年度研究活動の概要

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低酸素培養した歯髄幹細胞による歯髄再生治療法の安全性および有効性の確認、②ナノバブルを用いた移植前の歯内（根管内）完全除菌法および含嗽剤の開発、③細胞を使用しない歯髄再生治療法の開発、④細管象牙質再生誘導法の開発、⑤歯髄幹細胞の細胞バンクシステムの構築に関して以下の研究を行った。

イヌの抜髄根管モデルを作製し、これに低酸素培養を行った歯髄幹細胞を移植したところ、安全性に問題なく、また歯髄が再生され有効性を確認できた。また、歯髄再生のメカニズムについても解明した。

また、イヌの難治性感染根管モデルを作製し、抗菌ナノパーティクルとプラスナノバブル水を併用して根管内を洗浄・貼薬を行った所、数回で除菌ができた。ナノバブルの含嗽剤としての有効性を検討するため、イヌに塩化ベンザルコニウムとナノバブルを混合した含嗽剤を適応し、歯において細菌数を減少できた。

次に、歯髄幹細胞を用いない非細胞性歯髄再生治療法を種々の方法で開発し有効性を検討している。

また、新規に開発した象牙質誘導デバイスをイヌの生活歯髄切断面に適応した所、歯髄面上に大量の象牙質を再生させることに成功した。

さらに、歯髄幹細胞バンクを行うための、最適な歯の凍結方法を検討した。

幹細胞再生医療研究部：中島美砂子、庵原耕一郎、Zayed M. N. Hussein

歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生に関する研究

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低酸素培養した歯髄幹細胞による歯髄再生治療法の安全性および有効性の確認、②ナノバブルを用いた移植前の歯内（根管内）完全除菌法および含嗽剤の開発、③細胞を使用しない歯髄再生治療法の開発、④細管象牙質再生誘導法の開発、⑤歯髄幹細胞の細胞バンクシステムの構築に関して以下の研究を行った。

まず、①に関して、新日本科学の安全性研究所において、イヌの抜髄根管モデルを作製し、これに低酸素培養を行った歯髄幹細胞を移植した。この結果、血液検査や剖検による、安全性に問題なく、また血管・神経を伴う歯髄が再生され有効性を確認できた。また、低酸素培養による歯髄細胞の特性検査を行い、再生のメカニズムについても解明した。

次に、②に関して、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、プラス電荷のナノバブル水と抗菌ナノパーティクル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薬が浸透でき、ナノバブル洗浄によるスミア層除去効果およびバイオフィーム除去効果により、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。また歯科用 CBCT により根尖部透過像の減少が確認できた。

さらに、③に関して、歯髄幹細胞を用いない非細胞性歯髄再生治療法を種々の方法で開発し、イヌの抜髄後の根管内に適応することで、歯髄が再生されることを前臨床実験で有効性を確認している。

また、新規に開発した象牙質誘導デバイスをイヌの生活歯髄切断面に適応した所、歯髄面上に大量の象牙質を再生させることに成功した。再生された象牙質の一部に細管象牙質の形成がみられた。

さらに、歯髄幹細胞バンクを行うため、抜歯後の歯の最適な凍結方法を、液体窒素、エタノール、-80℃緩慢凍結法にて検討した。結果として、エタノールを用いた凍結方法が問題なく凍結でき、かつコストパフォーマンスも優れていた。

参考文献

Zayed MH., Iohara K., Nakashima M.

CCR3 antagonist protects against induced cellular senescence and promotes rejuvenation in periodontal ligament cells for stimulating pulp regeneration in the aged dog. **Scientific Report**, 10:8631, 2020

Nakashima M., Iohara K., Zayed M.

Pulp Regeneration: Current Approaches, Challenges, and Novel Rejuvenating Strategies for an Aging Population. **J Endodontics**, accept

研究業績（幹細胞再生医療研究部）

1. 論文発表

1. 原著

Zayed MH., Iohara K., Nakashima M.

CCR3 antagonist protects against induced cellular senescence and promotes rejuvenation in periodontal ligament cells for stimulating pulp regeneration in the aged dog.

Scientific Report,10:8631,2020

Nakashima M., Iohara K., Zayed M.

Pulp Regeneration: Current Approaches, Challenges, and Novel Rejuvenating Strategies for an Aging Population.

J Endodontics, accept

庵原耕一郎、中島美砂子

難治性根尖性歯周炎における抗菌ナノパーティクル含有ナノバブル水による根管除菌効果の検討.

日本歯科保存学雑誌, 63-1: 73-82, 2020.

庵原耕一郎、中島美砂子

閉塞根管拡大のためのナノバブル水含有 EDTA による脱灰効果促進.

日本歯科保存学雑誌, 62-3 : 152-158, 2019.

庵原耕一郎、中島美砂子

ナノバブル水を用いた新規根管洗浄液のスミヤー層除去効果の検討.

日本歯科保存学雑誌, 62-3 : 159-164, 2019.

2. 総説

中島美砂子、庵原耕一郎

—患者まで届いている再生医療— 「歯髄・象牙質再生治療の現状」

日本再生医療学会雑誌 再生医療 2019 18 巻 1 号 p. 34-39

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

(出願)

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菌組織再生促進キット

出願年月日：2019年3月28日

出願番号：特願 2018-509652

出願人：国立長寿医療研究センター

発明者：中島美砂子

発明の名称：培養方法、培養容器および無菌アイソレータ

出願年月日：2019年4月17日

出願番号：特願 2019-78569

出願人：国立長寿医療研究センター

発明者：庵原耕一郎、中島美砂子、

発明の名称：象牙質再生用細胞培養物

出願年月日：2019年8月9日

出願番号：特願 2019-147175

出願人：国立長寿医療研究センター

(取得)

発明者：中島洋司(有限会社中島工業)、中島美砂子、庵原耕一郎、山田和正、

発明の名称：患部浸透亢進性薬剤組成物の製造方法

特許登録番号：6574785

登録日：2019年8月23日

出願人：有限会社 中島工業、国立長寿医療研究センター

11. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Nakashima M. Iohara K.

Pulp Regeneration: Current approaches, challenges, and novel rejuvenating strategies for an aging population.

IADR Pulp Biology and Regeneration Group Satellite Meeting. June 23-25, 2019 Portland, Oregon, USA

Nakashima M. Iohara K.

Lessons Learned from a Clinical Study for Total Pulp Regeneration in Mature Permanent Teeth.

97th General Session and Exhibition of International Association for Dental Research (IADR). Vancouver, Canada. June 22, 2019.

庵原耕一郎

「歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生治療と今後の展望」シンポジウム 近未来の歯科医療：歯科再生医療の可能性

International Congress of Oral Implantologists (ICOI) 東京 2019年7月14日

庵原耕一郎

「歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療と今後の展望」

第4回しずい細胞プロジェクトイノベーション研究会 岐阜 2019年12月13日

2. 国際学会発表

Nakashima M. Iohara K.

Enhanced delivery of EDTA by nanobubbles into dentin for efficient demineralization to enlarge constricted root canals.

IADR Pulp Biology and Regeneration Group Satellite Meeting, June 23-25, 2019 Portland, Oregon, USA

3. 国内学会発表

渥美優介 島垣昌明 栗原欣也 中本和希 蒔苗亜紀 中島美砂子 庵原耕一

郎 川島伸之 興地隆史 鈴木孝尚

新規開発多孔膜を備えた膜分取培養容器 VIVANT-CELL (r)にて分離・培養した歯髄幹細胞の特性評価

組織培養学会 東京 2019年7月6日

庵原耕一郎、Mohammed Zayed、中島美砂子

トリプシン前処理および CCR3 拮抗剤含有非細胞性根管充填材を用いた若齢歯の歯髄再生

第151回日本歯科保存学会秋季学術大会 福岡 2019年11月8日

Mohammed Zayed、庵原耕一郎、中島美砂子

The Effect of CCR3 antagonist for enhanced pulp regeneration in aged teeth

第151回日本歯科保存学会秋季学術大会 福岡 2019年11月8日

庵原耕一郎

帯電性ナノバブルの難治性感染根管菌に対する治療効果促進

日本マイクロ・ナノバブル学会第8回学術総会 東京 2019年12月8日

4. その他、セミナー等

中島美砂子

エア・ウォーター、歯髄幹細胞を活用した歯髄再生治療の事業化に着手

日本経済新聞（発表日：2019年5月9日）

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

庵原耕一郎(代表) 156万円 (総額350万円)

平成30年度科学研究費助成事業 基盤研究(C)

キトサンナノパーティクル付与象牙質誘導デバイスによる細管象牙質再生

4. 財団、その他

庵原耕一郎(代表) 2464 万円

歯の輸送、歯髄幹細胞の分離・培養・保存および細胞搬送に関する研究
共同研究費（株式会社エア・ウォーター）

庵原耕一郎(代表) 514 万円

非細胞性歯髄再生治療法の基礎実験
共同研究費（興和株式会社）

庵原耕一郎(代表) 686 万円

培養歯髄幹細胞による象牙質再生誘導デバイスの開発
共同研究費（澁谷工業株式会社）

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

流動・研究開発研究員

黒澤 実愛、山田（古川）匡恵

特任研究員

なし

外来研究員

須磨 紫乃、高田 鮎子

客員研究員

渡邊 裕、土谷 昌広

研究生

なし

研究補助員・事務補助員

王 静舒、小暮 宏実、渡邊 真規

(2) 2019年度研究活動の概要

当研究部は総勢 11 名の構成員で研究活動を行っており、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得ることをマウスモデルで明らかにした。現在、その機序について研究を行なっている。また、老齡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齡マウスと比べて見られることを明らかにした。さらに、加齡に伴い口腔細菌叢が変動することをマウスモデルで明らかにした。現在、同マウスを用いて口腔の老化に関連する詳細な分子解析を行うとともに、老化制御に有望な化合物の探索を行っている。また、全国的な老化および老年病研究のネットワーク構築を目指し、全国 7 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、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涙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、ヒト口腔粘膜由来ケラチノサイトにおいて、IL-29 はウイルス核酸受容体である retinoic acid-inducible gene(RIG)-I ばかりでなく、Toll-like receptor (TLR) 3 や TLR9 発現も誘導する事を明らかにした。

2) のテーマについては、老齢マウスおよびシェーグレン症候群(SS)モデルマウスを用い、老化関連 T(SA-T)細胞が、加齢に伴うドライマウスおよび自己免疫疾患に起因するドライマウスの病態形成に重要な役割を担う可能性を明らかにした。さらに老齢マウスを用い、長寿ホルモンとしても知られているアディポネクチンが涙液分泌に関与する事を明らかにし、論文発表した。

口腔疾患研究部：松下健二

口腔感染症の制御による健康寿命延伸の試みに関する研究

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。現在、*P. gingivalis* がアルツハイマー病を増悪する分子機序について解析を行っている。

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に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。

さらに、若齢および老齢マウスの口腔細菌叢をメタ解析した結果、加齢とともに口腔細菌叢が変化し、老齢マウスでは歯周病原菌の割合が増加していることを明らかにした。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。現在、口腔粘膜の老化に関連する分子の網羅的解析を行なっている。また、口腔粘膜細胞の老化を制御できる化合物の探索を行なっている。

3. アレルギー疾患としての歯周病病因論の解明

東北大学歯学部と共同で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する 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誌苦心する可能性があることを明らかにした。現在、上皮バリア関連分子を誘導する機序について詳細に検討中である。

4. 顎関節の加齢変化の検討

北海道大学歯学部と共同で、老化マウスにおける顎関節の解析を行った。その結果、老齢マウスの顎関節頭は若齢マウスのそれに比べて、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。

5. 口腔機能低下と脳機能の関係の解明

我々は、口腔機能の低下と脳機能の関連、特に視床下部機能との関連性についてマウスモデルを用いて解析を行なっている。その結果、歯の喪失により視床下部における老化関連遺伝子の発現が増加することを確認した。また、歯の喪失によりマウスの認知機能の低下やうつ特有の異常行動が観察された。さらに、同マウスの海馬領域においてアストログリオシスの病態が観察された。

6. 地域住民におけるオーラルフレイルの実態調査

愛知県歯科医師会が主体で行っている愛知県知多郡東浦町の高齢者に対するオーラルフレイルの実態調査のサポートを行っている。

口腔疾患研究部：四釜 洋介

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 IL-29 の役割

前年度までの研究結果から、ヒト歯肉由来ケラチノサイト(GK)において、IL-29 受容体である IL-28RA は遺伝子レベルおよびタンパクレベルで発現しており、また IL-29 の濃度依存的に STAT1 をリン酸化する事を明らかにしている。さらに、コロナウイルス核酸を認識する受容体である RIG-I 発現も誘導する事を明らかにしている。そこで当該年度は、他のウイルス核酸を認識する受容体発現に対する IL-29 の効果について検討した。Real-time PCR 法および Western blotting 法を用い、GK において、IL-29 はヘルペスウイルス核酸を認識する TLR3 および TLR9 発現を誘導する事を見出した。実験に用いた IL-29 濃度では、炎症サイトカインである IL-6 や IL-8、および I 型 interferon (IFN) である IFN- β 発現は誘導されない事も確認している。これら結果を基に、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する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. 加齢および糖脂質代謝異常が唾液腺涙腺機能におよぼす影響：モデルマウスを用いた解析

高齢化が進む日本において、口腔機能低下やオーラルフレイルの予防・改善が歯科医療に求められており、我々は加齢および自己免疫疾患に起因する口腔乾燥症の病態解明や治療法開発に焦点を絞り研究を進めている。当該年度は、老齢マウスおよび SS モデルマウス唾液腺に SA-T 細胞が集積し、組織破壊に関与する可能性があるが、その集積パターンが異なる事を見出した。SA-T 細胞集積には B 細胞が重要な役割を担う事が報告されているが、老齢マウス唾液腺には SA-T 細胞集積に先行して B 細胞が集積する事を確認したが、SS モデルマウスである *aly/aly* マウス唾液腺では B 細胞を伴わず SA-T 細胞が集積する事を明らかにした。唾液腺における SA-T 細胞の集積メカニズムを明らかにすることで、加齢および自己免疫疾患に起因するドライマウス治療法開発の基盤的エビデンス構築を目的とし、今後も研究を続けていく予定である。さらに我々は、マウスにおける加齢に伴う涙液分泌増加に脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンが関与する可能性を報告した(Shikama et al. 2019)。マウスは加齢に伴い脂肪組織が多くなり体重が増加するが、若齢マウスに高脂肪食を負荷し体重を増加させても、涙液分泌量は逆に低下する。

これは、脂肪組織の「質」がアディポネクチンシグナルを介し涙液分泌に影響を及ぼす可能性を示唆する興味深い知見であると考えられる。

研究業績（口腔疾患研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Tada H, Nishioka T, Takase A, Numazaki K, Bando K, Matsushita K.
Porphyromonas gingivalis induces the production of interleukin-31 by human mast cells, resulting in dysfunction of the gingival epithelial barrier.
Cell Microbiol, 21(3):e12972, 2019.

Shikama Y, Kurosawa M, Furukawa M, Ishimaru N, Matsushita K
Involvement of adiponectin in age-related increases in tear production in mice.
Aging (Albany N.Y.), 11(19):8329-8346, 2019.

Nakamoto M, Omine M, Yun Y, Shuto E, Nakamoto A, Hata A, Aki N, Shikama Y,
Bando Y, Ichihara T, Minamigawa T, Tamura A, Kuwamura Y, Funaki M, Sakai T
Associations of dietary diversity with allergic diseases in Japanese workers: a cross-sectional study.
Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 28(4):857-869, 2019.

Ukita M, Matsushita K, Tamura M, Yamaguchi T
Histone H3K9 methylation is involved in temporomandibular joint osteoarthritis.
Int J Mol Med, Feb;45(2):607-614, 2020.

2. 総説

Suma S, Furuta M, Yamashita Y, Matsushita K
Aging, Mastication, and Malnutrition and their Associations with Cognitive Disorder: Evidence from Epidemiological Data.
Current Oral Health Reports, 6:89-99, 2019.

