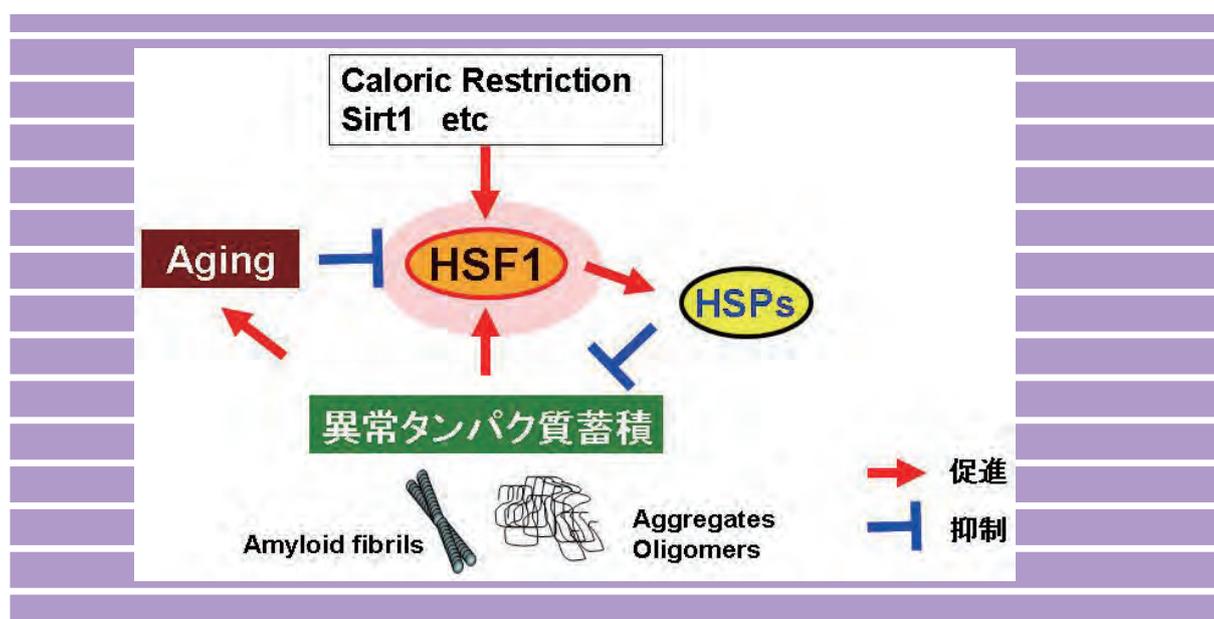


BIOMEDICAL GERONTOLOGY

基礎老化研究

- 総説** ■ 高齢期からの運動による心臓・血管への効果と分子機序
家光 素行
- 総説** ■ 運動処方を中心に健康長寿社会の構築 —「松本市熟年体育大学」事業の挑戦—
能勢 博、森川真悠子、山崎 敏明、根本 賢一、増木 静江、岡崎 和伸
上條義一郎、源野 広和
- 総説** ■ 男性骨粗鬆症
森 聖二郎
- トピックス** ■ <日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>
癌抑制・細胞老化因子ARFが引き起こす血管新生抑制及び疾患との関わり
川岸 裕幸、丸山 光生、高木 正稔、杉本 昌隆
- トピックス** ■ <日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>
マウス老化アミロイドーシスにおける熱ストレス反応の役割; HSF1ノックアウトマウスを用いた解析
銭 金澤、弘瀬 雅教、王 耀勇、張 倍茹、付 笑影、澤下 仁子、
張 鵬堯、友澤 寛、森 政之、中井 彰、樋口 京一
- トピックス** ■ <日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>
アドレノメデュリン-RAMP2システムによる血管恒常性維持と発生および老化の制御
小山 晃英、新藤 隆行
- 学会報告** ■ 日本基礎老化学会第33回大会を終わって
磯部 健一
- 随筆** ● 老化研究事始め—低カロリー効果, 日本人での検証は? 三井 洋司
- 附** ● 基礎老化学会サーキュラー 第86号



- 編集委員会委員長: 重本 和宏 東京都健康長寿医療センター研究所 老年病研究チーム
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 編集委員会幹事: 三浦 ゆり 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 編集委員会委員: 内田 さえ 東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 島田 厚良 愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部
〒480-0392 愛知県春日井市神屋町713-8
- 清水 孝彦 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 樋上 賀一 東京理科大学薬学部生命創薬科学科
〒278-8510 千葉県野田市山崎2641
- 福 典之 東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
-

- Editor-in Chief: Kazuhiro Shigemoto, Research Team for Geriatric Medicine,
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Managing Editor: Yuri Miura, Research Team for Mechanism of Aging, Tokyo
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Editors: Sae Uchida, Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Atsuyoshi Shimada, Institute for Developmental Research, Aichi Human
Service Center, 713-8 Kamiya-cho, Kasugai, Aichi 480-0392, JAPAN
- Takahiko Shimizu, Research Team for Mechanism of Aging, Tokyo
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Yoshikazu Higami, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of
Science, 2641 Yamazaki, Noda-shi, Chiba-ken 278-8510
- Noriyuki Fuku, Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,
Tokyo 173-0015, JAPAN

この雑誌について（投稿される方へ）

「基礎老化研究」(Biomedical Gerontology)は、日本基礎老化学会の会誌で、年4回:2月、5月、8月、11月発行される。内容は、本学会員から投稿された、または、本学会員及び編集委員会より依頼を受けた者からの巻頭言、総説(老化理論を含む)、トピックス、学会報告、随筆、書評、その他で構成される。但し、2号には年次大会のプログラムと発表抄録が、4号には基礎老化学会シンポジウムの抄録も掲載される。本誌は会員に無料で配布されるほか、希望に応じて頒価(現在は2,000円)で販売される。

1. 依頼・投稿による総説を含み全ての原稿の採用については、編集委員会で決定する。総説については、編集委員または編集委員会で依頼した審査委員(評議委員)による査読を行う。
2. 著者による校正は、総説、トピックスについてのみ1回行う。その際の追加、変更は出来ない。
3. 本誌に掲載された記事の著作権は、日本基礎老化学会に帰属する。但し、自分の著作を使用する場合には、本学会に断り無く自由に使用できる。
4. 目次、総説の要旨、およびトピックスはインターネットのホームページに掲載される。発行後2年経過した総説、は公開される。
5. 総説、トピックスの著者には、別刷り30部を無料で進呈する。30部以上希望の場合は有料(実費)となるので、投稿・原稿提出時にその旨連絡すること。
6. 原稿の執筆に際しては、本誌の執筆要領に従うこと。

執筆要領

原稿は全てワードプロセッサを使用する(原稿はコンピュータファイルとハードコピーで提出する)。1) 第1頁には、原稿の表題、著者名、所属機関、所在地を和文、英文で、また、電話番号、FAX番号、E-mailアドレス記載する。

著者が複数の場合は、連絡先の著者を明記する。2) 第2頁にも初めに、表題、氏名を書き、その後に本文を書く。3) 本文に節を設ける場合、1.、2.、3.、・・・を付けて節を示す。以下の項目は1)、2)、3)・・・、a)、b)、c)・・・とする。原稿のハードコピーはA4用紙を用い、横書きにプリントする。また、イタリック体、ギリシャ文字、記号が正しく出力されていることに注意する。同時に提出するコンピュータファイルは、テキストファイルまたはMSワードファイルで(欧語・数字は半角を用いる)、CDディスクに記録したものとする。図・表および写真は、EPS形式またはJPEG形式に圧縮したもの(使用ソフトを明記する)あるいはAdobe Acrobatで作製したPDFファイルおよびプリントアウトしたものを提出する。雑誌への印刷は白黒またはグレースケールで行う。カラー希望の場合は著者の負担とする。図表の挿入部位はプリントアウトしたものの欄外に示す。尚、本誌1ページは約1,600字に相当する。図の大きさを考慮して、全体の長さを調節すること。原稿(コンピュータファイル)はE-mailに添付して送付することができる。コンピュータファイルについては、印刷所あるいは編集委員会で対応できない場合は、著者に協力を求めることがある。

1. 巻頭言(展望) 刷り上がり1頁に収まるようにする。本文の長さは1,500字以内(タイトルと氏名を除く)。
2. 総説 一つのテーマについて、専門的知識に基づき、関連する多くの研究論文を総括、解説、評価した、所謂ミニレビュー。和文。
 - 1) 本文の長さ: 図、表も含めて刷り上がりで6ページ(9,600字)程度を基本とする。
 - 2) 題名: 40字以内とし、内容を的確に表したもので、且つ、読者の興味を引くよう工夫する。
 - 3) 要約およびキーワード: 要約およびキーワード(5個以内の英語)を必ず付す。要約は日本語(400字以内)、およびその英訳(200 words 以内)とする。
 - 4) 用語: 本文中の用語はなるべく日本語にする。但し、欧語の方が一般的なもの、解りやすい場合は欧語でよい。外国の人名は原語、地名はカタカナで表記する。
専門術語: それぞれの専門分野の用語集に従う。動植物の学名、遺伝子名などでイタリック体で印刷されるべきものについては、原稿に下線をつけるなどして区別する。
略語: 初出箇所にフルタームの後に括弧で括った略語を記入する。可能なら日本語を入れる。
文体: 「である」調とする。
数字・単位: 数字はアラビア数字とし、単位は国際単位系を用いる。
- 5) 引用・参考文献: 引用文献は論文中に引用した順に番号をつけて表示する。本文中では該当する位置に[]で括って表示する。1つの事柄に複数の論文を引用する場合には[1,5,7]または[2-6]のように記述する。著者名を引用する場合で3名以上の連名の時は、それ以下を“ら”を用いて省略する。末尾文献リストは引用した順とし、記載は以下の通りとする。未発表論文、私信は末尾文献リストには加えず、本文中の該当す