Endo Y, Funayama H, Yamaguchi K, Monma Y, Yu Z, Deng X, Oizumi T, Shikama Y,
Y, Tanaka Y, Okada S, Kim S, Kiyama T, Bando K, Shima K, Suzuki H, Takahashi
T
Basic Studies on the Mechanism, Prevention, and Treatment of Osteonecrosis of

the Jaw Induced by Bisphosphonates.
Yakugaku Zasshi, 140(1):63-79, 2020.

四釜洋介、黒澤実愛、松下健二

IL-29 は口腔粘膜上皮細胞において RIG-I および IFI-16 発現誘導を介し抗ウイルス活性を増強する.

エンドトキシン・自然免疫研究 22, 40-42, 2019.

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道, 等

松下健二

東海テレビ「歯ッピーライフ」, 2019年11月5日, ~健康長寿はオーラルフレイル予防から~.

松下健二

夕刊フジ特別版 Vol.13, 2019年11月12日発刊, 大腸がん、脳卒中、アルツハイマー、糖尿病、歯周病が招く重病.

松下健二

週刊文春, 2020年1月23日号, P32-36, 「歯磨き」で万病を防ぐ.

松下健二

週刊文春デジタル, 2020年2月26日, 「とにかく指洗い」「マスクで鼻を守る」「目薬ジャブジャブ」19人の医師が実践するコロナ対策 ~「手・口・目」編~.

松下健二

週刊文春・新型コロナウイルス感染防御ガイド, 2020年3月17日, 医師19人の医師が実践するコロナ対策はこれだ.

6. 特許申請、取得状況

なし

11. 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の関連性 ～口腔ケアからはじめる認知症予防～
第 16 回日本口腔ケア学会総会・学術大会特別公演 1, 2019 年 4 月 27 日, 名古屋

松下健二

歯周病とアルツハイマー病の関連性 ～口腔ケアから始まる認知症予防～
第 68 回日本口腔衛生学会・総会ランチオンセミナー2, 2019 年 5 月 23 日, 大津

松下健二

認知症と口腔機能の接点について.
フレイル・認知症と口腔機能に関するシンポジウム, 2019 年 7 月 18 日, 名古屋

松下健二

歯周病とアルツハイマー病の関連性 ～口腔から始める認知症予防～.
第 7 回日本病巣研究会, シンポジウム C 「歯科と脳機能」, 2019 年 9 月 8 日, 東京

Matsushita K

Periodontal Disease and Periodontal Disease-Related Pathogen involved in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease.
Conference - Lightning the Future Together -, Sep 15, 2019, Bangkok, Thailand.

Masae Furukawa Yamada

Elucidation of the molecular basis of aging of the oral mucosa.
Lecture for Pharmacology Department, Faculty of Dentistry, Mahidol University,
Sep 16, 2019, Bangkok, Thailand.

松下健二

歯周病とアルツハイマー病の関連性～口腔から始める認知症予防.

京都市公開市民講座, 2020年1月19日, 京都

松下健二

歯周病と糖尿病、認知症との関係について ~お口から始める予防法~
大台町生活習慣病予防講演会, 2020年1月26日, 三重県大台町

2. 国際学会発表

Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y.

Senescence-associated T-lymphocytes accumulate in the submandibular glands of aged mice.

97th IADR General Session, June 20, 2019, Vancouver, BC, Canada.

Furukawa M, Matsuda K, Kurosawa M, Wang J, Watanabe M, Aoki Y, Shikama Y, Matsushita K

Analysis of cellular senescence in gingival fibroblasts.

4th Meeting of IADR Asia Pacific Region, Nov 29, 2019, Brisbane, Australia.

3. 国内学会発表

四釜洋介、黒澤実愛、古川匡恵、松下健二

エストロゲンの欠乏は唾液腺上皮細胞に CXCL13 産生を誘導し、老化関連 T 細胞集積を促進する。

第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 7 日, 仙台

黒澤実愛、古川匡恵、松下健二、四釜洋介

免疫老化及び細胞老化による唾液腺への SA-T 細胞集積メカニズムの解析。

第 38 回分子病理学研究会, 2019 年 7 月 19~20 日, 兵庫

黒澤実愛、古川匡恵、松下健二、四釜洋介

唾液腺上皮の細胞老化及び免疫老化が唾液腺機能に与える影響: 老齢マウスおよびモデルマウスを用いた解析。

第 28 回日本シェーグレン症候群学会学術集会, 2019 年 9 月 13~14 日, 徳島

古川匡恵、松田一成、黒澤実愛、青木優、四釜洋介、松下健二

歯肉線維芽細胞および老齢マウスの歯肉における細胞老化の解析

第 61 回歯科基礎医学会学術大会, 2019 年 10 月 14 日, 東京

多田浩之、西岡貴志、松下健二、菅原俊二

Fusobacterium nucleatum 感染によりマスト細胞が産生する細胞外トラップは、MIF 依存的に炎症を誘導する。

第 61 回歯科基礎医学会, 2019 年 10 月 12 日~14 日, 東京

古川匡恵、松田一成、黒澤実愛、青木優、四釜洋介、松下健二

老齡マウス歯肉組織における遺伝子発現の網羅的解析

第 62 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2019 年 10 月 25 日, 北九州

Giri S, Takada A, Furukawa M, Matsushita K, Furuichi Y.

Comparative expression of junctional proteins in young and senescence induced gingival epithelial cells.

第 62 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2019 年 10 月 25 日, 北九州

Tada H, Matsushita K, Sugawara S

Cysteine proteinases from *Porphyromonas gingivalis* induces the production of IL-31 by mast cells, resulting in downregulation of claudin-1 in gingival epithelial cells.

第 48 回日本免疫学会学術集会, 2019 年 12 月 12 日, 浜松

4. その他、セミナー等

黒澤実愛

第 38 回分子病理学研究会 優秀ポスター一賞受賞

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

松下健二 (分担) 10 万円

基盤研究 (C)

歯周病原細菌による好中球細胞外トラップ誘導を基軸とした歯肉上皮バリア破

綻の解明

四釜洋介（代表）130万円（総額340万円）

基盤研究(C)

口腔粘膜における抗ウイルス自然免疫応答に対する IL-29 の役割とその臨床応用

四釜洋介（分担）10万円

基盤研究(C)

好中球融合による筋線維の炎症性形質転換 —慢性筋痛の新規発症メカニズムの解明—

黒澤実愛（代表）200万円（総額330万円）

若手研究

シェーグレン症候群モデルマウスでの女性ホルモン低下と加齢による疾患発症機序の解明

山田匡恵（代表）120万円（総額330万円）

基盤研究(C)

視床下部特異的 SIRT1 を指標とした脳・口腔関連の解明

4. 財団、その他

松下健二（代表）443万円（総額1,329万円）

第一三共ヘルスケア株式会社共同研究

生理的老化における口腔内の変化と疾患の解析に関する研究

四釜洋介（代表）50万円（総額100万円）

徳島大学先端酵素学研究所「共同研究」

老齢マウスを用いたシェーグレン症候群および加齢に伴う口腔乾燥症の病態解明と治療法の開発

黒澤実愛（代表）25万円（総額25万円）

長寿科学関連国際学会派遣事業

Senescence-associated T-lymphocytes Accumulate in the Submandibular Glands of Aged Mice.

山田匡恵（代表）60万円（総額100万円）

山田養蜂場みつばち研究助成基金

プロポリスを用いた口腔老化制御による口腔ケアの新戦略

山田匡恵（代表）50万円（総額50万円）

公益財団法人ホクト生物科学振興財団

オルニチンを応用した歯牙喪失マウスの脳の老化制御と睡眠の改善について

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

三河 隆太、川口 耕一郎 (7月～)、清水 孝彦 (4月～6月)、亀井 優香 (～6月)、渡辺 憲史、古庄 克宏 (～6月)、坂本 明彦

特任研究員

亀井 優香 (7月～)、澁谷 修一 (5月～6月)、川口 耕一郎 (～6月)

外来研究員

赤津 裕康

客員研究員

中西 章、徳永 暁憲、石神 昭人、島田 順一、本山 昇

研究生

橋本 有弘、新井 聡、森田 悠治

研究補助員・事務補助員

松井 直美 (～10月)、渡邊 留美子 (～2月)、井村 里恵 (3月～)、太田 祐子、大西 恵子、山田 あかね、金森 久美子、近藤 麻衣、十鳥 夕子、西島 里咲、齋藤 信子 (7月～)

(2) 2019年度研究活動の概要

加齢に伴う生体機能低下に共通する分子レベルでのメカニズムの解明と臨床研究につながる基盤的分子情報の確立することをミッションに今年度も代謝、免疫室長グループに部長グループを加えた3つのPIグループが老化の基礎的な研究を推進した。部長グループは高齢者の免疫応答能の低下に関わる免疫老化の要因としくみの解明に関する研究に加えて、細胞老化と個体老化との相関にも注目した基礎研究に着手した。代謝研究室では高齢者の健康長寿を実現させる目的でドライマウスを引き起こす原因究明に関する基礎研究を進めている。今年度は唾液腺で産生されるムチンの老化過程の変化に注目し、グリカン構造の異なる3種類のムチンが存在することがドライマウスと口腔衛生悪化の一因となる可能性が示唆された。一方、免疫研究室では独自に作製した老化細胞可視化・除去マウスを用いて喫煙モデル系を確立し、喫煙によって誘導される呼吸器病態と細胞老化の連関解析を行った。結果、細胞老化は肺組織の老化や疾患と関連があるのみならず、喫煙病態を増悪化する因子であることが判明した。

部長グループ：丸山光生、坂本明彦、亀井優香

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

健康寿命の延伸に伴い、人生 100 年時代を迎えようとしている我が国にとって、高齢者に対する予防医療は喫緊の重要課題の一つになっている。とりわけ肺炎やインフルエンザといったウイルスや細菌による感染症は呼吸器疾患の重篤化のリスクも高いことから、高齢者にはワクチン接種が推奨されている、これら予防接種の有効性を改善する目的でも、免疫系の老化の分子メカニズムを理解することが重要である。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獲得免疫系の老化機構の解明を進めている。今年度はこの獲得免疫、抗原抗体反応に重要な胚中心 B 細胞について、Ziz2 がどのようにワクチンに対する免疫応答に寄与するのか、そして、結果免疫老化においてどのような影響を及ぼすのかを老齢マウスを用いて解析した。Ziz2 の発現は 18 ヶ月齢以後の C57BL/6 マウス B 細胞において減少しており、実際に Ziz2 遺伝子を欠失させたマウス由来の B 細胞では B 細胞受容体の下流増殖シグナルが抑制されたことも明らかにした。一方、B 細胞特異的に Ziz2 遺伝子を欠失させたマウスでは、胚中心 B 細胞の形成そのものは野生型と違いはなかったが、免疫後の胚中心 B 細胞の VDJ 可変領域で見られる抗原に対する高親和性抗体作製に関与する体細胞変異の割合が低くなっていることが単一胚中心 B 細胞レベルで塩基配列の解析を行うことで判明した。このことは Ziz2 が B 細胞の本来、機能として有している外来タンパク質抗原に対する高親和性 B 細胞クローンの選択に寄与することを示している。さらに Ziz2 はクラススイッチ後の IgG1 陽性の抗原特異的な胚中心 B 細胞の増殖には関与しても、胚中心 B 細胞の形成には寄与しない可能性が判明した。さらにこの抗原特異的な胚中心 B 細胞の選択に重要な免疫応答の初期の段階で B 細胞における Ziz2 の発現は濾胞ヘルパー T 細胞の誘導に必要な事も示唆するデータを得た。これらの結果から Ziz2 は 抗原特異的な胚中心 B 細胞が選択的に増殖するのに重要であり、さらに Ziz2 遺伝子を欠失させた B 細胞の二次応答においては抗体産生細胞の形成、ELISpot 法による抗体の産生低下が判ったことを考え合わせると Ziz2 が B 細胞特異的なシグナル伝達と濾胞ヘルパー T 細胞の誘導によって抗原特異的な胚中心 B 細胞の選択に関与し、老齢マウスにおける体液性免疫不全、感染防御能の低下の一端に関与するのではないかと示唆される。

部長グループ：丸山光生、渡辺憲史、亀井優香

加齢変化における栄養介入と抗炎症反応の分子機構に関する研究

摂取による健康への安全性も担保され、我々の食生活にも深く取り入れられている大豆イソフラボンには抗炎症や抗酸化効果を始め、高コレステロール血症やアテローム性動脈硬化症等、生活習慣病に関連する諸症状の緩和に効果があることが知られている。さらに大豆イソフラボンアグリコンはエストロゲンと構造が似ていることから植物性エストロゲンとも呼ばれ、女性の骨粗鬆症や閉経後症候群等の加齢性疾患と深くかかわる内分泌機能の維持にも効果があることが知られている。また、大豆イソフラボンは長い食経験があり、摂取による健康への有害事象が報告されておらず安全性も担保されている。我々はこれまでの先行研究から水溶性大豆イソフラボン（Soyaflavone HG）は炎症性腸疾患モデルマウスに事前に摂取させることで炎症抑制効果があること、また水溶性大豆イソフラボン摂取することで若齢マウスの腸内細菌叢の Firmicutes / Bacteroidetes (F/B) 比が有意に変化することを報告してきた。しかし、生理的な加齢変化への効果は知見が十分得られていない。そこで、我々は自然加齢した老齢マウスを用いて水溶性大豆イソフラボンが腸内細菌叢の加齢変化あるいは臓器、組織の加齢変化にどのような効果がみられるか検討を行った。雄の C57BL6 マウスの老齢(23~24 ヶ月齢)及び若齢(2 ヶ月齢)に対して1ヶ月間の水溶性大豆イソフラボンを経口ゾンデ法で摂取させた。その後マウスの大腸の構造、粘膜バリア機能の変化やそれに伴う腸内細菌叢や腸内細菌脂質代謝物(短鎖脂肪酸)変化に対する効果を解析した。門レベルの解析では腸内細菌叢の加齢変化は明らかでなかったが、大腸の組織切片の解析から、粘膜成分を分泌する杯細胞が加齢によって減少し、Soyaflavone HG 投与によって増加することも明らかとなった。これらの結果は Soyaflavone HG が炎症に関連したある種の腸内細菌を増加させることで大腸の組織恒常性を維持して腸管バリア機能に作用することを示唆する。また、大豆イソフラボンの加齢によって菲薄化することが知られている皮膚や皮質骨への影響や、肝臓で炎症マーカーの遺伝子発現を解析することで抗炎症効果を確認した。さらに興味深いことに Soyaflavone HG 投与は加齢による骨量減少に対する改善効果があることも判明した。これらは Soyaflavone HG が炎症誘導モデルだけでなく自然加齢変化における腸内環境や恒常性維持にも有益な効果があることを示すものとして、今後の詳細な研究が期待される。

代謝研究室：室長 山越 貴水，研究補助員 西島 里咲

高齢者におけるドライマウスの原因究明に関する基礎研究

唾液は口腔衛生を保持するために非常に重要である。しかしながら、多くの場合、高齢者の口腔衛生状態は良好でない。この主たる原因は、高齢者の多くにおいて唾液分泌量の減少や唾液粘性の増加の症状を伴う口腔乾燥の主観的自覚として定義されるドライマウスが生じるためである。ドライマウスとそれに付随して生じる口腔衛生悪化は、齲歯や歯周病などの口腔疾患を生じるだけでなく、誤嚥性肺炎や感染症などの発症リスクを高めるなど全身に影響を及ぼす。そのため、ドライマウスを引き起こす要因を明らかにしていくことが高齢者の健康長寿を実現していく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ムチンの老化による変化について解析を行った。ムチンは、コアタンパク質が、質量の 50-80%を占める O-結合型糖鎖により修飾された質量の大きな糖タンパク質で、口腔内微生物叢と相互作用することにより口腔衛生の維持に大きく貢献している。しかしながら、ムチンはそれらのオリゴマー化の規模とグリコシル化の構造が大きく異なるうえにムチンの発現及びグリカン構造は環境によって容易に変化し得る。それ故、ムチングリカン構造の変化は、ムチンのオリゴマー化によるゲル形成などの物理的特性に影響を及ぼすだけでなく、微生物叢とムチンの間の多くの複雑な相互作用に影響を及ぼす。口腔乾燥感のある高齢者では唾液粘性が増加し口腔衛生状態が悪化していることを考えると、老化過程ではムチン分子の物理化学的組成の変化によって微生物叢に対するムチンの機能が変更されている可能性がある。しかしながら、ムチンは大きな質量と複雑な生化学的組成のために解析が難しく、唾液腺で産生されるムチンの老化過程の変化について全く特徴づけられていない。そこで、私達は、分子マトリックス電気泳動(SMME)を用いて、ムチン分析を行った。その結果、マウスの顎下腺では異なるグリカンプロファイルをもつ 3 種の分泌型ムチン：老化特異的ムチン、若齢特異的ムチン、一生を通じて発現しているムチンが存在し、老化過程ではそれらムチンの発現パターンが変わることを見出した。また、一生を通じて発現しているムチンの糖鎖種の各割合は老化過程で変化し、老化はフコシル化糖鎖の割合を減少させ、シアロ糖鎖の割合を増加させる傾向があることも見出した。以上のことから、マウスの顎下腺において産生されるムチンとそのグリカンの老化過程での変化が、ドライマウスと口腔衛生悪化の一因となる可能性が示唆された。

免疫研究室：室長 杉本 昌隆、研究員 三河 隆太

呼吸器疾患における細胞老化の役割に関する研究

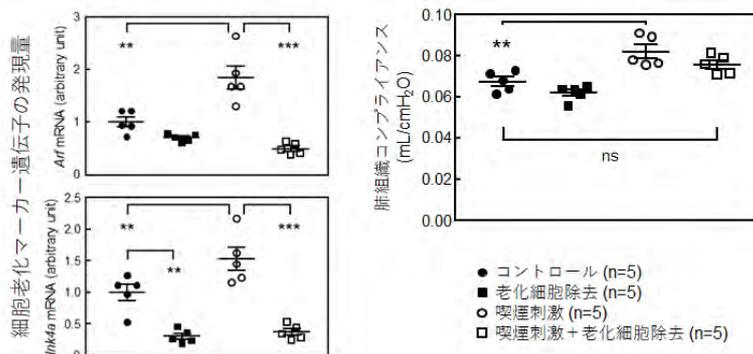
本研究室では、細胞老化を対象とした呼吸器疾患に対する新規創薬・治療崩開発の基盤形成を目指した研究を行っている。

細胞老化は癌抑制機構として機能するが、一方で組織の老化や加齢性疾患の原因になることが近年のモデル動物を用いた解析から明らかになりつつある。本研究室では独自に樹立した老化細胞可視化・除去マウス（ARF-DTR マウス）を用いて肺組織の老化や疾患に細胞老化が重要な役割を持つことを以前に明らかにした。

平成 31 年（令和元年）度はマウス喫煙モデルを用いて、喫煙によって誘導される呼吸器病態と細胞老化の連関解析を行った。マウスに喫煙刺激を行うと、ヒトと同様に肺組織で細胞老化が亢進する。しかしながら老化細胞を除去することにより、喫煙による呼吸機能の低下は顕著に抑制された。これらの結果から、細胞老化は喫煙病態を増悪化する因子であることが強く示唆された。

現在、世界中で慢性閉塞性肺疾患（COPD）による死亡が増加している。COPD の主な原因は喫煙であるが、その主要病態である肺気腫に対する治療法は確立されていない。本研究結果から、細胞老化が喫煙病態に対する創薬・治療標的としての有効性が期待される。

図.喫煙による細胞老化の亢進（左）と老化細胞除去による喫煙病態の緩和（右）



参考文献

Hashimoto M, et al., *JCI Insight*, 1:e88057, 2016.

Mikawa R, et al., *Aging Cell*, 10:E462, 2018.

Mikawa R, et al., *Boimolecules*, 10:E462, 2020.

研究業績（老化機構研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M

Age-associated alterations in murine dermis through inflammatory response with mitochondrial DNA deletions.

Geriatrics & Gerontology International, 19: 451–457, 2019

Kim SE, Kawaguchi K, Hayashi H, Furusho K, Maruyama M

Remissive effects of dietary soybean isoflavones on DSS-induced murine colitis and LPS-induced macrophage cell line.

Nutrients, 11, 1746, 2019

Takisawa S, Funakoshi T, Yatsu T, Nagata K, Aigaki T, Machida S, Ishigami A.

Vitamin C deficiency causes muscle atrophy and a deterioration in physical performance.

Sci Rep, 9(1): 4702, 2019

Tsubota M, Uebo K, Miki K, Sekiguchi F, Ishigami A, Kawabata A.

Dietary ascorbic acid restriction in GNL/SMP30-knockout mice unveils the role of ascorbic acid in regulation of somatic and visceral pain sensitivity.

Biochem Biophys Res Commun, 511(3), 705-710, 2019

Takahashi K, Yanai S, Takisawa S, Kono N, Arai H, Nishida Y, Yokota T, Endo S, Ishigami A.

Vitamin C and vitamin E double-deficiency increased neuroinflammation and impaired conditioned fear memory.

Arch Biochem Biophys, 663:120-128, 2019

Ito S, Sairenchi T, Machida T, Takino Y, Kondo Y, Mukai K, Kobashi G, Ishigami A, Senoo T. Reduced aqueous humour ascorbic-acid concentration in women with smaller anterior chamber depth.

Sci Rep, 9(1):372, 2019

Takigawa M, Masutomi H, Shimazaki Y, Arai T, Lee J, Ishii T, Mori Y, Ishigami A.
Age-dependent changes in vancomycin-induced nephrotoxicity in mice.
J Toxicol Pathol, 32(1):57-66, 2019

Mikawa R, Sato T, Suzuki Y, Baskoro H, Kawaguchi K, Sugimoto M
p19^{Arf} exacerbates cigarette smoke-induced lung dysfunction.
Biomolecules, 10: E462, 2020.

亀山 昭彦, 松野 裕樹, 飯田 真由, 丸山 光生, 渡邊 淳, 山越 貴水
分子マトリックス電気泳動で解明する唾液腺ムチンの老化に伴う変化.
電気泳動, 63: 55-61, 2019.

2. 総説

古庄克宏、丸山光生

免疫系の老化-Inflammaging における核酸センサーの役割を中心に-
特集：老化のバイオロジー **老年医学** 57(8):787-790,2019

古庄克宏、丸山光生、三宅健介

TLR 7/8 による核酸認識機構およびそれらの関連する炎症病態.
炎症と免疫 9月号 vol.27no.5:2-6(358-362),2019

坂本明彦、丸山光生

第 35 章 老化（細胞レベル・個体レベル）関連薬剤.
新版阻害剤活性化剤ハンドブック, 秋山徹、河府和義編, 羊土社

中西章

認知症治療薬の血液脳関門薬剤通過のメカニズムと評価.
認知症の早期診断技術と進行抑制/予防薬・機能性食品の開発, 技術情報協
会,p329-337,2019

中西章

アストロウイルス
小児科診療 Vol.82, No.9、p1185-1189、2019

丸山光生、坂本明彦、森田悠治、高岡晃教

免疫の老化：感染防御と栄養介入の最前線
薬学雑誌, 140(3), 391-393, 2020年3月

杉本昌隆、三河隆太
老化細胞除去マウスと senolytic 薬
実験医学, 37 : 1755-1760, 2019.

3. 著書、Chapters

島田順一
あなたも取れる知的財産権 無形資産力の時代
薬事日報社, ISBN:978-4-8408-1510-9, 2019年12月

4. その他

杉本昌隆
組織老化・疾患における細胞老化の役割
Aging & Health, 28:38-41, 2019.

5. 新聞・報道,等

丸山光生
進む！乳酸菌研究 その整腸作用から免疫活性まで
BS フジ, 2月9日(日), 16日(日)

杉本昌隆
読売新聞, 令和元年9月13日朝刊, サイエンスBOX「老化細胞 がん化を促進」

6. 特許申請、取得状況

森田悠治、丸山光生、坂本明彦
概日リズム改善用組成物
2017年12月22日出願
2019年7月11日公開
特願 2017-245716 キリン株式会社

島田順一
医療機器
2019年9月4日国内出願
2019年11月27日国際出願

特願 2019-160907 (国内)
PCT/JP2019/046312 (国際)
YANCHERS 株式会社

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Maruyama M

Infrastructure and Platform Building for Geroscience in Japan.
Asian Geroscience Conferences, May 25, 2019, Shenzhen China.

杉本昌隆

疾患モデルにおける senolysis の効果

第 40 回日本基礎老化学会シンポジウム, 2020 年 2 月 9 日, 名古屋,

2. 国際学会発表

島田 順一

Focal Therapy for Small Lung Cancer with Ethanol Release Heat-Generating Polymer under MRI guidance
Chest BKK Thai, April 10, 2019, BKK Thai

島田 順一

Ethanol release heat-generating polymer-for focal- therapy of small lung cancers
27th ESTS Dublin, June 9, 2019, Dublin

Akatsu H, Kawabe Y, Arakawa K, Masaki Y, Tanaka H, Kanematsu T, Hashizume Y, Tuneyama K, Manabe T, Ohohara T, Maruyama M, Fukushima NST team
How Risky Of Intravenous Iron Administration? (Analysis Of Iron Deposition By 157 Pathological Liver Tissues).

41st ESPEN Congress on Clinical Nutrition & Metabolism.
September 2, 2019, Krakow, Poland

Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M

Age-associated alterations in murine skin involving inflammatory response with mitochondrial DNA deletions.

ICSA 2019 in Conference. September 11, 2019, Athens, Greece

Hayakawa T, Morimoto R, Kimura Y, Nagasaki M, Nagata M, Motoyama N
SIRT1-p21 pathway negatively regulates senescence-associated secretory
phenotype. (SASP)

ICSA 2019 in Conference. September 11, 2019, Athens, Greece

Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M

Age-associated alterations in murine dermis through inflammatory response with
mitochondrial DNA deletions.

11th IAGG AOR congress, Oct 26 2019, Taipei, Taiwan

島田順一

Ethanol Release Heat-Generating Polymer for Focal Therapy of Small Lung
Cancers Under Open MRI.

2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月9日, Barcelona, Spain

島田順一

A Good Intestinal Bacterial Environment Can Reduce the Side Effects of Tyrosine
Kinase Inhibitors and Enhance Their Anti-Cancer Effects.

2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月8日, Barcelona, Spain

島田順一

Development of Titanium Alloy Vascular Mirror Forceps for Uniportal VATS.

2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月8日, Barcelona, Spain

3. 国内学会発表

丸山光生

水溶性大豆イソフラボン SoyaFlavone HG の抗炎症効果と腸内細菌叢に与える影
響と加齢変化の関連.

第22回不二たん白研究報告会, 2018年5月27日, 東京

亀井優香、川口耕一郎、金湘殷、保田朋波流、真下知士、杉本昌隆、丸山光生

老化細胞可視化除去マウスの作製と免疫老化機構の解明

第42回日本基礎老化学会大会, 2019年6月7日, 仙台

金湘殷、亀井優香、木村郁生、國澤純、丸山光生

水溶性大豆イソフラボンが腸内細菌叢に与える影響と加齢変化

第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 7 日, 仙台

清水孝彦、渡辺憲史、澁谷修一

骨老化プロセスにおける核構造変化とエピゲノム変化におよぼすミトコンドリア機能の役割

第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 7 日, 仙台

坂本明彦、丸山光生

B 細胞の免疫応答における DOCK11 の関与

第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 8 日, 仙台

川口耕一郎、金湘殷、杉山大二郎、杉本昌隆、丸山光生

皮膚の自然老化における慢性炎症の分子機構解析

第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 8 日, 仙台

島田順一

「自動車部品から医療機器へ：Team In KYOTO の挑戦」 電解研磨技術を用いたチタン合金血管剥離鉗子の開発

第 12 回手術教育研究会, 2019 年 4 月 17 日, 大阪

島田順一

要望演題 (RO6) 「医工連携」

第 36 回日本呼吸器外科学会, 2019 年 5 月 16 日, 大阪

Kokubo Y, Morimoto S, Sasaki R, Kuzuhara S, Ishigami A

Abnormal Accumulation of Citrullinated Proteins of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and Parkinsonism-dementia complex (PDC) of the Kii peninsula of Japan.

第 13 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres, September 25-27, 2019 東京

谷津智史、船越智子、滝野有花、石神昭人

ビタミン C の骨格筋再生における役割.

第 159 回ビタミン C 研究委員会, 2019 年 7 月 27 日, 東京

谷津智史、船越智子、滝野有花、町田修一、石神昭人
骨格筋再生に及ぼすビタミンC不足の影響。
日本筋学会第5回学術集会, 2019年8月2~3日, 東京

島田順一

Ethanol Release Heat-Generating Polymer for Focal Therapy of Small Lung Cancers Under Open MRI.
2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月9日

島田順一

A Good Intestinal Bacterial Environment Can Reduce the Side Effects of Tyrosine Kinase Inhibitors and Enhance Their Anti-Cancer Effects.
2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月8日

島田順一

Development of Titanium Alloy Vascular Mirror Forceps for Uniportal VATS.
2019 World Conference on Lung Cancer, 2019年9月8日

Motoyama N

The nutritional interventions on the basic mechanisms of aging and age-related diseases. Introduction
The 42nd Annual Meeting of the MBSJ, workshop, Dec 4 2019, Fukuoka

Kim Sang-Eun, Morita Y, Sakamoto A, Maruyama M

Inflammation and trophic control on immunosenescence.
The 42nd Annual Meeting of the MBSJ, workshop, Dec 4 2019, Fukuoka

Maruyama M

The nutritional interventions on the basic mechanisms of aging and age-related diseases. Conclusion
The 42nd Annual Meeting of the MBSJ, workshop, Dec 4 2019, Fukuoka

坂本明彦、錦見昭彦、高岡晃教、丸山光生

抗原特異的B細胞の増殖におけるDOCK11の寄与
第42回日本分子生物学会年会, 2019年12月6日, 福岡

亀井優香、川口耕一郎、小谷祐子、松田一成、保田朋波流、真下知士、杉本昌隆、丸山光生

老化細胞可視化除去モデルマウスを用いた皮膚老化解析への試み

第 42 回日本分子生物学会年会, 2019 年 12 月 6 日, 福岡

Sakamoto A, Maruyama M

Contribution of DOCK11 to the expansion of antigen-specific B-cell populations.

The 48th Annual Meeting of the JSI, Dec 12 2019, Hamamatsu

島田順一

医療現場からのユーザーイノベーションの経験：ものづくり、ちえづくり

第 14 回医療の質・安全学会学術集会, 2019 年 11 月 29 日, 京都

島田順一

社会実装を勝ち取るイノベーション戦略の重要性

第 28 回日本コンピュータ外科学会, 2019 年 11 月 24 日, 東京

石山涼翔、戸高玲子、及川和樹、中西 章、村上 耕介、ソン チホン、村田和義、片山和彦

ノロウイルス粒子の内部構造解析を目指した感染性粒子の構成成分の解析

第 67 回日本ウイルス学会、2019 年 10 月 30 日、東京

及川和樹、吉田和央、石山涼翔、戸高玲子、村上耕介、中西 章、片山和彦

ノロウイルス構造タンパク質 VP2 の機能解析

第 67 回日本ウイルス学会, 2019 年 10 月 30 日, 東京

松田麻未、李天成、中西 章、村松正道、鈴木哲朗、鈴木亮介

レポーター遺伝子をもつ JC ポリオーマウイルスの中和試験

第 67 回日本ウイルス学会、2019 年 10 月 30 日、東京

山越貴水、亀山昭彦、西島里咲、飯田万由、丸山光生、

ポリコーム蛋白質 Bmi-1 による顎下腺ムチン糖鎖構造の制御

第 13 回日本エピジェネティクス研究会, 2019 年 5 月 28 日, 横浜.