る位置に [] で括って表示する。

1. Sun J and Tower J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies. *Mol Cell Biol* 19:216-228, 1999.
 2. Roth GS, Ingram DK and Cutler RG. Primate models for dietary restriction research. In: *Biological Effects of Dietary Restriction*, edited by Fishbein L. Berlin: Wiley, 1991, p. 193-204.
 3. 仲村賢一, 下村・泉山七生貴, 田久保海誉 ヒト組織の加齢に伴うテロメア短縮. *基礎老化研究* 24:72-76, 2000.
- 6) 図、表、写真: そのまま印刷できるものに限る (手書きのもの受け付けない)。文献から引用する場合は、引用を明記すると共に、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可を取っておくこと (許可証のコピーを原稿と共に提出すること)。白黒またはグレースケールが原則。
- 7) 図、写真にはタイトルと説明文を付ける。
3. トピックス 最近の話題性のある研究及び最近行った自身の研究の紹介。長さは刷り上がり4頁以内 (1,600 - 6,400字)。その他は総説に準じる。但し、要旨は不要である。
 4. 学会報告、海外便り 国内外の学術集会の紹介記事。長さは1,600字以内。留学などで滞在しているまたは過去に滞在していた研究室、訪問した研究施設の見聞の紹介記事。
 5. 書評 最近出版された書籍の紹介。1,600字以内。
 6. 随筆 長さは刷り上がり2頁 (3,200字) 以内。
 7. その他
 8. 原稿の送付およびその他の問い合わせは、下記宛に。(e-mail の使用が望ましい。)
編集委員会委員長: 重本和宏 (kazshige@tmig.or.jp)
または、編集幹事: 三浦ゆり (miura@tmig.or.jp)

目 次

総説

高齢期からの運動による心臓・血管への効果と分子機序

家光 素行……………1-6

総説

運動処方を中心に健康長寿社会の構築 — 「松本市熟年体育大学」事業の挑戦—

能勢 博、森川真悠子、山崎 敏明、根本 賢一、増木 静江、岡崎 和伸、

上條義一郎、源野 広和……………7-12

総説

男性骨粗鬆症

森 聖二郎……………13-17

トピックス<日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>

癌抑制・細胞老化因子ARFが引き起こす血管新生抑制及び疾患との関わり

川岸 裕幸、丸山 光生、高木 正稔、杉本 昌隆……………19-21

トピックス<日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>

マウス老化アミロイドーシスにおける熱ストレス反応の役割; HSF1ノックアウトマウスを用いた解析

銭 金澤、弘瀬 雅教、王 耀勇、張 倍茹、付 笑影、澤下 仁子、

張 鵬堯、友澤 寛、森 政之、中井 彰、樋口 京一……………23-26

トピックス<日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者>

アドレノメデュリン-RAMP2システムによる血管恒常性維持と発生および老化の制御

小山 晃英、新藤 隆行……………27-30

学会報告

日本基礎老化学会第33回大会を終わって 磯部 健一……………31-33

随筆

老化研究事始め—低カロリー効果, 日本人での検証は? 三井 洋司……………35-37

附

基礎老化学会サーキュラー 第86号

CONTENTS

<REVIEW>

Molecular mechanism of exercise training-induced adaptation of heart and artery in the old of age

Motoyuki Iemitsu……………1-6

<REVIEW>

Promotion of health and welfare for elderly people by exercise prescription: Challenge by Jukunen Taiikudaigaku Project in Matsumoto

Hiroshi Nose, Mayuko Morikawa, Toshiaki Yamazaki, Ken-ichi Nemoto,

Shizue Masuki, Kazunobu Okazaki, Yoshi-ichiro Kamijo, Hirokazu Gen-no……………7-12

<REVIEW>

Male osteoporosis

Seiji Mori……………13-17

表紙: HSF1を中心とした「老化」「Hsps」「異常蛋白質沈着」の相互関係

詳しい説明は23ページ(トピックス)を参照

【総 説】

高齢期からの運動による心臓・血管への効果と分子機序

家光 素行

立命館大学 スポーツ健康科学部

要約

加齢に伴い、心臓・血管の機能は低下し、心血管系疾患の罹患率を増大させる。その予防策の一つとして、習慣的な運動が注目されている。運動による心臓・血管の機能、形態、代謝への改善効果には、様々な分子制御により、関連する遺伝子やタンパク発現の調節が行われていることが考えられるが、その分子機序の詳細は不明である。しかしながら、近年、老齡ラットを用いた高齢期からの運動トレーニングによる検討により、(1)心収縮能の改善に甲状腺ホルモン受容体によるミオシン重鎖や筋小胞体Ca²⁺-ATPaseの遺伝子発現増大の関与、(2)心収縮に必要なエネルギーを産生する機能の改善にPPAR- α による β 酸化の酵素遺伝子の発現増大の関与、(3)酸素供給に必要な毛細血管の血管新生能の改善に血管内皮細胞増殖因子(VEGF)のシグナルカスケードの関与、(4)動脈硬化の抑制に内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)やエンドセリン-1による内皮機能改善の関与が報告されている。このように、運動による心臓や血管への刺激が、機能、形態、代謝のそれぞれに関連する分子制御(遺伝子やタンパクの発現調節)の変動を促すことにより、高齢期からの運動効果に関与していると考えられる。

キーワード: 加齢、運動トレーニング、心臓、内皮機能

1. はじめに

からだの臓器の中で心臓や血管は全身の血液を常に循環させているというはたらきを担っている。近年、高齢化社会が進む中、生活習慣病が急増し、国内の死亡原因の約6割、国民医療費の約3割を占め、医療保険に係わる国民負担の増加や生活習慣病の重症化によって生じる介護保険財政の圧迫を促進させている。現在、国内の年間死亡原因の30%近く(死因の第2および3位)が心血管疾患であり、そのほとんどが中・高齢期で発症している。そのため高齢者の心血管疾患をいかに予防するかが課題となっている。

加齢に伴い、心臓は心機能やエネルギー供給能が低下し、代償作用で左室肥大が生じている。また、動脈血管では、内皮機能の低下や中膜弾性板の減少が生じ、動脈の伸展性が低下、硬化度が亢進している。このような加齢による心臓・動脈血管の形態および機能の変化に対して、継続的な運動は、心臓や動脈の機能や形態を亢進・変化させ、身体に有益な効果を及ぼすことがこれまでの研究結果から知られている[1-4]。また、継続的な運動が生活習慣病の予防・改善に有効であることから、運動により心血管疾患の危険因子を軽減できるとされている

[5]。運動による心臓・血管の機能、形態、代謝への改善効果には、様々な分子制御により、関連する遺伝子やタンパク発現の調節が行われていることが考えられるが、その分子機序の詳細は不明であった。しかしながら、近年、高齢期からの継続的な運動効果の分子機序を検討する研究が行われてきている。そこで高齢期からの運動による心臓・血管適応の分子メカニズムについて報告されている知見について要約する。

2. 運動による心機能改善効果の分子機序

加齢に伴い心機能が低下するが、継続的に運動を実施すると低下した心機能が改善することが知られている[2,6,7]。ラットを用いた動物実験から、若齢ラットの心臓は収縮速度の速いミオシン重鎖(MHC) α タイプの発現が多いのに対し、老齡ラットでは α タイプの発現が顕著に減少し、収縮速度の遅い β タイプの遺伝子が多く発現することが報告されている(図1-A) [8]。また、細胞内のCa²⁺濃度を調整し、収縮・拡張サイクルに関与する筋小胞体のCa²⁺-ATPase(SR Ca²⁺-ATPase)の遺伝子およびタンパク発現は、加齢により低下する(図1-A) [8]。 α -MHCおよびSR Ca²⁺-ATPase遺伝子発現の転写調節因子の1つである核内受容体の甲状腺ホルモン受容体(TR)は、心臓において α_1 型と β_1 型が発現しており、レチノイドX受容体(RXR)とヘテロダイマー形成して転写調節領域に結合することによって標的遺伝子の発現を調節している[9]。心臓のTR- α_1 およびTR- β_1 タンパク発現は、若齢ラットと比較して老齡ラットで有意に低

連絡先: 〒525-8577

滋賀県草津市野路東1-1-1

Tel: 077-599-4131

Fax: 077-561-3761(代表)

E-mail: iemitsu@fc.ritsumei.ac.jp

下する(図1-B) [8]。また、 α -MHCやSR Ca^{2+} -ATPase 遺伝子における転写結合領域のTR結合活性をgel mobility shift assayで検討したところ、若齢ラットと比較して老齢ラットで低下する(図1-C) [8]ことから、加齢に伴い、心臓のTRを介した α -MHCやSR Ca^{2+} -ATPase 遺伝子発現調節の低下が、心機能の低下に関与していることが考えられる。

一方、老齢ラットに8週間の有酸素性の運動トレーニングを実施した結果、老齢トレーニングラットの α -MHCやSR Ca^{2+} -ATPase遺伝子およびタンパク発現は、有意に改善し、転写因子であるTR- α_1 およびTR- β_1 タンパク発現やTR転写活性は老齢対照群よりも増大していた(図1A-C) [8]。これらの結果から、習慣的な運動の継続は加齢に伴う心機能の低下を予防し、その分子機序として、TRを介した α -MHCやSR Ca^{2+} -ATPase遺伝子発現調節の改善が関与していることが明らかとなっている。

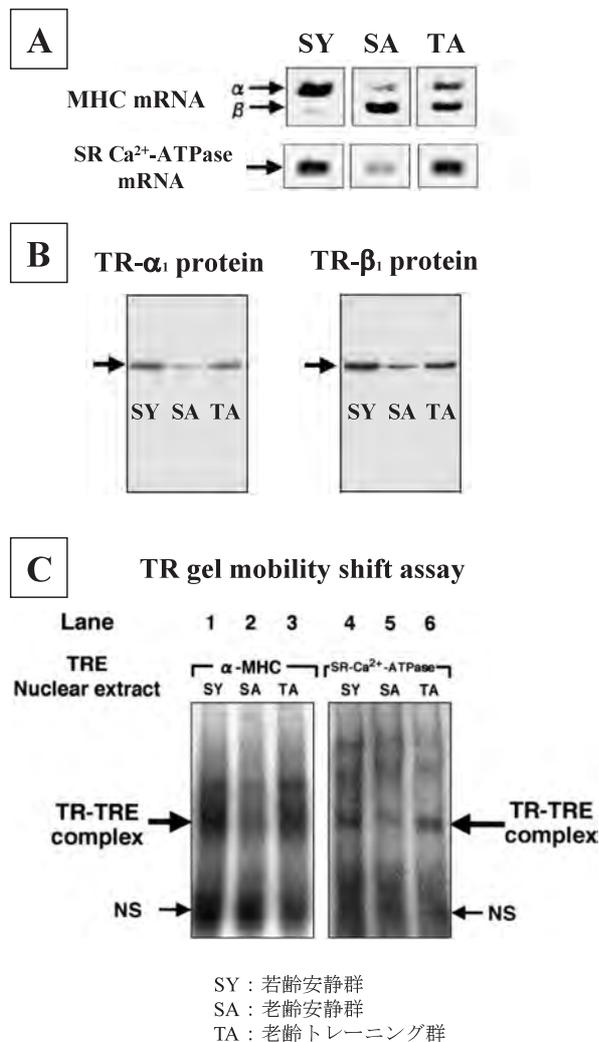


図1: 老齢ラットの有酸素性トレーニングによる心臓のTR経路の変化(文献8より引用改変)
A: 心臓のTR- α_1 およびTR- β_1 発現とタンパク発現
B: 心臓のTRの転写調節領域の結合活性
C: 心臓のMHCおよびSR Ca^{2+} -ATPase mRNA発現

3. 運動による心エネルギー代謝能改善効果の分子機序

心臓のエネルギー供給の60-70%が有酸素的な脂肪酸代謝からの供給となっている[10]。加齢に伴い、心臓の脂肪酸代謝のエネルギー供給能、つまり、 β 酸化やTCA回路、電子伝達経路の主要酵素活性の低下が認められ[11]、代償作用として、心臓の無酸素性の糖代謝からのエネルギー供給が亢進する。継続的な運動トレーニングは、加齢に伴う心臓の脂肪酸代謝のエネルギー供給能の低下を改善することが知られているが、その分子機序は明らかではなかった。

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α は、核内レセプターの1つであり、脂肪酸代謝の主要酵素であるFatty acid binding protein, carnitine palmitoyl transferase-I (CPT-I)、acyl-CoA synthase、3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase (HAD)、apolipoproteinsなどの遺伝子発現を調節する転写因子である[12]。PPAR α 遺伝子およびタンパク発現は、若齢ラットと比較して老齢ラットで有意に低下することが報告されてい

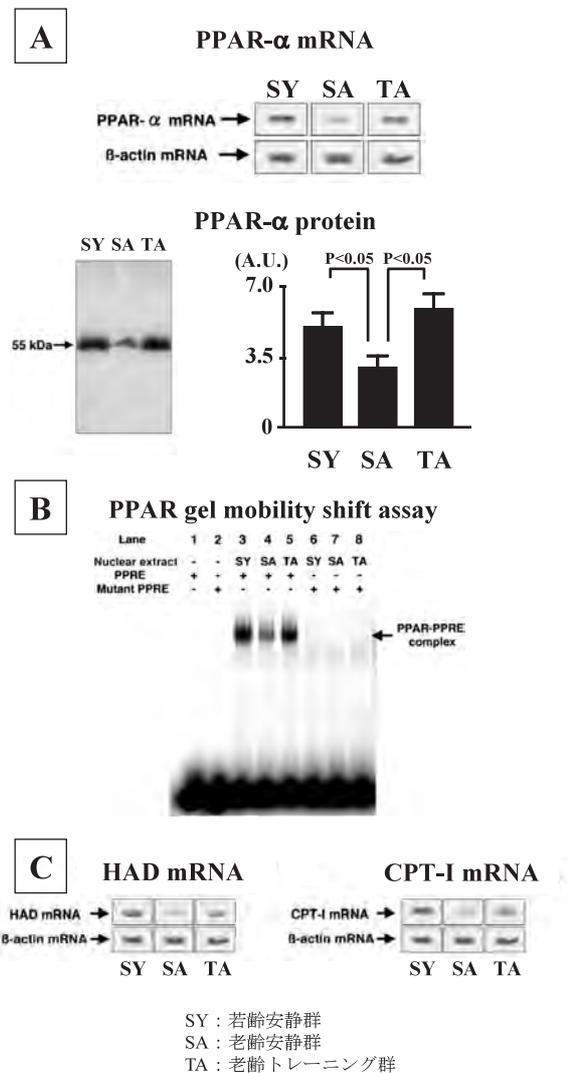


図2: 老齢ラットの有酸素性トレーニングによる心臓のPPAR- α 経路の変化(文献13より引用改変)
A: 心臓のPPAR- α mRNA発現とタンパク発現
B: 心臓のPPARの転写調節領域の結合活性
C: 心臓のHADおよびCPT-I mRNA発現

る(図2-A) [13]。PPAR α はCPT-IやHADなどの脂肪酸代謝関連酵素遺伝子の転写調節領域にRXRなどとヘテロダイマーを形成して結合することによって遺伝子の発現を調節している[12]。その転写調節領域へのPPAR α 結合活性は若齢ラットと比較して老齢ラットで低下し、さらに、標的遺伝子であるCPT-IやHAD遺伝子発現が低下する(図2-B,C) [13]。つまり、加齢に伴い、心臓のPPAR α を介したCPT-IやHAD遺伝子発現調節の低下が、心臓の脂肪酸代謝のエネルギー供給能の低下に影響していることが考えられる。

一方、老齢ラットに8週間の有酸素性の運動トレーニングを実施した結果、老齢トレーニングラットの心臓のCPT-IやHAD遺伝子およびHAD活性は、有意に改善し、転写因子であるPPAR α 遺伝子およびタンパク発現やPPAR α 転写活性は老齢対照群よりも増大することが報告されている(図2A-C) [13]。これらの結果から、習慣的な運動の継続は加齢に伴う心機能の低下を予防し、その分子機序として、PPAR α を介した脂肪酸代謝関連酵素の遺伝子発現調節改善が関与していることが明らかとなっている。

心臓の脂肪酸代謝のエネルギー供給能には、ミトコンドリア機能が重要であるが、peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α)は、ミトコンドリアDNAにコードされている脂質代謝関連酵素遺伝子の転写因子であるnuclear respiratory factor遺伝子発現やミトコンドリアの生合成に関連するmitochondrial transcription factor A遺伝子を調節している転写因子であり、心臓のエネルギー供給機能の分子調節に関与しているが、これらに関する結果はまだ明らかではない。

4. 運動による心臓の血管新生改善効果の分子機序

心臓は有酸素性代謝からのエネルギー供給が主要であるため、酸素の供給が重要となる。加齢に伴い、心臓の毛細血管の血管新生の低下が認められ[1,14]、有酸素性エネルギー合成能が低下する。継続的な運動トレーニングは、加齢に伴う心臓の血管新生の低下を改善することが知られているが、その分子機序は明らかではなかった。

Vascular endothelial growth factor (VEGF)は内皮細胞分裂を亢進させ、血管新生を促す役割を有する[15]。VEGFはfetal liver kinase-1 (Flk-1)受容体を介して、細胞内シグナル伝達経路の1つであるAktを活性化させ、endothelial nitric oxide synthase (eNOS)を活性化し、一酸化窒素(NO)の産生を増加させることにより、血管新生を誘発する。加齢により、心臓のVEGFおよびFlk-1の遺伝子およびタンパク発現が低下し、また、その下流のシグナルであるAktやeNOSのリン酸化が減少する(図3A-C) [16]。加齢に伴い、心臓のVEGFシグナルカスケードの低下が、血管新生を低下させ、心臓の毛細血管数の減少に関与していることが考えられる。

一方、老齢ラットに8週間の有酸素性の運動トレーニングを実施した結果、老齢トレーニングラットの心臓のVEGFおよびFlk-1の遺伝子およびタンパク発現が有意

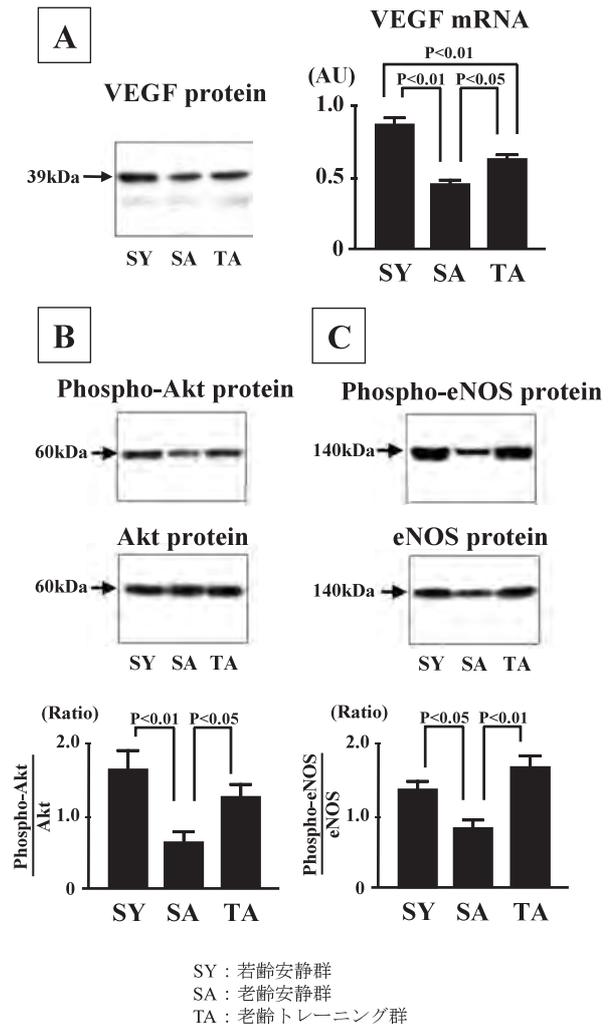


図3: 老齢ラットの有酸素性トレーニングによる心臓のVEGFシグナルカスケードの変化(文献16より引用改変)

A: 心臓のVEGFタンパク発現とmRNA発現
B: 心臓のAktリン酸化
C: 心臓のeNOSリン酸化

に改善し、AktやeNOSのリン酸化は老齢対照群よりも増大することが報告されている(図3A-C) [16]。これらの結果から、習慣的な運動の継続は加齢に伴う毛細血管の血管新生の低下を改善し、その分子機序として、VEGFシグナルカスケードの改善が関与していることが明らかとなっている。

5. 運動による動脈硬化改善効果の分子機序

加齢に伴い、動脈硬化が進展することは知られている[4]。この動脈硬化の要因の1つに内皮機能の低下が考えられる。加齢によってアセチルコリンによる血管拡張反応が低下すること[17]や血管拡張作用を有するNO産生の低下[18]、血管収縮作用を有するエンドセリン-1 (ET-1)の血中濃度増大[19]が認められる。また、動脈組織内のeNOS遺伝子およびタンパクの発現低下やNO産生が低下する[18,20] (図4)。さらに、閉経後女性モデルラットを用いた研究では、動脈内のET-1濃度の増大とカル