川口耕一郎、古茂田かおり、三河隆太、杉本昌隆

肺組織の老化細胞は転移性肺がんを促進する

第 42 回日本分子生物学会年会, 2019 年 12 月 6 日, 福岡,

4. その他、セミナー等

杉本昌隆

Pathophysiological roles of cellular senescence in pulmonary aging and diseases.

旭川医科大学, 2019 年 11 月 21 日, 旭川

丸山光生

「公衆衛生学」「保健衛生学特論」

富山短期大学 食物栄養学科, 2019 年 7 月 24 日, 富山

島田順一

外科医の立場からのユーザーイノベーションの経験

第 32 回近畿内視鏡外科研究会, 2019 年 9 月 21 日

島田順一

Team IN KYOTO 医工連携オープンイノベーションへの挑戦 ものづくり&ちえ
づくり

東京都 HUB 機構講演会, 2019 年 8 月 29 日

Maruyama M

Current Aging Research and Society in Japan

The 2nd International Conference on Biomedical Health in Beijing

UNESCO, Dec 16 2019, Beijing, China

丸山光生

基礎老化研究がめざす医食同源

椛山女学園大学同窓会 大学院研究科講演会, 2019 年 10 月 5 日, 00 名古屋

丸山光生

高齢者の看護に役立つ、生態防御機能の基礎老化研究

仙台赤門短期大学 第 1 回教員研修会, 2019 年 11 月 8 日, 仙台

丸山光生

KW 乳酸菌の抗老化研究

キリンメディアセミナー, 2019 年 11 月 14 日, 東京

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科学科 3 年講義, 2019 年 11 月 19 日, 大府

杉本昌隆、丸山光生

定量 PCR を用いた免疫老化関連遺伝子の発現解析
名大ベーシックトレーニング, 2019 年 11 月 27 日 28 日, 大府

丸山光生

加齢と寿命 ～栄養と免疫系の新たな視点から～
日本福祉大学, 2019 年 12 月 9 日, 美浜

丸山光生

腸内環境を支える免疫と栄養 ～その加齢変化について～
読売新聞シンポジウム, 2020 年 1 月 15 日, 大阪

丸山光生

「日本の高齢者は優等生」きんさん、ぎんさん 元気の秘訣はなんだったのか？
日本笑い学会中部支部 第 21 回新春笑例会, 2020 年 1 月 26 日, 名古屋

丸山光生、木村泰之、杉本昌隆、重水大智

Flash Talk 「個別化予防に向けた情報学と生命医科学の融合」
名大卓越大学プログラム 第 1 回 CIBoG キックオフシンポジウム, 2020 年 1 月 27
日, 名古屋

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, 2020 年 1 月 27 日, 東海市

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, 2020 年 2 月 4 日, 東海市

杉本昌隆

疾患モデルにおける senolysis の効果

第 49 回日本基礎老化学会シンポジウム, 2020 年 2 月 8 日, 名古屋

丸山光生

腸内環境を支える免疫と栄養 ～その加齢変化について～
読売新聞シンポジウム, 2020 年 2 月 18 日, 東京

徳永暁憲

糖代謝経路の破綻に伴う認知機能障害の誘導機序の解明
東京大学医学研究所 国際共同利用・共同研究拠点成果報告会, 2020 年 3 月 9 日

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

山越 貴水 (代表) 100 万円 (総額 429 万円)

学術研究助成基金助成金(基盤研究 C)

糖鎖プロファイリングによるドライマウス発生機序の解明

4. 財団、その他

杉本 昌隆 (代表) 200 万円 (総額 650 万円)

喫煙科学研究財団

喫煙病態における細胞老化の役割

丸山光生 (代表) 429.5 万円 (総額 1,523 万円)

IFOM (イタリア分子腫瘍学財団研究所)

Epigenetics of immune dysregulation in aging.

丸山光生 (代表) 39.4 万円 (総額 39.4 万円)

北海道大学一般共同研究

加齢に伴う感染、炎症に関わる免疫系シグナルの変化と個体老化における制御メ

カニズムの解析

丸山光生（代表）500万円（総額 1,500万円）

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

老化制御研究部

(1) 構成員

部長 今井 剛

流動・研究開発研究員

趙 宰庸 津川 陽司

(2) 2019年度研究活動の概要

筆頭著者、最終・責任著者が老化制御研究部の査読付き英文学術論文4報

1 アルギニンによるインスリン分泌促進機構の解明

科学的根拠に基づいた健康寿命延伸法であるカロリー制限の第一義は糖代謝改善である。また、現代の国民病と言われる糖尿病は平均寿命が男女共約10年短いため、糖代謝改善により健康寿命が約10年長くなることが予想される。また、日本人はピマインディアンと並び世界的に見てインスリン分泌不全であるため、欧米白人に多く見られる肥満・高インスリン分泌・インスリン抵抗性（いわゆるシンドロームX）はまずいない。よって日本人の糖代謝改善にはインスリン分泌促進が重要である。

アルギニンは最も強力なインスリン分泌促進物質であるが、その作用機構は明らかになっていない。そのため、アルギニンのターゲット（いわゆる受容体）を同定した。UGGT1であった。さらにはUGGT1とアルギニンはインスリンのみならずIGF-1（インスリン様成長因子1）の分泌も制御していることを明らかにした。（参考文献3, 4）

2 アルギニンによるインスリン分泌促進機構の解明2

アルギニンのターゲット因子をUGGT1以外にも2つ同定しており、その一つはE3ユビキチンリガーゼであった。（参考文献5）

3 新規肝臓再生因子の同定

高齢者には手術等の体に負担のかかる再生医療は難しいため、薬剤による再生医療法を開発中である。まずは、肝臓をもとに研究を行っており、女性ホルモンに肝再生活性があることを見出した。女性ホルモンは肝臓において、女性ホルモン受容体（ESR1）の発現を活性化し、肝細胞増殖と脂質代謝活性化を行うことを明らかにした。また、女性ホルモンは、性周期、妊娠時、部分肝臓切除時に上昇することを明らかにし、その上昇時にESR1の発現を上昇させること

をも明らかにした。(参考文献 1, 2)

参考文献

1 Tsugawa Y, Hiramoto M, Imai T*. Estrogen induces Estrogen Receptor α expression and hepatocyte proliferation in the late pregnancy. **Biochem Biophys Res Commun** 511, 592-596, 2019.

2 Tsugawa Y, Natori M, Handa H, and Imai T*. Estradiol accelerates liver regeneration through estrogen receptor α . **Clinical and Experimental Gastroenterology** 12, 331-336, 2019.

3 Tsugawa Y, Handa H, and Imai T*. Arginine induces IGF-1 secretion from the endoplasmic reticulum. **Biochem Biophys Res Commun** 514, 1128-1132, 2019.

4 Cho J, Hiramoto M, Masaike Y, Sakamoto S, Imai Y, ImaiY, Handa H, Imai T*. UGGT1 retains proinsulin in the endoplasmic reticulum in an arginine dependent manner. **Biochem Biophys Res Commun** in press.

5 Ando H, Sato T, Ito T, Yamamoto J, Sakamoto S, Nitta N, Asatsuma T, Shimizu N, Mizushima R, Aoki I, Imai T, Yamaguchi Y, Berk AJ, Handa H. Cereblon control of zebrafish brain size by regulation of neural stem cell proliferation. **iScience** 15, 95-108, 2019.

研究業績（老化制御研究部）

I. 論文発表

1. 原著（全て査読付き英文学術論文）

Tsugawa Y, Hiramoto M, Imai T*.

Estrogen induces Estrogen Receptor α expression and hepatocyte proliferation in the late pregnancy.

Biochem Biophys Res Commun 511, 592-596, 2019.

Tsugawa Y, Natori M, Handa H, and Imai T*.

Estradiol accelerates liver regeneration through estrogen receptor α .

Clinical and Experimental Gastroenterology 12, 331-336, 2019.

Tsugawa Y, Handa H, and Imai T*.

Arginine induces IGF-1 secretion from the endoplasmic reticulum.

Biochem Biophys Res Commun 514, 1128-1132, 2019.

Cho J, Hiramoto M, Masaike Y, Sakamoto S, Imai Y, ImaiY, Handa H, Imai T*.

UGGT1 retains proinsulin in the endoplasmic reticulum in an arginine dependent manner.

Biochem Biophys Res Commun in press.

Ando H, Sato T, Ito T, Yamamoto J, Sakamoto S, Nitta N, Asatsuma T, Shimizu N, Mizushima R, Aoki I, Imai T, Yamaguchi Y, Berk AJ, Handa H.

Cereblon control of zebrafish brain size by regulation of neural stem cell proliferation.

iScience 15, 95-108, 2019.

Isobe T, Tange S, Tasaki H, Kanamori K, Kato A, Nakanishi A.

Upregulation of CHOP Participates in Caspase Activation and Virus Release in Human Astrovirus-Infected Cells.

J Gen Virol 100(5):778-792. 2019.

J. Cho, Y. Fukuda, N. Shirakigawa, H. Iijima,

Examination of conditions for optimized. decellularized liver preparation,
Asian Journal of Research in Biochemistry 5, 1-8, 2019

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

11. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

今井 剛

新たに同定したアルギニンシグナル

第5回 NCC-TMC セミナー, 2019年11月7日, 鶴岡,

2. 国際学会発表

該当なし

3. 国内学会発表

該当なし

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

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」

津川陽司（代表）130万円（総額273万円）

文部科学省科研費若手

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

4. 財団、その他

該当なし

統合加齢神経科学研究部

(1) 構成員

部長 田口 明子

室長 神経内分泌学研究室 多田 敬典

流動・研究開発研究員

田之頭 大輔 王 蔚

外来研究員

福井 裕介

客員研究員

大澤 匡弘(名古屋市立大学薬学部准教授)

研究補助員・事務補助員

丸山 めぐみ 黒岩 智恵美 新村 美希

(2) 2019年度研究活動の概要

統合加齢神経科学研究部(田口、田之頭、王、福井、大澤、丸山、黒岩、新村)は、“脳の代謝調節経路の変化が個体全身へ影響を与える”という我々のこれまでの研究結果に鑑みて、糖尿病を含む代謝疾患が認知症のリスク要因となることに着目し、認知症を全身疾患として捉え研究を展開している。研究課題である「糖代謝調節経路の変化を指標とした栄養代謝の変容と認知機能障害の関係」について、2019年度は以下の研究成果が得られた。

1.糖尿病および老化に伴う認知機能低下: 中年期以降の2型糖尿病モデルマウスおよび老齢マウスにおける認知機能の低下にはアミロイドβ(Aβ)の変化は付随せずアルツハイマー病(AD)患者死後脳で観察された糖代謝経路調節因子群の変化が連動するが、1型糖尿病モデルマウスで誘導される認知機能障害にはAβ・糖代謝経路調節因子群の両方が関与しないことを明らかにした。2. ADにおける認知機能低下: 次世代型ADモデルマウスは若齢期からAβが増加しているにも関わらず認知機能は正常であるが、この時、糖代謝経路調節因子群の変化が惹起されていることを突き止めた。認知機能低下を生じる中年期でも同様の変化が引き続き起こっていることが分かった。以上から、糖代謝経路調節因子群の変化は、2型糖尿病および老化に伴うAβ非依存型認知機能低下に連動する指標となる可能性がある一方で、ADにおいては、認知機能低下より以前に見られるAβ増加を反映するマーカーとなることが示唆された(Wang*, Tanokashira* et al. 2019)。

神経内分泌学研究室：多田 敬典

加齢性内分泌変化に伴うシナプス機能を介した

社会的認知行動異常に関する研究

加齢性に進行する認知症病態では、記憶障害などの中核症状とそれらに付随する周辺症状と呼ばれる焦燥・易怒性攻撃行動など社会的認知行動異常が発現することが知られている。これまでに申請者は、コルチゾール（ストレスホルモンの一つ）過剰分泌によるシナプス機能障害が認知機能障害及び攻撃行動発現を誘導することを明らかにしてきた（Tada et al., *Sci. Rep.*, 2017; Tada et al., *PNAS*, 2016; Miyazaki et al., *J. Clin. Invest.* 2012）。近年、高齢者における内因性のコルチゾール分泌パターン変化と認知症症状との関連が注目されており、また加齢とともに生じるコルチゾール分泌日内変動の振幅リズムの消失が老化促進に関与していることが報告されている（Hood and Amir, *J Clin Invest*, 2019; Sharma et al., *Biol Psych*, 1989）。

本年度は、加齢マウスの認知機能評価に加え易怒性攻撃行動について解析を行った。加齢動物の易怒性攻撃行動評価として、他個体との接触を必要としない対物攻撃行動測定装置（ARM; Aggression Response Meter）を用いた。本解析では、刺激棒に対して噛む、引っ張ることにより加えられた力の強度と方向を加重センサーによって検出し、対物攻撃行動を評価した。加齢動物は若齢動物に比べて易怒性攻撃行動が上昇することを申請者は見出した。さらに社会的隔離による慢性的なストレス環境下で飼育し、コルチゾール分泌異常を惹起することで、さらなる攻撃行動の上昇が見られることを確認した。現在、認知機能・攻撃行動発現担当脳部位である海馬と内側前頭前野（mPFC; medial prefrontal cortex）シナプス分画を抽出し、AMPA型グルタミン酸受容体の膜移行性及びアクチン脱重合因子コフィリンの活性について加齢マウスを用いた解析を行い、加齢性内分泌変化と社会的認知行動異常、スパイン内アクチン線維流動性及びシナプス可塑性との相関性について検討を試みている。

参考文献

Tada H et al., Social isolation suppresses actin dynamics and synaptic plasticity through ADF/cofilin inactivation in the developing rat barrel cortex. **Scientific Report**, 7(1):8471, 2017.

Tada H et al., Neonatal isolation augments social dominance by altering actin dynamics in the medial prefrontal cortex. **PNAS**, 113(45): E7097-E7105, 2016.

研究業績（統合加齢神経科学研究部）

I. 論文発表

1. 原著

Hirai T, Mitani Y, Kurumisawa K, Nomura K, Wang W, Nakashima K, Inoue M
Berberine stimulates fibroblast growth factor 21 by modulating the molecular
clock component brain and muscle Arnt-like 1 in brown adipose tissue.
Biochem. Pharmacol., 164:165-176, 2019.

Wang W, Tanokashira D, Fukui Y, Maruyama M, Kuroiwa C, Saito T, SaidoTC,
Taguchi A

Serine Phosphorylation of IRS1 Correlates with A β -Unrelated Memory Deficits
and Elevation in A β Level Prior to the Onset of Memory Decline in AD.
Nutrients, 11(8), 1942; Aug., 2019.

2. 総説

Tanokashira D, Fukuokaya W, Taguchi A

Involvement of insulin receptor substrates in cognitive impairment and
Alzheimer's disease.
Neural Regen Res., 14(8):1330-1334, 2019.

田口明子

代謝・神経機能障害と脳内インスリンシグナル; The relations between neural
insulin signaling and metabolic and neural dysfunctions.
日本老年医学会誌, 56: 234-240, 2019.