シウム沈着が亢進し、さらに、動脈のeNOSタンパク発現の低下が生じる[21]。

一方、ヒトの研究において、高齢期から有酸素性トレーニングを3ヶ月間実施すると、収縮期血圧が低下するとともにNOx (nitrite + nitrate : NO代謝産物) 濃度が増加することが示されている[22]。一方、ET-1は加齢とともに血中濃度が増大するが、3ヶ月間の有酸素性トレーニングを実施すると、血中ET-1濃度は低下するという示されている[19]。動物実験では、オス老齢ラットに8週間の有酸素性トレーニングを実施した結果、動脈組織中のeNOSタンパク発現や遺伝子発現が増加していたことが報告されている(図4)[20]。さらに、閉経後女性モデルラットの8週間の運動トレーニング後において、動脈組織中のeNOSタンパク発現は増大し、ET-1濃度は低下していたことも報告されている[21]。これらの結果から、継続的な運動は、加齢に伴う動脈硬化の進展や内皮機能の低下を予防し、その分子機序として、NO産生の改善やET-1産生の抑制が関与していることが考えられる。

加齢に伴う、動脈機能低下だけでなく、中膜弾性板で

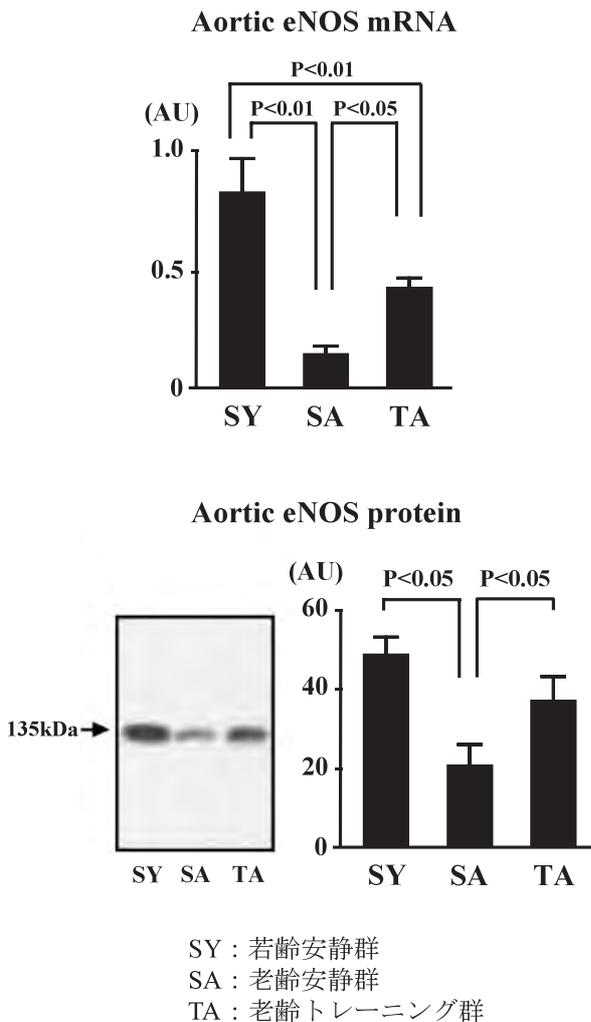


図4：老齢ラットの有酸素性トレーニングによる大動脈のeNOS遺伝子およびタンパク発現(文献20より引用改変)

ある弾性線維のエラスチンの変性が生じ、代償性としてコラーゲンの生合成が増大する。しかしながら、加齢および運動による動脈の形態的な適応に関する分子機序に関してはまだ不明な点が多い。

6. 運動効果の個人差と遺伝子多型

運動トレーニングにより血管拡張・収縮物質が変動し、動脈血管内皮機能の亢進・改善、平滑筋トーンや増殖の抑制に貢献しているが、その運動効果には個人差が認められる。特に高齢者ではその運動効果の個人差は大きい。近年、この運動効果の個人差に遺伝的要因の影響、つまり遺伝子多型、特に一塩基多型(SNP)が関与しているという報告がされてきている。

中高齢者の身体活動量における動脈硬化度への運動効果をANPの遺伝子多型(32Val>Met [664G>A])に分けて検討したところ、GGタイプでは身体活動量が多ければ運動効果が得ることができるとは、GAもしくはAAタイプでは運動効果が得られ難いという1つの塩基の違いが運動効果に影響する可能性が示されている(図5)[23]。また、この遺伝子多型は血中ANP濃度まで影響していることも報告されている(図5)[23]。ANP以外にも、ET-1(198Lys>Asn)、ET-1受容体(ET_A[958A>G]およびET_B[831A>G])[24]、eNOS(298Glu>Asp)、エストロゲン受容体(-401T>C)[25]など動脈硬化性疾患リスク

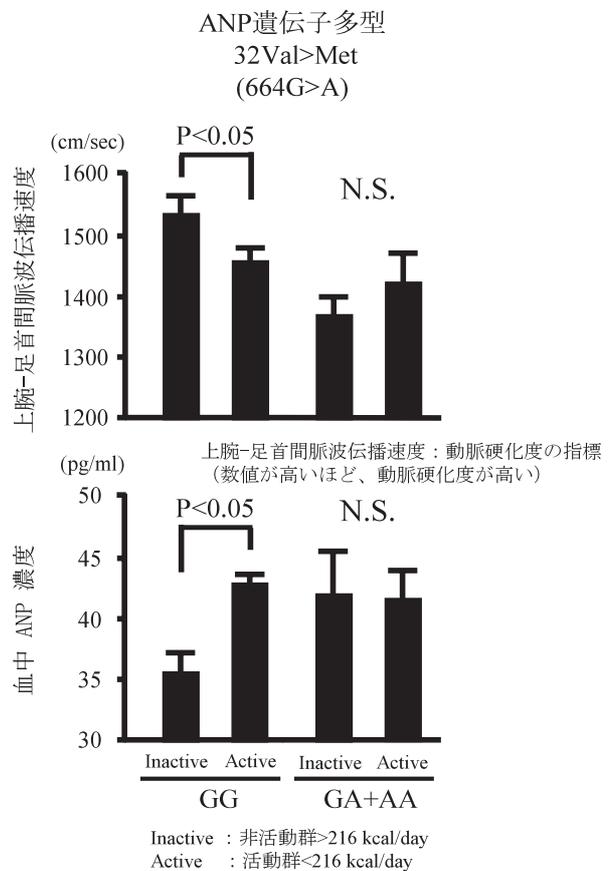


図5：身体活動量と動脈硬化度および血中ANP濃度の関係にANP遺伝子多型が及ぼす影響(文献23より引用改変)

に対する運動効果の個人差に関わる遺伝子多型の影響が報告されている。ヒトの遺伝子多型への応用に向けて、加齢変化と運動効果に関連する遺伝子を探索する検討は今後の課題であろう。

7. まとめ

加齢に伴い、心臓・動脈血管の機能は低下し、心血管疾患の罹患率を増大させるが、継続的な運動は心臓・動脈血管の機能を改善させる効果がある。高齢期からの運動トレーニングの検討より、(1)心収縮能の改善にTRによるMHCやSR Ca^{2+} -ATPaseの遺伝子発現増大の関与、(2)心収縮に必要なエネルギーを産生する機能の改善にPPAR α による β 酸化の酵素遺伝子の発現増大の関与、(3)酸素供給に必要な毛細血管の血管新生能の改善にVEGFシグナルカスケードの関与、(4)動脈硬化の抑制にeNOSやET-1による内皮機能改善の関与が報告されている。このように、運動による心臓・血管の機能、形態、代謝への改善効果には、様々な分子制御により、関連する遺伝子やタンパク発現の調節が行われていることが報告されてきているが、まだ不明な点も多く、今後の研究成果が待たれる。

引用文献

1. Lakatta EG. Cardiac muscle changes in senescence. *Annu Rev Physiol* 49: 519-531, 1987
2. Levy WC, Cerqueira MD, Abrass IB et al. Endurance exercise training augments diastolic filling at rest and during exercise in healthy young and older men. *Circulation* 88: 116-126, 1993.
3. Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, et al. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation* 88:1456 - 1462, 1993.
4. Tanaka H, DeSouza CA, Seals DR. Absence of age-related increase in central arterial stiffness in physically active women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:127- 132, 1998.
5. Jennings GL. Mechanisms for reduction of cardiovascular risk by regular exercise. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22: 209-211, 1995.
6. Li Y, Lincoln T, Mendelowitz D, et al. Age-related differences in effect of exercise training on cardiac muscle function in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 251: H12- H18, 1986
7. Starnes JW, Beyer RE, Edington DW. Myocardial adaptations to endurance exercise in aged rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 245: H560- H566, 1983.
8. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, et al. Exercise training improves cardiac function-related gene levels through thyroid hormone receptor signaling in aged rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H1696-H1705, 2004.
9. Klein I and Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 344: 501- 509, 2001.
10. Opie LH. Metabolism of the heart in health and disease. Part I. *Am Heart J* 76: 685- 698, 1968.
11. McMillin JB, Taffet GE, Taegtmeier H, et al. Mitochondrial metabolism and substrate competition in the aging Fischer rat heart. *Cardiovasc Res* 27: 2222- 2228, 1993.
12. Barger PM and Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med* 10: 238-245, 2000.
13. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, et al. Aging-induced decrease in the PPAR- α level in hearts is improved by exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H1750-H1760, 2002.
14. Edelberg JM and Reed MJ. Aging and angiogenesis. *Front Biosci* 8: s1199 - s1209, 2003.
15. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 13: 9- 22, 1999.
16. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S et al. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H1290-H1298, 2006.
17. Dohi Y, Kojima M, Sato K, et al. Age-related changes in vascular smooth muscle and endothelium. *Drugs Aging*. 7: 278-291, 1995.
18. Tschudi MR, Barton M, Bersinger NA et al. Effect of age on kinetics of nitric oxide release in rat aorta and pulmonary artery. *J Clin Invest* 98: 899-905, 1996.
19. Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, et al. Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *J Appl Physiol* 95: 336-341, 2003.
20. Tanabe T, Maeda S, Miyauchi T, et al. Exercise training improves ageing-induced decrease in eNOS expression of the aorta. *Acta Physiol Scand* 178: 3-10, 2003.
21. Park JH, Iemitsu M, Maeda S, et al. Voluntary running exercise attenuates the progression of endothelial dysfunction and arterial calcification in ovariectomized rats. *Acta Physiol* 193: 47-55, 2008.
22. Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, et al. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. *Hypertens*

- Res 27: 947-953, 2004.
23. Iemitsu M, Maeda S, Otsuki T, et al. Arterial stiffness, physical activity, and atrial natriuretic Peptide gene polymorphism in older subjects. *Hypertens Res* 31: 767-774, 2008.
24. Iemitsu M, Maeda S, Otsuki T, et al. Polymorphism in endothelin-related genes limits exercise-induced decreases in arterial stiffness in older subjects. *Hypertension* 47: 928-936, 2006.
25. Hayashi K, Maeda S, Iemitsu M et al. Estrogen receptor-alpha genotype affects exercise-related reduction of arterial stiffness. *Med Sci Sports Exerc* 40: 252-257, 2008.

Molecular mechanism of exercise training-induced adaptation of heart and artery in the old of age

Motoyuki Iemitsu

Collega of Sport and Health Science, Ritsumeikan University
1-1-1 Nojihigashi, Kusatsu, Shiga, Japan, 525-8577.

Habitual exercise improves aging-related decline of myocardial and arterial functions, and it results in the prevention of cardiovascular diseases. However, the underlying molecular mechanisms improving myocardial and arterial functions by exercise training are unclear. Several studies using hearts and arteries of aged rat with endurance training demonstrated as follow; (1) alteration of α -myosin heavy chain and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase genes via thyroid hormone receptor signaling-mediated transcriptional regulation participates in exercise training-induced improvement of cardiac function, (2) alteration of fatty acid metabolic enzyme genes via peroxisome proliferator-activated receptor- α signaling-mediated transcriptional regulation contributes to exercise training-induced improvement of cardiac fatty acid metabolic capacity, (3) alteration of vascular endothelial growth factor angiogenic signaling cascade affects exercise training-induced improvement of cardiac angiogenesis and (4) alterations of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 are related to exercise training-induced improvement of endothelial function. Thus, exercise training for older induced improvement of age-related downregulation of molecular system (regulation of gene and protein expression) in the heart and artery, that improve aging-related decline of cardiac and arterial functions through exercise training-stimulated molecular system.

Key words: aging, exercise training, heart, endothelial function

【総 説】

運動処方を中心にした健康長寿社会の構築

— 「松本市熟年体育大学」事業の挑戦 —

能勢 博^{1,2}、森川真悠子^{1,2}、山崎 敏明³、根本 賢一⁴、増木 静江¹、岡崎 和伸⁵、
上條義一郎¹、源野 広和^{2,3}

¹信州大学大学院医学系研究科・スポーツ医科学分野

²熟年体育大学リサーチセンター

³キッセイコムテック (株)

⁴松本大学・人間健康学部

⁵大阪市立大学・都市健康・スポーツ研究センター

要約

不活動は糖尿病、循環器疾患、うつ・認知症、がんの原因となり、これらを不活動症候群と呼ぶ。運動は不活動症候群の予防に有効である。しかし、現在、不活動症候群の運動指針は十分ではない。その理由は運動指導効果に関する体力・疾患・体質別のデータベース(DB)がないからである。我々は①インターバル速歩トレーニング、②携帯型カロリー計、③e-Health Promotion Systemによって、少人数の専門スタッフで大勢を対象に実施できる遠隔型個別運動処方システムを開発した。これによって蓄積されるDBを用いれば、不活動症候群の疾患ごとに有効な予防・治療のための運動指針が提供できると考える。

キーワード：インターバル速歩、携帯型カロリー計、e-Health Promotion System、体力向上、生活習慣病予防

1. はじめに

全世界的な高齢化社会に直面し、生活習慣病予防、介護予防のための運動処方が注目されている。我が国において65歳以上が国民に占める割合は、2006年で21%であったものが19年後の2025年には31%に達しており、すでに超高齢社会を迎えている。このような超高齢社会で最も大きな問題の一つが高齢者医療費である。実際、2006年では65歳以上の高齢者医療費は17兆円であったが、2025年には56兆円に達すると予測され、これは2009年度の年間国家予算の64%に相当する¹⁾。

このような国家存亡の危機にあって、2008年に厚生労働省は「治療から予防へ」をスローガンに特定保健指導制度を発足させた。この制度によれば国民は誰でも40歳以上になれば健康診断を受け、そこで問題があれば、生活指導をうけることが義務付けられた。生活指導の中で、特に運動処方が重要であるが、それには、各人の体

力に合わせた「個別運動処方」が理想である。すなわち、まず各人の最大体力を測定し、その一定レベル以上の強度の運動を一定の頻度と期間実施する。これが生活習慣病の予防・治療に最も効果的である^{2,3)}。しかし、これを実施するにはジムなどの専門施設と専門のトレーナーの整備のための費用が必要で、現在のところ、一般国民に広く受け入れられる個別運動処方は存在しない。

一方、我々は過去15年間「熟年体育大学」事業を実施し、「インターバル速歩」、「携帯型カロリー計(熟大メイト)」、「e-Health Promotion System」を開発し、大学生、企業従業員、高齢者、要介護者、生活習慣病患者を対象に運動処方を実施し、その効果に関して総計4,000名のデータベース(DB)を構築した。このシステムによって、少人数の専門家で大勢を対象に簡便かつ安価に個別運動処方を実施することが可能になった。さらに、運動処方効果の個人差を説明する遺伝子多型の探索も可能になり、将来的にはテーラーメイド型の運動処方を目指している。

2. インターバル速歩トレーニング

中高年の生活習慣病予防のためのウォーキングの目標として「1日1万歩」が推奨されている。しかし、その速度については規定がなく、一般歩行速度が6km/時間程度と考えれば、体力を向上させるのには運動強度が低す

連絡先：〒390-8621

松本市旭3-1-1

信州大学大学院医学系研究科・スポーツ医科学分野

能勢 博

TEL: 0263-37-2681

FAX: 0263-34-6721

e-mail: nosehir@shinshu-u.ac.jp

ぎる可能性が高い。実際、米国スポーツ医学会 (ACSM) は、体力を向上させるには最大酸素摂取量の50%以上の運動強度を推奨している²⁾。しかし、このような個人の体力に合わせた運動トレーニングを行うには専門の施設で、専門スタッフの指導のもとに実施しなくてはならない。このことが運動処方「1日1万歩」という、いわゆるポピュレーションアプローチの運動指針から抜け出せない原因の一つになっている。ポピュレーションアプローチでは、個人の体力に合わせた運動が実施されない。そのため、運動プログラムの参加者から良い評価が得ることができず、運動習慣の低定着率に反映していると考えられる⁴⁾。

この問題を解決すべく、我々は、個人の最大体力の70%以上の3分間速歩とそれに続く40%以下の普通歩き3分間を1セットとし、>5セット/日、>4日/週、の頻度で、>4ヶ月間を目標として実施するインターバル速歩を提唱し、その体力向上、生活習慣病指標改善に及ぼす効果を検証してきた^{5,6)}。インターバルにした理由は、予備実験の結果、速歩のみの連続歩行を>60分間/週、>4ヶ月間の目標にするプログラムは、参加者に非常に不評で目標を達成する者がほとんどいなかったからである (未発表データ)。

インターバル速歩トレーニングを実施するにあたり、まず被験者に体育館に集まってもらい、歩行による個人の最高酸素摂取量を測定した。すなわち、携帯型カロリー計 (熟大メイト、後述) を腰につけ、安静、低速、中速、高速のそれぞれ3分間ずつ段階的に歩行速度を上げ、最速歩行時の最後の1分間のエネルギー消費量を個人の最大体力とした。この方法で決定した最高酸素摂取量 (ml/min, y) は、通常ジムなどで自転車エルゴメータを用いた測定値 (x) とよく一致した ($y = 0.81x + 247$, $R^2 = 0.83$, $P < 0.0001$)。このように、熟大メイトさえあれば、わざわざジムに行かなくても、フィールドで簡便かつ安価に個人の最大体力を測定することが可能になった。

インターバル速歩トレーニングを実施するにあたり、熟大メイトを歩行強度が最高酸素摂取量の70%のレベルになると祝福音で知らせ、さらに3分間ずつの速歩と普通歩きの切り替えのタイミングを別のアラーム音で知らせるように設定した。トレーニング中、被験者は2週間ごとに自宅近くの公民館に行き、端末からインターネットを経由してサーバーにデータを転送した。すると、折り返しサーバーのe-Health Promotion System (後述) から歩行記録のトレンドグラフが返送され、それに基づいてトレーナーや保健師が個別運動指導を行った。これによって少数の専門家で大勢を対象に個別運動指導を実施することが可能となった。

インターバル速歩トレーニングの効果について、Nemotoら⁹⁾は、中高年者を対象に、5ヶ月間のインターバル速歩トレーニングと「1日1万歩」目標の従来の歩行トレーニングの効果を比較した。その結果、インターバル速歩トレーニング群では、膝伸展・屈曲筋力がそれぞれ13%、17%増加し、最高酸素摂取量も10%増加し、最高・最低血圧もそれぞれ10mmHg、5mmHg低下したが、

従来の歩行トレーニング群ではそれらの変化は小さく、非トレーニング群とあまり変わらなかった。また、最高酸素摂取量と膝伸展筋力との間に高い相関を認めた ($R^2 = 0.49$, $P < 0.0001$)。このことは、筋力の増加が最高酸素摂取量の増加、血圧の低下に深く関与していることを示唆し、1日1万歩のトレーニングでは運動強度が低すぎて筋力が増加せず、したがって、最高酸素摂取量の増加、血圧低下が認められなかったと考えられる。

これまで、最高酸素摂取量の増加と生活習慣病の症状の改善に関係のあることは、過去の疫学研究によって明らかになっている^{7, 8, 9)}。しかし、比較的大きい中高年者の集団を対象に介入研究でこれを検証した研究は極めて少ない。最近、教室のMorikawaら⁶⁾は中高年 (平均年齢66歳) を対象に、4か月間のインターバル速歩トレーニングによる体力向上が生活習慣病指標に与える効果を検証した。生活習慣病指標とは、1) 最高血圧 ≥ 130 mmHg または最低血圧 ≥ 85 mmHg、2) 空腹時血糖 ≥ 100 mg/dl、3) BMI ≥ 25 kg/m²、4) 中性脂肪 ≥ 150 mg/dl または HDL