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道, 等

田口明子

糖尿病リソースガイド, 2019年8月27日, 1型・2型糖尿病にともなう認知機能障害はアミロイド β の変化とは独立に惹起される

田口明子

脳科学メディア, 2019年8月30日, 脳インスリンシグナルの変化は、2型糖尿病および老化に伴うアミロイド非依存型の認知機能低下に連動する一方、アルツハイマー病では、認知機能低下以前のアミロイド上昇に関与することを解明

田口明子

GHC Evolving Media for Medicine, 2019年8月27日, 糖尿病に伴う認知機能障害・老化に伴う認知機能低下、アミロイド β 変化とは独立に惹起

田口明子

保険福祉の現場から「認知症予防と認知症教育」, 2019年8月28日, 脳インスリンシグナルの変化は、2型糖尿病および老化に伴うアミロイド非依存型の認知機能低下に連動する一方、アルツハイマー病では、認知機能低下以前のアミロイド上昇に関与することを解明

田口明子

Ameba 「誤診だらけの認知症」, 2019年8月28日, 脳インスリンシグナル糖尿病および老化の認知機能低下に連動

田口明子

Facebook 「注目プレスリリース」, 2019年8月29日, 統合加齢神経科学研究部の田口明子部長らが、脳インスリンシグナルの変化は、2型糖尿病および老化に伴うアミロイド非依存型の認知機能低下に連動する一方、アルツハイマー病では、認知機能低下以前のアミロイド上昇に関与することを解明

田口明子

Beagle-HC 医薬品・医薬機器の研究・開発ポータルサイト, 2019年8月22日, 脳インスリンシグナルの変化は、2型糖尿病および老化に伴うアミロイド非依存型の認知機能低下に連動する一方、アルツハイマー病では、認知機能低下以前のアミロイド上昇に関与することを解明

6. 特許申請、取得状況

なし

11. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

Akiko Taguchi

Metformin enhances neurogenesis and memory function via hippocampal insulin signaling independent of the hypoglycemic effect.

8th Annual World Congress of Advanced Materials, July 23, 2019,
Osaka, Japan.

Akiko Taguchi

Metformin enhances neurogenesis and memory function via hippocampal insulin signaling independent of the hypoglycemic effect.

17th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology,
July 26, 2019, Kyoto, Japan.

Akiko Taguchi

Metformin enhances adult neurogenesis and memory function through hippocampal IRS1 signaling independent of the hypoglycemic effect.

10th World Gene Convention, September 21, 2019, Qingdao, China.

Akiko Taguchi

Antidiabetic medication enhances neurogenesis and memory function via hippocampal insulin signaling.

2019 International Conference on Biotechnology and Bioengineering,
September 27, 2019, Poznan, Poland.

田口明子

アミロイドβ 関連/非関連認知機能低下と脳インスリンシグナル —— 認知症発症
既存仮説 vs. 多様な潜在的機構 ——

第2回B6J Aged研究会, 2019年11月26日, 横浜市, 日本.

田口明子

糖代謝変容と高次脳機能障害を結ぶ潜在的経路としての脳インスリンシグナルの役割.

第11回 Stroke Science Academy, 2019年12月6日, 福岡市, 日本.

多田敬典, 高橋琢哉

慢性ストレス環境に伴う社会的行動障害誘導機構の解明

第93回薬理学会年会, 2020年3月16日, 横浜市

多田敬典

生活環境による内分泌変化が脳認知機能に及ぼす影響

第40回日本基礎老化学会シンポジウム, 2020年2月9日, 名古屋市

多田敬典.

精神神経疾患における攻撃性制御の意義と分子機序の解明

第31回日本行動神経内分泌研究会 攻撃行動シンポジウム, 2019年9月3日, 山梨県南都留郡

Tada H.

Chronic stress environment causes social cognitive impairment and excessive aggression by altering synaptic plasticity in rat medial prefrontal cortex. 35th Spring International Conference of the Korean Society for Gerontology and Korea-Japan Joint Symposium, 2019年6月27日, South Korea

2. 国際学会発表

Daisuke Tanokashira, Yusuke Fukui, Wei Wang, Megumi Maruyama, Chiemi Kuroiwa, Takashi Saito, Takaomi C. Saïdo, Akiko Taguchi

Phosphorylation of specific serine sites on hippocampal insulin receptor substrate 1 is associated with Alzheimer's disease-unrelated memory deficit and -related pathology.

Society for Neuroscience, October 23, 2019, Chicago, USA.

3. 国内学会発表

田之頭大輔、王 蔚、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

2型糖尿病による海馬IRSシグナル変化とアルツハイマー病態との関連.

第 28 回海馬と高次脳機能学会, 2019 年 9 月 29 日, 東京, 日本.

王 蔚、田之頭大輔、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

セリンリン酸化を介した海馬 IRS1 シグナルと認知機能障害の関係についての検討.

第28回海馬と高次脳機能学会, 2019年9月29日, 東京, 日本.

田之頭大輔、王 蔚、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

2型糖尿病が海馬 IRS シグナルおよびアルツハイマー病態へ与える影響.

第34回日本糖尿病合併症学会, 2019年2019年9月28日, 大阪, 日本.

王 蔚、田之頭大輔、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

認知機能障害発症における海馬 IRS1 セリンリン酸化の役割.

第34回日本糖尿病合併症学会, 2019年2019年9月28日, 大阪, 日本.

田之頭大輔、王 蔚、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

2型糖尿病による海馬 IRS シグナルの変化とアルツハイマー病態増悪化との連関.

第 38 回日本認知症学会, 2019 年 11 月 8 日, 東京, 日本.

王蔚、田之頭大輔、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

認知機能低下における海馬 IRS1 セリンリン酸化の役割.

第 42 回日本分子生物学会, 2019 年 12 月 6 日, 福岡市, 日本.

田之頭大輔、王 蔚、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

海馬 IRS シグナルを介した糖尿病によるアルツハイマー病増悪化機構.

第 34 回日本糖尿病・肥満動物学会, 2020 年 1 月 31 日, 群馬県高崎市, 日本.

王 蔚、田之頭大輔、福井裕介、丸山めぐみ、黒岩智恵美、斉藤貴志、西道隆臣、田口明子

認知機能低下におけるセリンリン酸化を介した海馬 IRS1 シグナルの変化.

第 34 回日本糖尿病・肥満動物学会, 2020 年 1 月 31 日, 群馬県高崎市, 日本.

Wei Wang, Daisuke Tanokashira, Yusuke Fukui, Megumi Maruyama, Chiemi Kuroiwa, Takashi Saito, Takaomi C.Saido, Akiko Taguchi

Modification of hippocampal IRS1 via Serine Phosphorylation Correlates with A β -Unrelated Memory Deficits.

Adult Neurogenesis Meeting 2020, 2020 年 2 月 21 日, Kagaribi no Yu Ryokusuitei, Sendai, Japan.

Tada H, Takahashi T.

Chronic stress causes excessive aggression by altering synaptic actin dynamics in the mPFC.

第 42 回日本基礎老化学会, 2019 年 6 月 6 日, 仙台市

4. その他、セミナー等

多田敬典

加齢・慢性ストレスに伴うシナプス機能変化を介した認知機能障害進行メカニズムの解析

群馬大学・第 75 回脳神経発達統御学セミナー, 2020 年 2 月 17 日, 前橋市

多田敬典

認知症研究とストレス・老化

第 2 回生理学研究所脳科学的勉強会, 2019 年 11 月 1 日, 岡崎市

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

王 蔚 (分担) 5 万円

科学研究費助成事業 挑戦的研究 (萌芽) 田口明子 (代表)

低栄養による認知機能低下促進経路の探索

王 蔚（分担）5万円

科学研究費助成事業 基盤研究（B）田口明子（代表）

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

福井裕介（代表）143万円（総額 299万円）

研究活動スタート支援

高血圧による認知機能障害とインスリンシグナルの相関性についての解明

福井裕介（分担）5万円

科学研究費助成事業 基盤研究（B）田口明子（代表）

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

田之頭大輔（代表）169万円（総額 416万円）

科学研究費助成事業 若手研究（B）

脳インスリンシグナルを指標とした糖尿病によるアルツハイマー病発症誘導機構の検討

田之頭大輔（分担）5万円

科学研究費助成事業 挑戦的研究（萌芽）田口明子（代表）

脳の代謝調節因子を制御する化合物の探索

田口明子（代表）672万円（総額 1716万円）

科学研究費助成事業 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）192万円（総額 650万円）

科学研究費助成事業 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

田口明子（代表）390万円（総額 650万円）

科学研究費助成事業 挑戦的研究（萌芽）

低栄養による認知機能低下促進経路の探索

多田敬典（代表）351万円（総額 2457万円）

若手研究（A）

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

多田敬典（分担） 13 万円

基盤研究（C）

新規 1 型糖尿病モデルマウスを用いたアルツハイマー病誘導メカニズムの解明

多田敬典（分担） 6 万円

基盤研究（C）

精神疾患の病因解明を目指す、血中抗 NMDA 受容体抗体測定法の開発と測定

4. 財団、その他

田口明子（代表） 50 万円

第一三共製薬 奨学研究サポート

アミロイド β ($A\beta$) 非依存的認知機能障害病態解明に関する研究

田口明子（代表） 30 万円

塩野義製薬 奨学研究サポート

認知機能障害発症機構解明に関する研究

田口明子（代表） 30 万円

アステラス製薬 奨学研究サポート

認知機能障害の発症機序解明に関する研究

多田敬典（代表） 100 万円（総額 600 万円）

長寿科学振興財団：長寿科学研究者支援事業

シナプスエイジング分子メカニズム解明による認知症治療薬開発基盤の構築

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

研究補助員

松崎 三記子

(2) 2019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 GE Healthcare 社の IN Cell Analyzer 2000、Nikon 社のタイムラプスイメージング装置 Bio Station IM-Q、Molecular Devices 社の SpectraMax Paradigm マルチモードマイクロプレートリーダー、共焦点レーザー顕微鏡 LSM、Caliper 社の IVIS Imaging System 等の共同利用機器の講習会を再度行い、機器の適正な使用に関して指導を行った。さらに、FACS Canto II フローサイトメーター、共焦点レーザー顕微鏡 LSM700, LSM780、AKTA 液体クロマトグラフィー、LTQ orbitrap Veros 質量分析装置、リアルタイム PCR CFX96、マイクローム RM2265、オートクレーブ、超純水装置 Milli-Q 等の共同利用機器の修理や保守等に対して、迅速な処理を行うとともに、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について、質量分析等の研究支援を行った。研究に関しては、アルツハイマー病の血漿中の変動タンパク質の解析及びヒト血漿中の変性 ApoE の解析を行った。

アルツハイマー病の血漿中の変動タンパク質の解析

アルツハイマー病患者 20 例及び認知機能正常者 20 例の血漿を用い、網羅的プロテオーム解析を試みた。全処理として、アルブミン等の主要な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。各々の画分はそれぞれ直接トリプシンで消化し、質量分析を行った。得られたデータは Proteome discoverer で検索を行い、同定されたタンパク質を Scaffold ソフトウェアのスコアをもとにリストを作成した。アルツハイマー病患者で認知機能正常者よりスコアが高かったのは、Apolipoprotein B や Kelatin 等で、逆に低かったのは Haptoglobin や Clusterin 等であった。質量分析によってアルツハイマー病患者群と認知機能正常群で変化が見られた ApolipoproteinB、Kelatin、Haptoglobin 及び Clusterin について、ウェスタンブ

ロットによって確認を行ったが、顕著な違いは見られなかった。これらの結果から単なるタンパク質の量的な違いだけではなく、特定の部位での翻訳後修飾等の質的変化が起こっていないかについても解析する必要があると考えられた。

血漿中の変性 ApoE の解析

アルツハイマー病患者と認知機能正常者の血漿をアルブミン、IgG、IgA、 α 1-アンチトリプシン、トランスフェリン、ハプトグロビン、フィブリノゲン、 α 2-マクログロブリン、 α 1-酸性糖タンパク質、補体タンパク質 C3、IgM、アポリポプロテイン AI、アポリポプロテイン AII、トランスサイレチンといった血液中に高濃度に含まれる主要な 14 種類のタンパク質の抗体が固定化されたアフィニティーカラムを用いて、液体クロマトグラフィーで分離を行い、素通り画分と吸着した画分に分けたところ、本来は見られないはずの吸着画分に、ごく一部変性した ApoE があり、それらは ApoE4 を持つ検体で多く見られた。変性した ApoE は ApoE の C 末の抗体を用いたウエスタンブロットによって、モノマーから高分子領域までスメアを呈した。一方で ApoE の C 末以外の抗体ではこのような変化は見られなかった。それらの変化を調べるために、アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿の各々の画分を質量分析した結果、アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿の素通り画分からそれぞれ ApoE の配列の約 76% 及び約 66% の領域をカバーすることが出来た一方で、アルツハイマー病患者及び認知機能正常者の血漿の吸着画分からはそれぞれ ApoE の配列の約 27% 及び約 18% の領域しかカバー出来なかった。量的な問題に加えて、ヒト ApoE では、glycosylation や sialylation 等の修飾が報告されていることから、アミノ酸そのものの変化に加えて、同定出来なかった領域については翻訳後修飾を加味した解析が必要であると考えられた。

ApoE の蓄積による変化をみるため、リコンビナント ApoE を用い、リン酸緩衝液中、長時間インキュベートとすることで、ApoE がどのように変化するかを SDS 電気泳動及び抗 ApoE 抗体を用いたウエスタンブロットで解析した結果、ApoE3 及び ApoE4 は分解とともに、重合がおこり、変性したスメア状の ApoE が観察されたが、ApoE3 と ApoE4 では分解と重合のパターンは異なっていた。そこで、これら変性した ApoE の違いを質量分析装置で解析した結果、ApoE3 では 1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月とインキュベート時間の増加に伴い、VRAATVGLSLAGQPLQERAQAWGERLR [207-215] の領域のペプチドが同定されなくなった。ApoE4 についてはインキュベートに伴い、AWGERLRARMEEMGSRTR[190-226] のペプチドが同定されなくなった。これらの領域で、アミノ酸側鎖の変化及び切断が起きている可能性が示唆された。

研究業績（共同利用推進室）

I. 論文発表

1. 原著

Shimada T, Shindo A, Matsuyama H, Yata K, Niwa A, Sasaki R, Ayaki T, Maki T, Wakita H, Tomimoto H

Chronic cerebral hypoperfusion upregulates leptin receptor expression in astrocytes and tau phosphorylation in tau transgenic mice.

Neuroscience Letters, 704:133-140, 2019.

Takahashi Y, Wakita H, Mizutani K, Watanabe A, Sonoda S, Tomimoto H

Selective accumulation of adiponectin in the cerebral cortex under chronic cerebral hypoperfusion in the rat.

NeuroReport, 31:148-155, 2020.

亀山昭彦, 松野裕樹, 飯田真由, 丸山光生, 渡邊 淳, 山越貴水

分子マトリックス電気泳動で解明する唾液腺ムチンの老化に伴う変化.
電気泳動, 63 (2): 55-61, 2019.

2. 総説

脇田英明 慢性脳低灌流と認知症 **最新医学**, 74: 32-37, 2019.

3. 著書、Chapters

脇田英明 Binswanger 病 脳静脈洞・脳静脈閉塞（血栓）症 内科疾患による認知症 新臨床内科学 第10版 第10章, 2020.

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

Takahashi Y, Wakita H, Mizutani K, Watanabe A, Sonoda S, Tomimoto H
Accumulation of adiponectin in the cerebral cortex under chronic cerebral hypoperfusion in the rat

第60回日本神経学会学術大会 2019年5月23日, 大阪

渡邊 淳

アルツハイマー病患者の血漿タンパク質の変動解析

第38回日本認知症学会学術集会, 2019年11月7日, 東京

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

渡邊 淳 (代表) 143 万円

科学研究費補助金 基盤研究 (C)

アルツハイマー病患者の血中タンパク質の変動解析

渡邊 淳 (分担) 一括計上

科学研究費補助金 基盤研究 (B)
アルツハイマー型認知症の脳内炎症の動態・役割の解明から治療へ : PET 炎症画像研究

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

松原 聡子 (～R1.9)

技術研究員

アルムニア・フリオ

客員研究員

澤田 浩秀、北川 章、青木 正博

外来研究員

植田 亮、大岡 史治

研究生

藤岡 祐介、小間 義明

研究補助員

秋山 彩子

河崎 晴香 (R1.11～)

(2) 2019年度実験動物管理室・運営の概要

実験動物管理室では、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（AF 動物）等の動物福祉に配慮した飼育管理、長寿医療研究センター内の飼養保管施設（第1研究棟RI管理区域、第2研究棟3階）等を中心とする施設の適切な管理・運営に努めるだけでなく、長寿医療研究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。

研究支援業務として生殖工学技術を利用した技術支援（マウスのクリーン（SPF）化、受精卵や精子の凍結保存、凍結保存からの蘇生等）および動物実験手技（皮下投与等）の指導を行った。また、共同研究として、企業を含む6機関との共同で実施した。

人事では、研究開発研究員1名が9月に退職した。11月には研究補助員1名が着任した。

1) 実験動物施設棟の利用実績

令和元年度の実験動物施設棟の利用者はのべ4,282人（前年比3.2%増）あった（図1）。

2) 実験動物等の搬出入

ブリーダーや他の研究機関から192件（マウス160件2,748匹（前年比1.9%

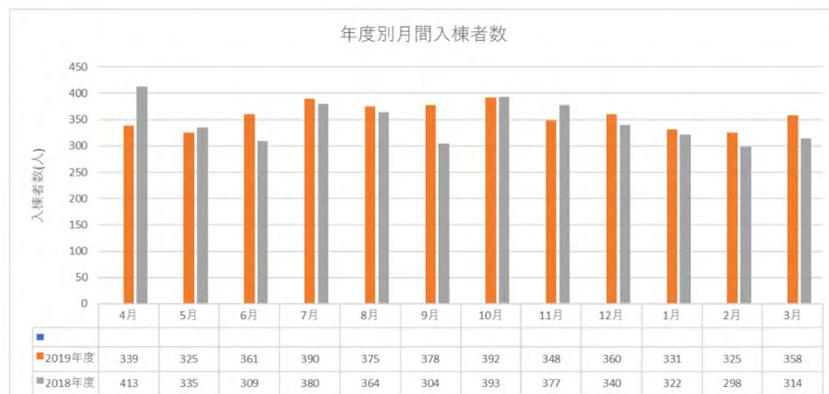


図1 実験動物施設棟の年度別月間入棟者数

増)、ラット 37 件 418 匹（前年比 36.1%増）の動物の搬入の他、5 件の凍結保存サンプル（精子、受精卵）の搬入があった。また、海外を含む他の研究機関から供与されるマウスについて、凍結精子や受精卵による導入を行った。一方、動物の搬出については、マウス 5 件（49 匹）と減少（前年比 31.9%減）した。

3) 技術支援業務

研究支援業務として遺伝子組換え動物の作製を 15 件（エレクトロポレーション 7 回、マイクロインジェクション 8 回）実施した。

技術支援業務としては 10 研究部（室）・PL から 56 件（前年比 7.1%増）の依頼があった。凍結胚からの蘇生 7 件（7 系統）、精子凍結保存 17 件（17 系統）、マウスクリーン化等（凍結精子や冷蔵輸送された精巣上体尾部由来の精子の蘇生、凍結精子の受精能確認を含む）による体外受精 32 件（32 系統）を行った。その中でも海外を含む研究機関から、凍結精子 2 系統のクリーン化を実施した。

その他、マウス・ラットの実験動物手技に関する技術支援（指導含む）3 件（尾静脈採血 1 件、尾静脈投与（ラット）1 件、プラグ確認 1 件）を行った。

4) エイジングファーム動物供給状況

2019 年度のエイジングファーム動物の供給件数は、全てマウスで 28 件であった。内訳は、C57BL/6NCRSlc マウス（24 件） 雄 151 匹、雌 19 匹、C57BL/6J マウス（4 件） 雄 25 匹、雌 10 匹であった。

5) 実験動物施設棟の設備機器等のトラブルへの対応

実験動物の飲料水製造装置（RO 装置）のポンプからの漏水（9 月）、更衣室ドアノブの経年劣化による不良（2020 年 1 月）が発生し、交換や修理を行った。

実験動物施設棟（建屋）では、6 月にヤスデが大量異常発生しその駆除に苦慮

した。また、7月には建物西側の斜面に漏水が確認され、地下配水管の一部が熱で溶けてしまっていた。原因は設計施工ミスであった。その修繕が2020年3月から進められて年度末までには完了できなかった。

6) 実験動物施設棟の環境衛生整備

2012年度に新棟が完成後8年目を経過し、懸案となっているAF動物の(長期)飼育に適切な環境の整備について、①空調ダクトの構造(真菌類が発生しやすい)、②クリーンおよびダーティ廊下の空調設備(一般エアコンによる温度調整のみ)③飼育室内の照度(標準的な照度の3倍以上の明るさ)等の問題点が挙げられていたが、次年度も引き続き、適正な飼育環境の整備を理事長、研究所長を通じて打診していきたい。

7) 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76件(承認76件、非承認および非該当取り下げ0件)あった。そのうち1件は、不適切な動物実験の実施および実験動物の取扱いが発覚し、臨時動物実験倫理委員会で審議後、研究部の当事者および動物実験責任者の動物実験中止を命じた。

動物実験取扱規程による動物実験講習会(教育訓練)を10回開催し114名(新規31名、継続83名)の受講があった。

加齢育成動物の適正な飼育環境の検討と加齢変化に伴う基礎データの収集と解析:

長寿医療研究センターで育成している自然老化動物(AF動物)の老化・老年病モデル動物としての有用性(外部研究機関への供給、情報発信含む)や老化の指標を検証するために、2018年度から継続して検討を行った。また様々な検証を進める中で、長期飼育に適切な環境の探索(環境エンリッチメントの有用性)および自然発症の『フレイル』モデル動物の開発についても合わせて実施した。

4週齢のC57BL/6NCrSlc(B6N)マウスおよびC57BL/6J(B6J)マウスについて雄20匹、雌20匹を3~6ヵ月ごとに導入し、生涯飼育することにより高齢化させて以下のような網羅的な解析を計画し解析を進めた。(生存率や剖検所見等の一部の解析には、研究者向けに供給しているAFマウスを使用した)

1. 生理学的解析(体重、摂餌・摂水量、寿命(生存率)、体温等)
2. 行動学的解析(ロータロッド試験、前肢握力試験、行動観察(脱毛)等)
3. 病理・形態学的解析(剖検・解剖所見、病理組織学的観察等)

4. 生化学・免疫学的解析（IL 等の炎症性サイトカイン、ストレス性ホルモン（CORT）等）
5. 血液学的解析（血算、白血球分画、白血球形態）

1. 生理学的解析

加齢に伴う体重変化について、B6N マウスでは雄が 16～18 ヶ月齢（16 ヶ月齢（ $44.4 \pm 6.5g$ ））、雌は 20～22 ヶ月齢（20 ヶ月齢（ $37.8 \pm 6.5g$ ））、B6J マウスで雄が 13～15 ヶ月齢（14 ヶ月齢（ $37.2 \pm 3.5g$ ））、雌は 22～23 ヶ月齢（22 ヶ月齢（ $30.1 \pm 2.5g$ ））においてピークとなり、系統（由来）の差が明らかとなった。一方、B6N 雄マウスは 23 ヶ月齢から、B6J 雌マウスでは 24 ヶ月齢から減少傾向を示したが、B6N 雌マウスおよび B6J 雄マウスでは体重の大きな変動は見られなかった（図 2）。

摂餌量については、B6N マウスおよび B6J マウスの雌雄ともに 24 ヶ月齢まで加齢に伴う変化は観察されなかったが、両系統ともに 22～23 ヶ月齢以降で食べこぼしが散見された。

摂水量では、B6N マウスおよび B6J マウスの雄で加齢に伴い増加傾向を示したのに対して、両系統の雌マウスには変動は観察されなかった。

生存率について、B6N マウスでは雌雄間で大きな差はなく、ともに 18 ヶ月齢前後で減少した。具体的には、28 ヶ月齢では雄 $69.1 \pm 13.5\%$ 、雌で $63.5 \pm 1.6\%$ であり、搬入する Lot によるばらつきが見られた（図 3）。

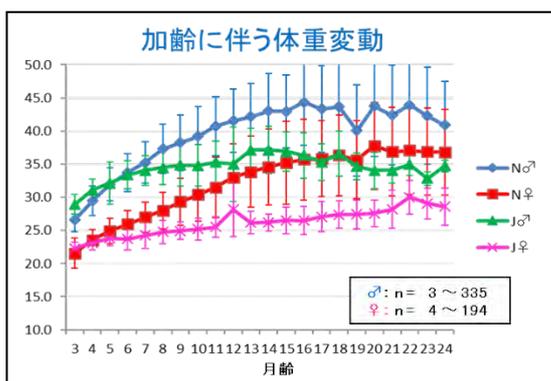


図 2 B6 マウスの体重変動

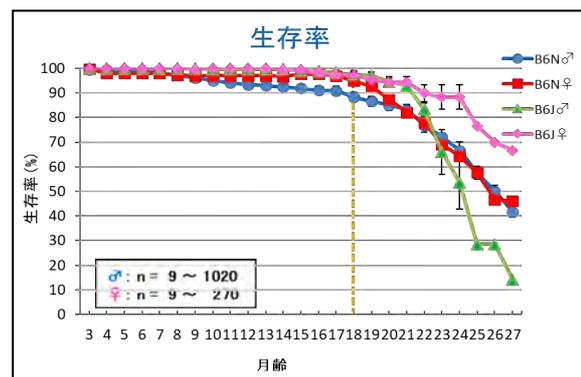


図 3 B6 マウスの生存率

2. 行動学的解析

運動機能を評価するためのロータロッド試験（ $n=5\sim 20$ ）について、B6N マウ

ス雄では3ヶ月齢、雌では6ヶ月齢)、B6Jマウス雌雄ともに3ヶ月齢をピークとして、加齢に伴う体重増加に依存して運動機能(走行時間)が低下した。また、雌の方が全体的に走行する時間が長い傾向が見られたが、B6Nマウスにおいて18ヶ月齢以降は明瞭な雌雄差は認められなかった。ロータロッド試験および握力試験の結果から、特に雄において系統差が認められた。老化度判定の行動観察の一つである脱毛の発見された個体数の発生率について、B6NマウスとB6Jマウスを月齢毎に比較したところ、特に雌マウスにおいて系統による差が確認された。

3. 病理・形態学的解析(組織)

B6Nマウスにおける自然死(雄329匹、雌138匹)による剖検から、雄では精嚢腺肥大(貯留)の76.6%をはじめとした肝臓退色、肝臓腫大および脾臓腫大、雌では肝臓退色(30.4%)、肝臓腫大および脾臓腫大が比較的多くの個体で観察されたが、生理学的な老化の所見となる臓器の顕著な萎縮等は認められなかった。本系統で3ヶ月毎に解剖したところ、6ヶ月齢頃より胃の中から毛玉が観察され、9ヶ月齢で脾臓の腫大や肝臓の病変、18ヶ月齢で腎臓の病変、24ヶ月齢で雄の精嚢腺の病変が認められた。一方、B6Jマウスにおいて24ヶ月齢より脾臓や肝臓の病変が観察され始めた。この解剖結果から、亜系統の加齢に伴う病気の発症時期の差が明らかになりつつあった。両系統においてさらに例数を増やして検討を行っている。

4. 生化学・免疫学的解析

3~24ヶ月齢の尿中コルチコステロン(ストレスホルモン)の解析結果から、B6Nマウスにおいて雄よりも雌の方に濃度が高く、加齢に伴い上昇傾向にあった。一方、B6Jマウスでは、21ヶ月齢まで雌雄ともに加齢に伴う大きな変化は観察されなかったが24ヶ月齢においてB6Nマウスと同レベルの高濃度の結果になった。

5. 血液学的解析

B6Nマウスを用いた血算結果から、加齢に伴い18ヶ月齢頃から白血球数は減少し、好中球の割合が増加する一方、リンパ球については減少する傾向が見られた。赤血球についても加齢に伴い血球数が減少する傾向が認められた。形態学的には、18ヶ月齢を越える頃から好中球やリンパ球、赤血球の異形成が観察された。

以上の解析結果から、本研究結果から加齢に伴う体重減少、運動機能低下、

解剖所見（病気の発症時期）、ストレスホルモン、白血球組成の変化など、個体レベルでの老化マーカーの候補となる加齢変化の他、マウス系統の特性がいくつか認められた。

今回の結果から個体レベルでの明瞭な加齢変化は認められなかったが、若齢個体を含めた月齢単位に例数を増やして多面的な解析を行うことにより新たな老化の指標となるパラメーターの探索を行う計画である。また、動物種や系統によって加齢に伴う老化の進行、自然発症する疾患の種類が異なることから、実験を行う場合はその実験系に適した動物種や臓器等のサンプルを選択する必要がある、AF 動物における基礎データは加齢動物を用いて研究を行う上で非常に有益な情報となり得るため、将来の老化・老年病モデル動物のバイオリソースとしてこれらのデータを蓄積し、外部へ向け発信し続けることが今後の課題である。

研究業績（実験動物管理室）

I. 論文発表

1. 原著

Ohka F , Deguchi S, Katsushima K, Shinjo K , Kato A, Yamamichi A, Suzuki H, Aoki K, Matsui Y, Shimamura T, Maruyama R, Sato S, Takahashi S, Ogiso N, Suzumura A, Kimura H, Wakabayashi T, Zong H, Natsume A, and Kondo Y
Pathogenic Epigenetic Consequences of Genetic Alterations in IDH-Wild-Type Diffuse Astrocytic Gliomas.
Cancer Res. 79:4814-27 (2019)

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

なし

2. 国際学会発表

Ogiso N, Matsubara S, Almunia Julio, Sazi T, Tomita K, Yamaguchi K , Tamura

S, Maruyama M

Utility of aging farm mice to use for geriatrics in NCGG
14th felasa Congress, 11 June, Prague , Czech , 2019

Ogiso N , Matsubara S , Almunia Julio , Sazi T , Tomita K, Yamaguchi K ,
Tamura S, Maruyama M

Search for characteristic change of the strain and definitive senescence
biomarkers in C57BL/6 (naturally -aged) mice. 70th AALAS National Meeting, 15
October, Denver,USA, 2019

3. 国内学会発表

富田耕平、谷井駿一、松原聡子、アルムニア・フリオ、小木曾昇
ラットにおける加齢に伴う血液および尿中パラメータ変化について
第 66 回日本実験動物学会総会 2019 年 5 月 16 日 福岡市

小木曾昇、松原聡子、アルムニア・フリオ、山口一路、田村槇哉、富田耕平
国立長寿研における自然老化動物の有用性について
第 66 回日本実験動物学会総会 2019 年 5 月 16 日 福岡市

アルムニア・フリオ、松原聡子、佐治多美子、山口一路、田村槇哉、富田耕平、小木曾昇
自然老化マウスを用いた血液学・病理形態学的な加齢変化について、
第 53 回日本実験動物技術者協会総会,2019 年 10 月,松山

大麻孝志、藤原智子、田村槇哉、富田耕平、松原聡子、アルムニア・フリオ、
小木曾昇
マウスにおけるストレスマーカーと状態異常の関連性について
第 53 回日本実験動物技術者協会総会,2019 年 10 月,松山

富田耕平、田村槇哉、山口一路、松原聡子、アルムニア・フリオ、小木曾昇、
マウスにおける亜系統差が加齢変化に及ぼす影響について
第 53 回日本実験動物技術者協会総会, 2019 年 10 月,松山

小木曾昇、松原聡子、アルムニア・フリオ、谷井駿一、富田耕平

自然老化ラットを用いた加齢に伴う生体パラメータの変化について
第 53 回日本実験動物学会総会,2019 年 10 月,松山

4. その他、セミナー等

富田耕平、谷井駿一、松原聡子、アルムニア・フリオ、小木曾昇
F344 ラットにおける加齢に伴う血液および尿中パラメータ変化について
第 91 回東海実験動物研究会 2019 年 6 月 29 日 名古屋市

小木曾昇、松原聡子、アルムニア・フリオ、山口一路、田村槇哉、富田耕平
自然老化マウスの垂系統の比較について
第 91 回東海実験動物研究会 2019 年 6 月 29 日 名古屋市