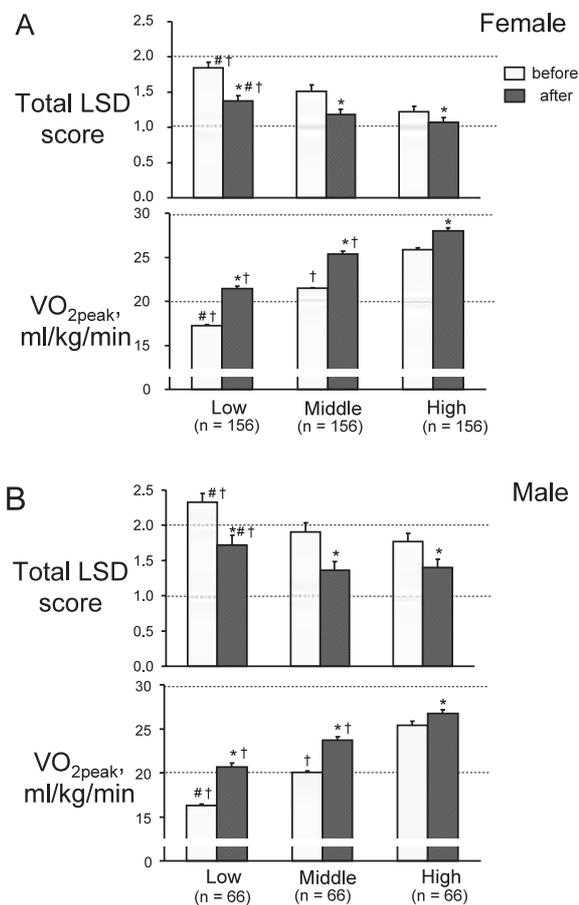


図1：トレーニング前後の最高酸素摂取量と総生活習慣病指標との関係

総生活習慣病指標 (Total lifestyle related disease, LSD, score) と最高酸素摂取量 (VO_{2peak}) をトレーニング前 (白カラム) と後 (灰色カラム) で男性 (A) と女性 (B) について示す。被験者をトレーニング前のVO_{2peak}にしたがって、Low (低体力)、Middle (中体力)、High (高体力) に3等分した。その結果、VO_{2peak}が高くなればなるほど生活習慣病指標が低下した。また、トレーニング後、VO_{2peak}が増加すると、その増加量に応じて生活習慣病指標が低下した。*, vs. before training, #, vs. Middle, †, vs. High (すべてP<0.05)。文献⁵⁾より引用。

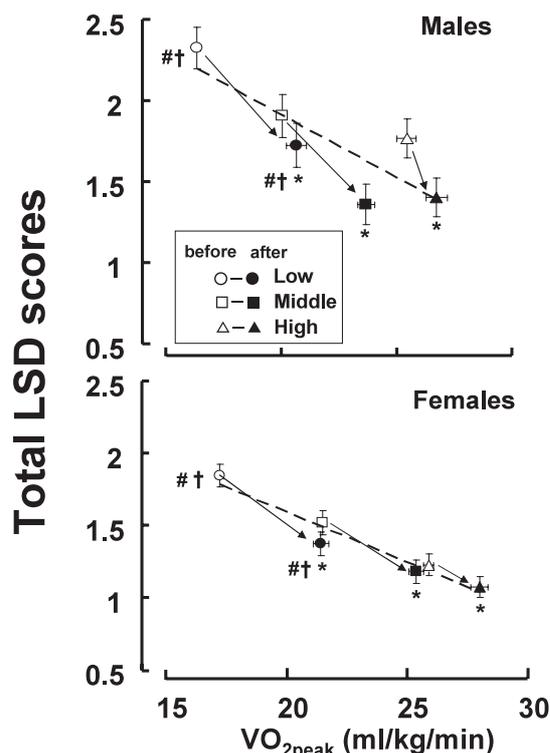


図2: VO_{2peak} vs. 総生活習慣病指標
 トレーニング前、後にかかわらず、VO_{2peak}と総生活習慣病指標が一直線上に乗った。シンボルは図1と同じ。文献5)より引用。

コレステロール $\leq 40\text{mg/dl}$ の4項目の診断基準について、1つ該当すれば1点加算、したがって4項目すべて該当すれば4点満点とした診断基準である。解析にあたり、まず、彼らは初期体力に応じて被験者を男女別に、最高酸素摂取量を基に、低体力、中体力、高体力の3群に等分し、トレーニング前に最高酸素摂取量と生活習慣病指標を比較した。その次に、それらの値に対するトレーニング効果を比較した。その結果、図1(A&B)で示すように、男女ともトレーニング前に体力が低い被験者ほど生活習慣病指標が高く、トレーニング後に最高酸素摂取量が増加すると、その増加に比例して生活習慣病指標が改善することが明らかとなった。図2は、横軸に最高酸素摂取量、縦軸に生活習慣病指標を示したものだが、この図からも最高酸素摂取量と生活習慣病指標の間に密接な関係があることが分かる。すなわち、4カ月間のインターバル速歩トレーニングによって最高酸素摂取量が15%増加すると生活習慣病指標の合計点が20%低下した。

また、図3(A&B)に体力別に各生活習慣病項目該当者数を全被験者に対する比率で表す。その結果、トレーニング前には、男女とも高血圧症の被験者が全体の60-80%、高血糖が50-80%と高く、それに、肥満、異常脂質血症が続く。これら罹患率は低体力の被験者ほど高いことがわかる。ところが、トレーニング後には、それぞれの診断基準に該当する被験者の人数が、高血圧症で平均40%、高血糖症で35%、肥満症で20%低下した。一方、高脂血症では顕著な改善を認めなかった。以上、トレーニングによる体力向上は、生活習慣病指標のうち、特に、高血圧、高血糖、肥満を改善することが明らかとなった。

以上は、インターバルトレーニングによる身体的効果であるが、心理的な効果についても検討した。700名余りの中高年者を対象にCES-D (Center for Epidemiologic Studies Depression Scale) を用いて自己うつ評価尺度を調査した結果、インターバル速歩トレーニング前は、全体の25%が60点満点中16点以上の「うつ傾向あり」と判定され、平均値は22点であった。しかし、5ヶ月間のトレーニング後には正常値の13点にまで低下した。さらに、その低下度は1週間あたりの速歩時間に比例した ($R^2 = 0.28, P < 0.001$, 未発表データ)。ところで、CES-Dは運動の心理的効果を評価する目的に由来から国際的に広く用いられているが、あくまでも「抑うつ気分」を評価するもので、厳密には「うつ病」の予防・治療効果を反映するものではない、という意見もある¹⁰⁾。しかし、我々の結果は「ややきつい」運動がうつ病治療に有効であることを示唆し、現在、北欧で提唱されているうつ病の予防・治療の運動指針と一致する⁶⁾。

さらに我々は、インターバル速歩トレーニングの医療費削減効果を検証した。被験者の中で国民健康保険に加入する男性85名、女性81名に対して、対照群として年齢、性別が一致するように男性1205名、女性1148名を無作為に非参加者から選び、2005年の1年間のトレーニング期間中の医療費を検討した。その結果、トレーニング群において、トレーニング前の2004年後期の医療費は87,649円であり、対照群の87,746円と差がなかった。次に2005年前期にはトレーニング群で95,923円、対照群97,949円と共に増加した。しかし、同年後期にはトレーニング群では96,272円と横ばいであったのに対し、対照群では119,173円までさらに増加し、トレーニングによって6カ月間で、医療費が22,901円 (24%) 有意に低下した ($P < 0.05$) (未発表データ)。

ところで、中高年に対し、このような速歩トレーニングを実施することが、腰、膝などの慢性関節痛を悪化させる危険性はないのであろうか。我々は6カ月間インターバル速歩トレーニングを実施した606名の中高年に対しアンケート調査を実施した。その結果、トレーニング前に比べこれらの関節痛が、「非常に改善した」が24.4%、「少し良くなった」が23.1%、「変化なし」が49.0%、「少し悪化した」が3.0%、「非常に悪くなった」が0.4%と、全体の半分近くが改善し、悪化したのは4%以下であった (未発表データ)。

以上の結果を纏めると、6カ月間インターバル速歩を実施すると、体力が10-20%増加し、高血圧症、高血糖症、異常脂質血症の症状が10-20%改善し、医療費が20%抑制されることが明らかとなった。

3. 携帯型カロリー計 (熟大メイト)

信州は山国で坂道が多い。従来から坂道の上下りでも正確にエネルギー消費量が測定できる機器の開発が参加者から望まれてきた。そこで、Yamazakiら¹¹⁾は、中高年被験者を対象に、3軸加速度計を搭載した携帯型カロリー計 (旧型熟大メイト) を腰につけさせ、 -15° から $+15^\circ$ の傾斜を変化させたトレッドミル上を歩行させ、

その際の酸素消費量を呼気ガス分析器で測定し、それと3軸方向の加速度のノルムとの関係をトレッドミルの傾斜を変化させて求めた。それらの結果から、 $VO_2 = 0.044VM + 1.365Hu + 0.553Hd$ という推定式を決定した。ここで VO_2 は酸素消費量(ml/min/kg)、VMは加速度ノルム(G)、Huは高度上昇速度 (m/min)、Hdは高度下降速度 (m/min) を表す。

次に、3軸加速度計、高度計、記憶容量4メガバイト、USB端子、 VO_2 推定ロジックを搭載した新型熟大メイト (80x50x21mm, 82g, Kissei Comtec Co, 松本) を開発した。さらに、その推定精度を検証する目的で、この装置を中高年被験者に携帯させて高度差100mの山を上り下りさせ、その際の酸素消費量(x)を呼気ガス分析器で測定し、新型熟大メイトの出力値(y)と比較した。その結果、 $y=0.97x$, ($R^2 = 0.77$, $P < 0.001$) の関係を得、酸素消費量2.0-33.0ml/kg/minの範囲で、95%信頼限界が ± 6.95 ml/kg/minの精度で測定できることを明らかにした。以上、自転車エルゴメータなど、特別な装置がなくても、現場で運動時のエネルギー消費量を精度よく連続測定することを可能にした。

4. e-Health Promotion System

従来の個別運動処方を実施する上での問題はコストである。これを解決するために図4で示すような遠隔型個別運動処方システムを開発した¹²⁾。運動処方参加者は、日々、熟大メイトを用いてインターバル速歩トレーニングを行う。そして2週間ごとに近くの地域公民館に行き、端末からインターネットを介して熟大メイトに記憶された歩行データのサーバーへの転送を行う。その他、6カ月ごとに実施する体力測定結果、血圧・血液検査結果、食事記録、CES-Dによる自己うつ評価尺度の調査結果をサーバーに転送する。これらの記録は、歩行データとともに個人にグラフなどによってフィードバックされるだけでなく、権限を与えられた研究者がデータファイルとして切りだして解析することもできる。さらに、これら臨床データと別途オフライン管理されている遺伝子データとを匿名化の後解析することで、運動の効果の個人差を決定する遺伝子の探索に用いることができる。以上、同システムを利用して、少人数の専門家で大勢を対象に運動指導を実施することが可能となった。

5. 運動反応性遺伝子の探索

さらに、均一な運動方法を指導することで、その効果の個人差から運動反応性遺伝子探索が可能になった^{13,14)}。ここでは、Masukiら¹³⁾の研究結果を紹介しておく。

彼女らはvasopressinのV1a受容体の一塩基多型 (rs1042615) によって、生活習慣病指標が影響を受けるか、もし、その場合、5ヶ月間のインターバル速歩トレーニングの効果に違いがあるか、を検証した。同多型はCC、CT、TT型があり、対象とした被験者について男性ではそれぞれ42、118、64名、女性では113、263、154名であった。インターバル速歩によるトレーニング量には多型間で差はなかった。その結果、男性において、トレーニング前には、BMI、拡張期血圧がTT群で、CC群に比べ有意に高かった。しかし、トレーニング後には、多型間で同じトレーニング量にもかかわらず、これらの差が消滅した。また、トレーニング後のBMI、拡張期血圧およびLDLコレステロールの低下度はCC群に比べTT群で有意に高かった。この拡張期血圧、LDLコレステ

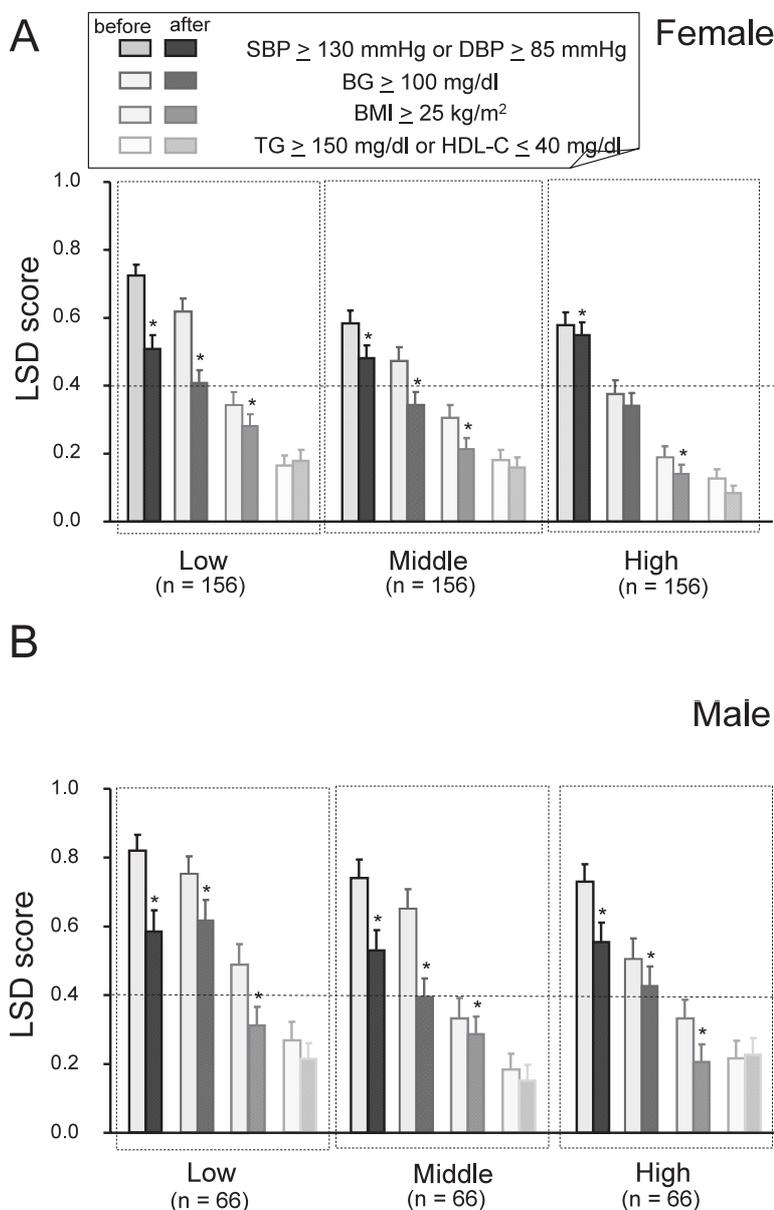


図3: VO_{2peak} vs. 疾患別生活習慣病指標

疾患別の生活習慣病指標：高血圧症、高血糖症、肥満、異常脂質血症を男性(A)、女性(B)別にそれぞれ示す。 VO_{2peak} にしたがって、Low (低体力)、Middle (中体力)、High (高体力)に3等分した。その結果、 VO_{2peak} が高くなればなるほど、それぞれの指標が低下した。トレーニング後には異常脂質血症以外のすべての指標が10-40%低下した。*, vs. before training ($P < 0.05$)。文献5)より引用。

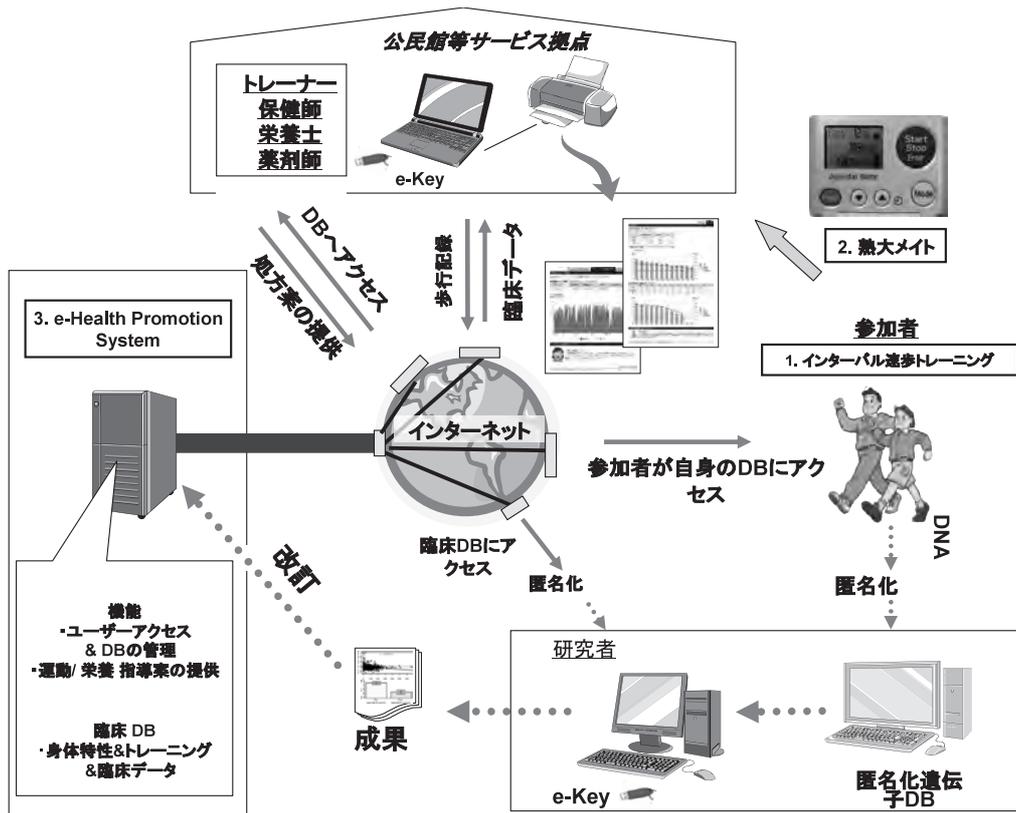


図4：インターバル速歩トレーニングとe-Health Promotion System:

携帯型カロリー計熟大メイトを携行してインターバル速歩トレーニングを実施する事業参加者は、2週間ごとに近くの公民館に行き、端末からサーバーコンピュータへ歩行記録をインターネット経由で送信する。するとサーバーから折り返し、歩行記録のトレンドグラフが返送される。それに基づき、トレーナー、保健師、栄養士、薬剤師が運動指導を行う。さらに、6か月ごとに体力・血液・血压・うつ指標の測定を行い、それら臨床データと運動量から運動効果の予測式を逐次改訂し、e-Health Promotion Systemにフィードバックする。さらに、これらのデータは、運動指導効果の個人差を生じる遺伝子探索にも利用でき、将来は認知症予防・治療を含むテーラーメイド型の運動指導を目指している。文献10)より引用。

ロールの低下度は、それぞれの初期値を補正しても有意に高かった。一方、女性では、これらの多型間の差は一切認めなかった。これらの結果は、vasopressinのV1a受容体の一塩基多型(rs1042615)が、運動反応性の個人差に深く関与していることを示唆する。

6. おわりに

運動生理学の国際拠点の一つであるコペンハーゲン大学のPedersenら¹⁵⁾は不活動が糖尿病、循環器疾患などの生活習慣病が基礎にあるとしている。すなわち、不活動は、内臓脂肪の増加、内臓脂肪へのマクロファージの浸潤、全身の慢性炎症、インスリン抵抗性、動脈硬化、神経変性、癌細胞増殖という一連の病態と関連し、その結果、糖尿病、循環器疾患、うつ病、認知症、大腸がん、乳がんといった一見別々の症状の疾患を引き起こす。しかし、基本となる病因は不活動であって、彼女らはこれらの疾患を一括して不活動症候群(diseasome of physical inactivity)と呼んでいる。さらに、不活動症候群が生活共同体で集団発生することから一種の「伝染病」と考えることができ、その予防・治療のためにコミュニティベースの運動処方システムによる疫学的な予防体制の整備が重要であることを主張している。我々は「熟大メイト」、「インターバル速歩」、「e-HealthPromotion System」によって、コミュニティベースの「個別運動指

導」を可能にした。今後、遺伝子多型を含めた効率的な個別運動処方の開発を目指して研究を進めていく予定である。

7. 参考文献

- 1) 厚生労働省(1999):国民の健康と福祉に関する報告:社会保障と国民生活(1998-1999)
- 2) Armstrong LE, Balady GJ, Berry MJ, Davis SE, Davy BM, Davy KP, et al.(2006). General Principles of exercise prescription. In: Whaley MH, ed. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 7th ed. Baltimore, Md: Williams & Wilkins, 133-173.
- 3) Pedersen BK and Saltin B (2006) Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. Scand. J. Med. Sci. Sports 16 (suppl 1): 3-63.
- 4) Nemoto K, Gen-no H, Masuki S, Okazaki K, & Nose H (2007). Effects of high-intensity interval walking training on physical fitness and blood pressure in middle-aged and older people, Mayo Clin. Proc. 82 (7): 803-811.
- 5) 酒井秋男、寺沢宏次、稲木光晴、柳平坦徳、小林いず子、小穴定利、能勢 博 (2000):「松本市熟年体