小木曾昇

動物実験に係る教育訓練
至学館大学 2020 年 1 月 9 日 大府市

III. 競争的資金獲得実績

1. 厚生労働省

なし

2. 文部科学省

小木曾昇（分担）

文部科学省科学研究費 基盤研究（B）平成 29 年～31 年

研究課題名：アルツハイマー病変形性を促進する新たなモデルマウスの開発 研
究代表者：木村展之

3. 財団、その他

小木曾昇（分担）

森永乳業株式会社（共同研究費）

研究課題名：心内膜炎動物モデル動物を用いたプロバイオティクスの安全性と生
体防御機能に関する研究

研究代表者：丸山光生

「第10回実験動物福祉奨励賞」受賞

小木曾昇、佐治多美子、山口一路、田村禎哉、富田耕平
第 53 回日本実験動物技術者協会総会(松山)、2019 年 10 月

バイオセーフティ管理・研究室

(1) 構成員

室長 錦見 昭彦 (2019年8月～)

管理補助員

今井 康雄 (千代田テクノル)

(2) 2019年度研究活動の概要

研究所放射線管理：

旧ラジオアイソトープ管理室の業務を引き継ぐ形で研究所の放射線管理を担当している。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）を令和元2年11月1日13:30～15:00に開催した。放射性同位元素と放射線発生装置の取扱（60分）を近畿大学、中西章教授が、放射線障害予防に関わる法令/規程について(30分)を放射線診療部、堀川良太副放射線技師長（放射線取扱主任者）がそれぞれ講習を担当・実施した。特に、第1研究棟5階ラジオアイソトープ管理区域内に一時立入者として入室していた者を、放射線従事者として登録し、管理体制の強化を行った。本年度の放射線業務従事の新規登録は20名であり、再登録は40名であった。また、故障していた動物乾燥機を更新した。

感染実験管理：

バイオセーフティ管理・研究室の発足とともに、センターにおける感染実験ならびにBSL2実験室の管理を担当することになり、第1研究棟のBSL2実験室における微生物の保管状況を確認した。

研究活動：

加齢に伴う免疫機能低下のメカニズムを明らかにするため、特に獲得免疫系の細胞における加齢変化の検討を試みた。老化機構研究部で樹立された老化細胞インジケーターマウスを用いて、リンパ球における老化細胞の割合を検討した。3～4ヶ月齢と12～14ヶ月齢マウスの脾臓、リンパ節より単離したT細胞とB細胞について老化細胞マーカーが発現している細胞の割合について検討したところ、いずれの細胞も12～14ヶ月齢マウスにおいて割合が増加していた。このことから、加齢個体に伴って細胞老化したT、B細胞が増加することが示唆された。これら老化T細胞およびB細胞の機能や性質を明らかにするため、12～14ヶ月齢マウス由来のT細胞とB細胞について、老化細胞マーカー

を発現するものとし、しないものを分取した。現在、次世代シーケンサー解析により、それぞれの画分の遺伝子発現パターンの解析を進めている。

加齢に伴って、免疫記憶形成能が低下することが、高齢者に対してワクチンの効果が十分に得られなかったり、新規の病原体に対して抵抗力が得られなかったりすることの原因となっている。しかしながら、免疫記憶形成のメカニズムには不明な点が多く、高齢者において免疫記憶能を維持する方法を開発するにあたり、そのメカニズムを理解する必要がある。本研究では、記憶B細胞に分化する過程にある胚中心B細胞で発現が上昇する因子を探索し、同定した。この因子は、未感作B細胞での発現は低いが、抗原刺激に应答して発現が上昇することを明らかにした。現在、B細胞におけるこの因子の役割を明らかにするために、この因子を欠損したマウスの樹立を進めている。

コラーゲン等の結合組織に由来する水酸化プロリン含有ペプチドが、組織の修復や炎症の制御を促す生理作用を有することが知られている。本研究では、その作用メカニズムを解明するために、これらのペプチドに特異的に会合する分子群を、細胞可溶化物から精製する方法を開発し、得られた会合分子をLC-MS/MSにより同定した。現在、同定された因子に対する水酸化プロリン含有ペプチドが及ぼす影響について検討している。

研究業績（バイオセーフティ管理・研究室）

I. 論文発表

1. 原著

Okumura F, Fujiki Y, Oki N, Osaki K, Nishikimi A, Fukui Y, Nakatsukasa K, Kamura T

Cul5-type ubiquitin ligase KLHDC1 contributes to the elimination of truncated SELENOS produced by failed UGA/Sec decoding.

iScience, 23: 100970, 2020.

2. 総説

該当なし

3. 著書

磯部健一、錦見昭彦

免疫学 改訂版

三恵社, 2020

4. その他、新聞・報道等

該当無し

5. 特許申請、取得状況

該当無し

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

坂本明彦、錦見昭彦、高岡晃教、丸山光生
抗原特異的 B 細胞の増殖における DOCK11 の寄与
第 42 回日本分子生物学会年会，2019 年 12 月 6 日，福岡

錦見昭彦，小山洋一，楠畑雅，服部俊治，片桐晃子
コラーゲン由来のペプチドによる CD4 陽性 T 細胞分化の制御
第 92 回日本生化学会大会，2019 年 9 月 20 日，横浜

3. 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
錦見昭彦（代表） 120 万円
日本学術振興会 基盤研究（C）
細胞の分化や増殖におけるコラーゲン由来オリゴペプチドの作用機序の解明

4. 財団、その他
該当なし

組織恒常性研究プロジェクトチーム

(1) 構成員

プロジェクトリーダー

赤木 一考

流動研究員

原田 綾乃

研究補助員

田口 真弓

本田 美佐緒

(2) 2019年度研究活動の概要

本プロジェクトチームは、2016年5月に新設され、流動研究員1名、研究補助員2名を含む計4人で研究を行っている。

本研究室では、食餌制限 (Dietary restriction: DR) の作用機序と寿命延伸効果の分子機構を解明することを目的とし、モデル生物であるキョウジョウバエを用いて研究を行っている。そして、これまでに DR による腸管でのアポトーシスの抑制が、腸管バリア機能の維持と寿命の延伸に寄与することを明らかにしてきた (Akagi et al., *PLoS Genetics*, 2018)。本年度からは、我々が培ってきた DR 研究のデータとキョウジョウバエ実験系を活用し、高齢者が陥りやすい低栄養状態の予防・改善を目指した研究プロジェクトを新たに立ち上げ、研究を行っている。特に、腸管の栄養吸収に注目して研究を行っており、これまでに腸管におけるグルタミン酸トランスポーターの発現が加齢に伴い低下することを明らかにした。また、その発現は DR 条件下では低下しないことから、グルタミン酸トランスポーターの発現が DR による寿命延伸効果に寄与する可能性が考えられた。さらに、タンパク質を欠乏させた低栄養食で飼育したキョウジョウバエでは、寿命の著しい短縮および筋・神経活動量の低下が起きることを確認した。興味深いことに、それらの表現型は、低栄養食にグルタミン酸を添加することでレスキューできることが明らかになった。現在、グルタミン酸による寿命制御のメカニズムについて、その中間代謝物の同定も含め、引き続き解析を行っている。

また、統合加齢神経科学研究部の多田室長との共同研究で、 β -グルカンを中心とした天然由来成分をキョウジョウバエに給餌し、寿命延伸効果と加齢に伴う筋・神経系機能低下の予防効果があることを見出した。現在、その作用機序についても解析を進めている。

組織恒常性研究プロジェクトチーム：赤木 一考、原田 綾乃、田口 真弓、本田 美佐緒

食餌制限による寿命延伸の分子機構の解明と低栄養状態の予防法開発を目指す研究

研究目的と背景

超高齢化社会を迎えている我が国において、高齢者が陥りやすい「低栄養状態」は、筋肉量の低下や認知機能の低下とも密接に関係しており、健康寿命延伸のために解決しなければならない重要な課題である。低栄養状態に陥る原因としては、社会的、心理的要因など様々であるが、加齢による腸機能の低下も要因の一つであると考えられる。しかし、その分子機構についてはほとんど明らかにされていない。また、低栄養状態に陥らないレベルの食餌制限（DR）は、寿命延伸効果だけでなくサルコペニアの予防効果が知られているが、その分子メカニズムについては不明な部分が多く残されている。

本研究では、腸管において DR に応答するトランスポーターの中から寿命の延伸および低栄養の予防・改善に働く可能性のある因子を同定し、そのパスウェイで働く特定の栄養素および代謝物を同定することを目的とする。

研究結果と考察

本研究プロジェクト開始初年度である本年度は、腸管において *dmGlut* というグルタミン酸トランスポーターの発現が加齢に伴い低下することを明らかにした。また、*dmGlut* の発現は DR 条件下で上昇しており、加齢に伴う低下は見られなかった。さらに、遺伝学的手法を用いて、腸管特異的に *dmGlut* の発現を RNAi によりノックダウンした結果、DR による寿命延伸効果が減弱することがわかった。したがって、グルタミン酸トランスポーターの発現が DR による寿命延伸効果に寄与する可能性が考えられた。さらに、タンパク質を欠乏させた低栄養食で飼育したショウジョウバエでは、寿命の著しい短縮および筋・神経活動量の低下が起きることを確認した。興味深いことに、それらの表現型は、低栄養食にグルタミン酸を添加することでレスキューできることが明らかになった。現在、グルタミン酸による寿命制御のメカニズムについて、その中間代謝物の同定も含め、引き続き解析を行っている。

参考文献

Akagi et al., **PLoS Genetics**, 14(11): e1007777, 2018.

研究業績（組織恒常性研究プロジェクトチーム）

I. 論文発表

1. 原著

なし

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

なし

2. 国際学会発表

Kazutaka Akagi

The role of Prefoldin 6 on intestinal homeostasis and aging in *Drosophila melanogaster*

The 11th International Association of Gerontology and Geriatrics Asia/Oceania Regional Congress, October 23-27, 2019, Taipei

3. 国内学会発表

赤木 一考

食餌制限による腸管恒常性維持機構と老化制御

第 92 回日本内分泌学会学術総会, 2019 年 5 月 9~11 日, 仙台市 (招待講演)

赤木 一考

Understanding the Molecular Basis of Age-related Malnutrition

The 4th MORPHOMEOSTASIS MEETING, 2019 年 9 月 22~23 日, 札幌市

Kazutaka Akagi

Dietary restriction, tissue homeostasis and aging

第 42 回日本分子生物学会年会, 2019 年 12 月 3~6 日, 福岡市 (招待講演)

原田 綾乃、Trindade Lucas、赤木 一考

世代を超えた長期間に渡る食餌制限は、腸管恒常性維持に働く

第 42 回日本分子生物学会年会, 2019 年 12 月 3~6 日, 福岡市

上田 均、宮川 航一、Aly Hamdy、赤木 一考、影山 裕二

短いペプチド Polished rice はショウジョウバエ蛹化タイミングを決める

生物タイマー機構に關与する重要因子である

第 42 回日本分子生物学会年会, 2019 年 12 月 3~6 日, 福岡市

Ayano Harata, Kazutaka Akagi

Glutamate transporters contribute to the lifespan extension upon dietary restriction in *Drosophila melanogaster*

第 1 回 CIBoG リトリート, 2020 年 2 月 7~8 日, 大府市

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

赤木 一考(代表) 100 万円(総額 500 万円)

挑戦的研究(萌芽)

食事制限に適応した「長寿バエ」の解析による新規長寿遺伝子および腸内細菌叢の同定

4. 財団、その他

赤木 一考(代表) 200 万円

藤井節郎記念大阪基礎医学研究奨励金

食餌制限による腸管上皮恒常性維持の分子機構

中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム

(1) 構成員

プロジェクトリーダー 佐藤 亜希子

流動・研究開発研究員

辻 将吾 姚 瑞卿 (～5月) 古庄 克宏 (7月～)

研究補助員

和波 杏奈 岡田 純 (～12月) 後藤 三緒 (1月～)

(2) 2019年度研究活動の概要

本プロジェクトチーム発足から三年目となる本年度は、昨年度から本チームに参加していた姚研究員と岡田研究補助者が退職し、7月から研究開発研究員に古庄克宏が着任した。また、新年1月からは後藤三緒研究補助者が本チームに参加している。

本プロジェクトチームでは、哺乳類における根本的な老化・寿命制御メカニズム解明が、大きな目標である。この中で私達は、1) どの脳領域の機能低下、もしくは神経細胞の機能低下が全身性の老化現象を誘導するのか、また、2) 脳の生理学的機能変化の中で何が個体寿命と相関するのか、という疑問に答えようと研究を進めている。特に我々は、睡眠と老化に共通した制御メカニズムがあるのではないかと考えている。そこで、現在我々は、老化・寿命を制御する上で重要な役割を果たしていることが明らかとなっている視床下部背内側核の睡眠制御における役割を解明し、そしてその制御系が全身性の老化現象にどのような影響を及ぼしているのか、について検討中である。

本年度は、昨年度までのマウスモデルの機能解析に加え、加齢に伴う睡眠形態の変容制御に関連する分子制御機序や神経ネットワークの解明が着実に前進した。辻、姚、佐藤らは、AMED リトリートでこれらの成果を発表した際、実りある議論と共に他研究者との有意義な交流を持つことができた。また、国内外の学会・シンポジウム・セミナー発表でも、今後の研究の糧となる収穫を得ることができた。加えて、興味深い研究プロジェクトの芽生えがあり、国内外の共同研究も進み、実りのある一年となった。

中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム：佐藤亜希子、辻将吾、姚瑞卿、古庄克宏、和波杏奈、岡田純、後藤三緒

視床下部背内側核の睡眠及び老化制御メカニズムの解明に関する研究

睡眠は、哺乳動物の生理現象としてだけではなく、アルツハイマー型認知症や2型糖尿病などの老年性疾患の発症に関与していることが明らかにされている。老化に伴い睡眠の断片化や睡眠の質的低下が起こることが知られているが、その詳細な分子機序については未だ不明であり、老年性疾患との関連性も不明な点が多い。

我々は、加齢に伴う睡眠形態の変容は、視床下部に存在する神経細胞が制御しているのでないかと考え、その可能性を検証している。背内側核においてSIRT1シグナルが維持されたマウスモデルでは、老化に伴う睡眠の断片化の程度が対照群と比較して低く、寿命延長が認められる (Satoh *et al.*, *Cell Metab.* 2013, Yoshida *et al.*, *Cell Metab* 2019)。また、これまでの研究から、背内側核特異的にPR-domain containing protein 13 (Prdm13)を欠損したマウスでは、睡眠の質的な低下が認められることが報告されている (Satoh *et al.*, *Aging Cell* 2015)。最近我々は、背内側核 *Prdm13* ノックアウトマウスを作製し、睡眠解析から、若齢 *Prdm13* ノックアウトマウスでは老化に伴い生じる睡眠形態の変容が認められ、且つ、老齢個体では全身性の老化形態が示されることを明らかにした。これらの結果は、老化に伴いPRDM13神経細胞の機能が低下すると、睡眠形態が変化し、この睡眠変化が全身性の生理学的機能低下を誘導する可能性を示唆している。

そこで、この分子制御機序を明らかにするため、初代培養視床下部神経細胞を用いた *in vitro* 系と *Prdm13* ノックアウトマウスの視床下部を用いた *in vivo* 系のRNA-sequencing解析を実施した。その結果から我々は、ジンクフィンガー構造を有する転写因子PRDM13の下流候補遺伝子を選定した。レポーターアッセイから、これら候補遺伝子の転写活性が *Prdm13* により調節されていることが示された。現在、これら候補遺伝子群の中でマウス背内側核神経細胞において *Prdm13* と共発現している遺伝子群に着目し、マウス脳を用いた詳細な分子制御機序の解明と、マウス個体を用いた機能解析を進めている。

参考文献

Satoh A. *et al.*, Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. **Cell Metab.**18:416-430, 2013.

Yoshida M. *et al.*, Extracellular Vesicle-Contained eNAMPT Delays Aging and Extends Lifespan in Mice. **Cell Metab.** 6:329-342.e5, 2019.

Satoh A. *et al.*, Prdm13, a newly identified dorsomedial hypothalamus-enriched gene, affects age-associated pathophysiology. **Aging Cell.** 14:209-218, 2015.

研究業績（中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム）

I 論文発表

1. 原著

Zhang B, Guo D, Han L, Rensing N, Satoh A, Wong M

Hypothalamic orexin and mechanistic target of rapamycin activation mediate sleep dysfunction in a mouse model of tuberous sclerosis complex

Neurobiol. Dis. 134:104615, 2019.

Yoshida M, Satoh A, Lin JB, Mills KF, Sasaki Y, Rensing N, Wong M, Apte RS, Imai S

Extracellular Vesicle-Contained eNAMPT Delays Aging and Extends Lifespan in Mice

Cell Metab. 6:329-342.e5, 2019.

2. 総説

佐藤亜希子

哺乳類サーチュイン SIRT1/SIRT6 を介した寿命制御機序

老年医学 57:781-785, 2019.

佐藤亜希子, 中村和弘

睡眠と体温調節能の老化変容における視床下部神経回路の役割

基礎老化研究 43:23-28, 2019.

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

11. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

佐藤 亜希子

視床下部神経による睡眠、代謝および老化制御機序

第19回日本抗加齢医学会総会, 2019年6月15日, 横浜

Akiko Satoh

DMH neurons control sleep, metabolism, and aging

NIPS international workshop “Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation”, July 7-8, 2019, Okazaki

佐藤 亜希子

老化に伴う睡眠形態の変容と末梢臓器への影響について

第9回認知症予防学会学術総会, 2019年10月18日, 名古屋

Akiko Satoh

Age-associated sleep alterations and its impacts on aging

Annual RIKEN Aging Project Meeting 2020, January 20-21, 2020, Kobe

2. 国際学会発表

Akiko Satoh

DMH neuron-mediated co-regulation of sleep and aging

Gordon Research Conference on Biology of Aging, July 14-19, 2019, Newry, ME USA

3. 国内学会発表

なし

4. その他、セミナー等

Akiko Satoh

DMH neuron-mediated co-regulation of sleep and aging

Special Seminar at Washington University School of Medicine, July 22, 2019, St. Louis, MO USA

佐藤亜希子

哺乳類の睡眠および老化・寿命の共通制御メカニズムの解明

Diabetes Hybrid Seminar (MSD 社主催), 2019 年 11 月 22 日, 東京

III 競争的資金獲得実績

1. 日本医療研究開発機構

佐藤 亜希子（分担）1,000 万円

老化メカニズムの解明・制御プロジェクト

老化機構・制御研究拠点

2. 厚生労働省

なし

3. 文部科学省

佐藤 亜希子（代表）320 万円（総額 1,280 万円）

科研費（基盤研究 B）

老化に伴う入眠障害と体温調節能低下を制御する視床下部背内側核の役割

4. 財団、その他

なし

老化ストレス応答研究プロジェクトチーム

(1) 構成員

プロジェクトリーダー

清水 孝彦

流動・研究開発研究員

澁谷 修一

(2) 2019年度研究活動の概要

2019年度新設のプロジェクトチームで、清水孝彦プロジェクトリーダーと、澁谷修一流動研究員の2名で研究を開始した。本年度は、研究室内の研究環境を整えることに最大限努めた。必要となる研究機器や備品を移設・購入し整備することができた。また遺伝子組換え実験や動物実験の承認手続きを進め、数系統の遺伝子組換えマウスを凍結胚の状態千葉大学から搬入した。実験動物管理室の支援のもと、凍結胚から個体戻しを経て、実験マウスの導入を完了することができた。数ヶ月の交配・繁殖を進め、年度末までには実験が開始できるまで、実験マウス匹数の規模を拡大できた。

老化は、DNA 傷害応答や、酸化ストレスに対応するレッドクスストレス応答、組織損傷に対応した炎症ストレス応答等、種々の環境ストレスに対する適応力の変調と密接に関連する事が示唆される。老化過程でこのようなストレス(老化ストレス)に対応した多様なシステム応答機構がどのように加齢変化するのか、あるいはどのように細胞や組織を保護するのかといった老化ストレス応答の機構研究は老化の要因や老化のメカニズムを解明する上で極めて重要な課題と考えられる。本研究プロジェクトチームでは、特にエネルギー代謝や活性酸素産生の中核オルガネラであるミトコンドリアに着目し、ミトコンドリア局在の抗酸化酵素 SOD2 欠乏によるミトコンドリア機能低下から始まるミトコンドリアストレス応答機構の解明を目指すとともに、細胞核への情報伝達とエピゲノム変化につながる分子機構解明に取り組んだ。また、老化を遅延できる可能性のある機能性食品の個体レベルでの評価と機構解明研究にも取り組んだ。

老化ストレス応答研究プロジェクトチーム：清水孝彦、澁谷修一

臓器老化を制御する細胞内ストレス応答に関する研究

加齢に伴い、骨組織は緩やかに骨量が減少し、多様な生理機能が失われる。近年、骨組織の主要細胞である骨細胞の加齢変化に細胞老化の寄与が示され、骨細胞老化と骨の加齢変化の関係性が注目されている。本プロジェクトチームでは、骨細胞で SOD2 欠乏などによるミトコンドリア機能不全がストレス応答転写因子 ATF4 を核集積させ、核ラミナタンパク質減少による核構造変化と骨関連遺伝子群の発現変化を誘導し、細胞老化様変化と加齢様骨量減少をもたらすことを明らかにしつつある。ATF4 活性化の分子機構として真核生物タンパク質合成開始因子 eIF2 α のリン酸化制御を中心とした「統合的ストレス応答経路」が知られている。統合的ストレス応答経路の寄与を調べるために、統合的ストレス応答経路阻害剤 ISRIB を添加し、ATF4 の活性化抑制と核膜構造変化を調べた。その結果、ミトコンドリア脱共役剤 CCCP 共存下で、ATF4 の核集積と核ラミナタンパク質発現低下に伴う核肥大を有意に抑制できた。骨細胞でミトコンドリア機能不全が、「統合的ストレス応答経路」を介して ATF4 の活性化をもたらすこと、核ラミナタンパク質 Lamin A と Lamin B の発現低下を導き、核肥大を引き起こすことが強く示唆された。

高齢者の低栄養を改善する方法として、造血を促す食品が挙げられる。造血ホルモンのエリスロポエチンを増加させる食品はその可能性が高いと考えられる。アサイーはブラジルアマゾン原産のヤシ科の植物であり、その果実にはポリフェノール、鉄、ビタミン E、不飽和脂肪酸などの栄養素が豊富に含まれている。本プロジェクトチームでは、エリスロポエチン発現を増強する作用を調べた。その結果、アサイー抽出物を経口でマウスに与え、2 時間後に血液中のエリスロポエチンが有意に増加すること、その増加には腎臓での遺伝子発現が有意に高まること明らかにした。さらに、エリスロポエチン遺伝子の発現を高める作用として、アサイーに含まれる成分が腎臓を一時的に低酸素状態にすることも判明した。実際、マウスにアサイー抽出物を 4 日間経口で与えると、赤血球やヘモグロビン量が有意に増加した。アサイーは、腎臓を一時的に低酸素状態にして、エリスロポエチン産生を促す造血作用を持つことが明らかになった。

参考文献

Kobayashi K, [Shimizu T*](#) *et al.*, Mitochondrial superoxide in osteocyte perturbs canalicular networks in the setting of age-related osteoporosis. **Sci Rep.**, 6:9148, 2015.

研究業績（老化ストレス応答研究プロジェクトチーム）

I. 論文発表

1. 原著

Kim J, Toda T, Watanabe K, Shibuya S, Ozawa Y, Izuo N, Cho S, Seo DB, Yokote, K, Shimizu T*

Syringaresinol reverses age-related skin atrophy by suppressing FoxO3a-mediated matrix metalloproteinase-2 activation in copper/zinc superoxide dismutase-deficient mice.

J Invest Dermatol, 139: 648-655, 2019.

Ozawa Y, Watanabe K, Toda T, Shibuya S, Okumura N, Okamoto N, Sato Y, Kawashima I, Kawamura K, Shimizu T*

Heterosis extends the reproductive ability in aged female mice.

Biol Reprod, 100: 1082-1089, 2019.

Izuo N, Murakami K, Fujihara Y, Maeda M, Saito T, Saido T, Irie Y, Shimizu T*
An App knock-in mouse inducing the formation of a toxic conformer of A β as a model for evaluating only oligomer-induced cognitive decline in Alzheimer's disease.

Biochem Biophys Res Commun, 515: 462-467, 2019.

Shibuya S, Watanabe K, Tsuji G, Ichihashi M, Shimizu T*

Platinum and palladium nanoparticles-containing mixture, PAPANAL, does not induce palladium allergy.

Exp Dermatol, 28: 1025-1028, 2019.

Andergassen D, Muckenhuber M, Bammer CP, Kulinski MT, Theussl HC, Shimizu T, Penninger MJ, Pauler MF, and Hudson JQ

Deletion of the Airn lncRNA gene shows that RNA mediated silencing of distant imprinted genes does not require any genetic elements within the gene.

PLoS Genet, 15: e1008268, 2019.

Dogru M, Shinzawa M, Kojima T, Shimizu T, Tsubota K

Age related conjunctival P2Y2 receptor alterations in the Cu, Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1)–knockout dry eye model mice.

Eye Contact Lens, 45: 405-409, 2019.

Uchitomi R, Hatazawa Y, Senoo N, Yoshioka K, Fujita M, Shimizu T, Miura S, Ono Y, Kamei Y

Metabolomic analysis of skeletal muscle in aged mice.

Sci Rep, 9: 10425, 2019.

Kim J, Funayama S, Izuo N, Shimizu T*

Dietary supplementation of a high-temperature-processed green tea extract attenuates cognitive impairment in PS2 and Tg2576 mice.

Biosci Biotechnol Biochem, 83: 2364-2371, 2019.

Sakamoto K, Furuichi Y, Yamamoto M, Takahashi M, Akimoto Y, Ishikawa T, Shimizu T, Fujimoto M, Takada-Watanabe A, Hayashi A, Mita Y, Manabe Y, Fujii N, Ishibashi R, Maezawa Y, Betsholtz C, Yokote K, Takemoto M

R3h domain containing-like regulates satellite cell proliferation and differentiation.

EMBO Rep, 20: e47957, 2019.

Sagi H, Shibuya S, Kato T, Nakanishi Y, Tsuboi A, Moriya S, Ohno H, Miyamoto H, Kodama H, Shimizu T

SOD1 deficiency alters gastrointestinal microbiota and metabolites in mice.

Exp Gerontol, 130: 110795, 2020.

Yagi-Yaguchi Y, Kojima T, Higa K, Dogru M, Ibrahim O, Shimizu T, Tsubota K Shimazaki J

The effects of 3% diquafosol sodium eye drops on tear functions and ocular surface of the Cu, Zn-superoxide dismutase-1 (Sod1) knock out mice treated with antiglaucoma eye medications.

Diagnostics, 10: 20, 2020.

Shibuya S, Toda T, Ozawa Y, Yata MJV, Shimizu T*

Acai extract transiently upregulates erythropoietin by inducing a renal hypoxic condition in mice.

Nutrients, 12: 533, 2020.

2. 総説

金周元、Choi Hyunjung、清水孝彦

FoxO3a は皮膚老化による萎縮や色素沈着を抑制する因子である。

基礎老化研究, 44: 47-51, 2020.

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

清水孝彦

ドイツ CECAD&MPI-Age 訪問記。

基礎老化研究, 44: 53-54, 2020.

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

清水孝彦、渡辺 憲史、澁谷 修一

骨老化プロセスにおける核構造変化とエピゲノム変化におよぼすミトコンドリア機能の役割。

第 42 回 (2019 年) 日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 6-8 日, 仙台

Takahiko Shimizu, Ikko Sakamoto, Hidetoshi Nojiri.

Mitochondrial superoxide in muscle reversibly regulates glycogen metabolism and motor function via glycogen phosphorylase activity.

The 19th The Japan-Korea Joint Symposium in the 30th Spring International Conference of the Korean Society for Gerontology, June 26-28, Seoul, South Korea

Takahiko Shimizu, Isao Masuda.

Oligomeric catechins, procyanidins, promote mitochondrial biogenesis and proteoglycan biosynthesis in chondrocytes.

第 42 回日本分子生物学会年会、2019 年 12 月 3-6 日、福岡

清水孝彦.

臓器老化を標的にした食品素材の機能性解析

第 16 回ファンクショナルフード学会学術集会、2020 年 1 月 11 日、東京

2. 国際学会発表

Kazuma Murakami, Yayoi Obata, Asa Sekikawa, Haruka Ueda, Naotaka Izuo, Tatsuya Awano, Keiji Takabe, Takahiko Shimizu, Kazuhiro Irie.

Strategy for development of RNA aptamers that target the toxic oligomers of Abeta42.

Alzheimer's Association International Conference 2019 (AAIC 2019), July 14-18, 2019, Los Angeles, California, USA

Takahiko Shimizu, Kenji Watanabe, Syuichi Shibuya.

SOD-mediated superoxide metabolism regulates cell fate in fibroblasts.

International Cellular Senescence Association (ICSA) 2019 conference, September 9-12, Athene, Greece

Takahiko Shimizu, Juewon Kim, Kenji Watanabe, Syuichi Shibuya.

Syngaresinol attenuates age-related skin atrophy by suppressing FoxO3a-mediated MMP-2 activation in Sod1-deficient mice.

11th International Association of Gerontology and Geriatrics Asia/Oceania Regional Congress (11th IAGG), October 23-27, Taipei, Taiwan

Isao Masuda, Masato Koike, Kenji Watanabe, Hidetoshi Nojiri, Koutaro Yokote, Takahiko Shimizu.

Apple procyanidins facilitate PGC-1a-associated mitochondrial biogenesis and proteoglycan biosynthesis in chondrocytes.

The 9th International Conference on Polyphenols and Health, November 28-December 1, Kobe

3. 国内学会発表

金周元、戸田年彦、清水孝彦。

FoxO3a は皮膚老化による萎縮や色素沈着を抑制する因子である。

第 42 回 (2019 年) 日本基礎老化学会大会、2019 年 6 月 6-8 日、仙台

村上一馬、小畑弥生、関川あさ、上田遥、泉尾直孝、栗野達也、高部圭司、清水孝彦、入江一浩。

アミロイド β 42 のプロトフィブリルを認識する RNA アプタマー。

第 38 回日本認知症学会学術集会、2019 年 11 月 7-9 日、東京

4. その他、セミナー等

清水孝彦。

骨格筋ミトコンドリアで過剰発生した活性酸素種はグリコーゲン代謝酵素を失活させ、顕著なグリコーゲン蓄積による運動不耐となる。

第 4 回 (2019 年) NCGG サマーセミナー、2019 年 8 月 9 日、大府

清水孝彦。

SOD が制御する細胞死と臓器傷害の分子機構研究

秋のミニシンポジウム「老化と老年病・認知症」、2019 年 11 月 15 日、大府

Takahiko Shimizu。

Mitochondrial superoxide in muscle reversibly regulates glycogen metabolism and motor function via glycogen phosphorylase activity.

第 1 回 CIBoG (第 12 回 NAGOYA グローバル) リトリート、2020 年 2 月 7-8 日、大府

Shuichi Shibuya, Takahiko Shimizu。

Generation of a novel progeroid mouse model for Werner syndrome.

第 1 回 CIBoG (第 12 回 NAGOYA グローバル) リトリート、2020 年 2 月 7-8 日、大府

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

清水 孝彦(代表) 60 万円 (総額 60 万円)

痛風・尿酸財団研究助成金

キサンチン酸化還元酵素由来スーパーオキシドによる組織障害の分子機構解析