- 育大学」実施による体力医学的效果、信州医学雑誌 48:89-96
- 6) Morikawa M, Okazaki K, Masuki S, Kamiyo Y, Yamazaki T, Gen-no H & Nose H (2009): Physical fitness and indices of lifestyle related diseases before and after interval walking training in middle-aged males and females. *British J. of Sports Medicine*, in press, doi: 10.1136/bjism.2009.064816
 - 7) Blair SN, Goodyear NN, Gibbons LW and Cooper KH (1984) Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. *JAMA* 252, 487-490.
 - 8) Sawada SS, Lee IM, Muto T, Matsuzaki K and Blair SN (2003) Cardiorespiratory fitness and the incidence of type 2 diabetes: prospective study of Japanese men. *Diabetes Care* 26, 2918-2922.
 - 9) Lee S, Kuk JL, Katzmarzyk PT, Blair SN, Church TS and Ross R (2005) Cardiorespiratory fitness attenuates metabolic risk independent of abdominal subcutaneous and visceral fat in men. *Diabetes Care* 28, 895-901.
 - 10) 坂元 薫、福永貴子 (1999): 精神科学臨床評価マニュアル、臨床精神医学 増刊号: 118-127.
 - 11) Yamazaki T, Gen-no H, Kamiyo Y, Okazaki K, Masuki S & Nose H (2009). A new device to estimate VO₂ during incline walking by accelerometry and barometry. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 41 (12): 2213-2219.
 - 12) Nose H, Morikawa M, Yamazaki T, Nemoto K, Okazaki K, Masuki S, Kamiyo Y, and Genno H (2009) Beyond epidemiology: field studies and the physiology laboratory as the whole world, *J. Physiol. (Lond.)* 587 (23): 5569-5575.
 - 13) Masuki S, Mori M, Tabara Y, Miki T, Morikawa M, Miyagawa K, Higuchi K, and Nose H for the Shinshu University Genetic Research Consortium. (2010): Vasopressin V1a receptor polymorphism and high-intensity interval walking training effects in middle-aged and older people. *Hypertension* 55: 747-754.
 - 14) Mori M, Higuchi K, Sakurai A, Tabara Y, Miki T, Nose H, Shinshu University Genetic Research Consortium (2009). Genetic basis of inter-individual variance in the effects of exercise on preventing life-style related diseases, *J Physiol (Lond.)* 587 (23) 5577- 5584
 - 15) Pedersen BK (2009) The disease of physical inactivity-and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J. Physiol. (Lond.)* 587(23) 5559-5568.

8. 研究費

本研究は、H15-17経産省「健康サービス産業創出支援事業」、H17-19厚労省「長寿科学総合研究」、H18-21文科省「特別教育研究経費」の支援を受けた。

Promotion of Health and Welfare for Elderly People by Exercise Prescription: Challenge by Jukunen Taiikudaigaku Project in Matsumoto

Hiroshi Nose¹⁾, Mayuko Morikawa^{1,2)}, Toshiaki Yamazaki³⁾, Ken-ichi Nemoto⁴⁾, Shizue Masuki¹⁾, Kazunobu Okazaki⁵⁾, Yoshi-ichiro Kamiyo¹⁾, Hirokazu Gen-no²⁾

¹⁾ Department of Sports Medical Sciences, Shinshu University Graduate School of Medicine, Nagano, Japan.

²⁾ Jukunen Taiikudaigaku Research Center, Nagano, Japan.

³⁾ Kissei Comtec, Co. Ltd., Nagano, Japan.

⁴⁾ Faculty of Human Health, Matsumoto University, Nagano, Japan.

⁵⁾ Research Center for Urban Health and Sports, Osaka City University, Osaka Japan.

Physical inactivity causes type II diabetes, cardiovascular diseases, depression, dementia, and cancer, which defines “a disease of physical inactivity”; however, there is no exercise training regimen broadly available in the field to prevent the disease. The reasons are that there is no database on the effects of exercise training according to inter-individual variation of physical fitness, diseases, and genetic background. We have developed interval walking training, a portable calorimeter, and e-Health Promotion System, which will enable us to accumulate the database to provide the exercise prescription most appropriated for individuals to prevent the disease.

【総 説】

男性骨粗鬆症

森 聖二郎

東京都健康長寿医療センター

要約

男性では、骨粗鬆症の罹患率ならびに骨折発生率は、女性の約3分の1と推計される。しかし、骨折後の死亡リスクの上昇ならびに生活障害の度合いは、男性が女性より深刻である。男性では、加齢に伴う海綿骨の減少は主として骨形成の低下によりもたらされ、骨梁の菲薄化が生じるものの、骨梁の数ならびに骨梁の連結状態は比較的維持される。対照的に閉経後女性では、海綿骨の減少は主として骨吸収の亢進によってもたらされ、骨梁の数の低下、骨梁の連結状態の喪失、さらには骨梁穿孔が生じる。骨梁の菲薄化（男性型）も骨梁の数の減少（女性型）も、ともに骨密度の低下をもたらすが、後者の方がより甚大に骨強度を損なうことが、女性が男性に比較して骨折頻度が高くなる理由の一つと考えられる。男性では加齢に伴い、血中遊離エストロゲンも遊離テストステロンもともに有意に減少するが、骨量の減少は主としてエストロゲンの減少によりもたらされている。ビスフォスフォネート製剤あるいはPTH製剤の骨密度増加効果はほぼ女性と同等であり、椎骨骨折の予防効果を示唆する報告も少数ながらみられる。

キーワード：osteoporosis, fracture, estrogen, testosterone

1. はじめに

男性は女性と比較して最大骨量（peak bone mass）が高値であり、また女性特有の更年期を境とする急激な骨量減少を経験しないため、今まで骨粗鬆症と言えば、あたかもそれは女性の病気というイメージで扱われてきた。しかし、男性でも加齢とともに骨量は減少し、脆弱性骨折のリスクは増加する。とは言え、男女の間には骨折の頻度、骨量減少のパターン、性ホルモンに対する反応性に明らかな違いが認められる。本稿では、男性骨粗鬆症の疫学、診断、治療について、逐一女性と比較しつつ論じてみたい。なお本稿では、もっぱら加齢に伴う原発性骨粗鬆症について述べる。若年性（特発性）骨粗鬆症ないし続発性骨粗鬆症に関しては他の総説を参照されたい[1]。

2. 男性骨粗鬆症の頻度

そもそも男性において骨粗鬆症はどのくらいの頻度で存在するのであろうか。わが国における男性骨粗鬆症のカットオフ値は女性同様、若年者（20～44歳）の平均骨密度（young adult mean: YAM）の70%未満とされている。山本はこの診断基準を用いて、性別年代別に骨粗鬆症の頻度を求め、骨粗鬆症の有病者数を西暦2000年

人口で換算し、男性226万人、女性783万人と推定している[2]。男女とも年齢とともに有病率が増加するが、女性は男性より約3倍頻度が高い。

海外の文献をあたると、3rd National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) の調査では、50歳以上のアメリカ人男性の3-6%に骨粗鬆症が認められ、28-47%に骨減少症が認められたとしている[3]。ここで用いられた診断基準では、大腿骨頸部の骨密度が20-29歳の白人男性の平均値の-2.5標準偏差未満であれば骨粗鬆症、-1標準偏差未満かつ-2.5標準偏差以上であれば骨減少症としている。大腿骨頸部だけでなく、椎骨ならびに橈骨の骨密度も含めて解析したMeltonら[4]の報告では、50歳以上のアメリカ人女性の35%、男性の19%に骨粗鬆症が認められたとしている。そして、女性と同様に、男性でも骨密度が骨折リスクを予測するとしている。

3. 男性骨粗鬆症と骨折

わが国における大腿骨頸部骨折については、2002年の調査結果で発生数は117,900人（男性25,300人、女性92,600人）と推定されている[5]。これを年代別でみると、骨折発生率は年齢とともに上昇し、女性は男性より約3倍頻度が高い。大腿骨頸部骨折が女性で男性の約3倍の頻度で発生するという状況は、洋の東西を問わず認められる[6]。たとえばDiamond [7]は、50歳以上の白人では椎骨骨折の発生頻度が男性で5%、女性で16%、大腿骨頸部骨折の発生頻度が男性で6%、女性で18%と推計できたとしている。発生頻度は女性の約3分の1とは言え、実

連絡先：〒173-0015

東京都板橋区栄町35-2

Tel: 03-3964-1141

Fax: 03-3964-1982

E-mail: seimori1106@gmail.com

際に大腿骨頸部骨折が発生してしまうと、骨折後の長期死亡率ならびに生活障害の度合いは、女性に比較して男性の方がより深刻であることが報告されている[8]。その意味で、男性骨粗鬆症は決して見過ごすところのできない病気であることが理解される。

骨粗鬆症の合併症である骨折により、その後の死亡リスクが有意に増加することは確立した疫学的事実であるが、なぜそうなるのか、という点については未だ十分には解明されていない。最近、オーストラリアのDubboという地域で行われた大規模縦断調査の結果が報告された[9]。それによると、男女とも骨粗鬆症性骨折の発生後に、年齢・性別標準化死亡率比 (age- and sex-specific standardized mortality ratio: SMR)の上昇を認めた。全年齢層、全骨折について、死亡率上昇との関連が存在したが、たとえば大腿骨頸部骨折の場合、女性ではSMRが2.43、男性ではSMRが3.51、すなわち女性では死亡率が一般住民の2.43倍、男性では3.51倍に増加したことになる(表1)。死亡リスクの上昇は、全骨折では5年間、大腿骨頸部骨折では最長10年間持続した。骨折後の死亡に関する予測因子は、男女ともに、年齢、大腿四頭筋の筋力低下、そして再骨折であったが、併存疾患は予測因子ではなかった。骨折が基礎疾患ないし併存疾患を増悪させて死亡リスクを高めるという報告[10]もあるが、本研究ではそのような事実は観察されなかった。そのため、男性が女性に比較して骨折後の死亡リスクの上昇がより大きいという理由は、現時点では不明と言わざるを得ない。

4. 男性における骨量減少の特徴

骨は皮質骨(緻密骨)と海綿骨の2種の存在様式を示す。緻密骨は密な骨質であり極めて丈夫であるが、骨が緻密骨だけでできていると、われわれの身体は非常に重くなってしまう。そのため、大きな骨では外層だけが緻密骨で出来ているため、緻密骨は皮質骨とも呼ばれる。海綿骨は網目をなす骨質の薄い板(骨梁)が疎に配列した

ものである。骨梁は、その主成分がそこに負荷される機械力の向きに合致するような組立を示す。

加齢に伴う骨構造の変化には男女差が見られる(表2)。男性では、海綿骨の減少は主として骨形成の低下によりもたらされるため、骨梁の非薄化が生じるものの、骨梁の数ならびに骨梁の連結状態は比較的維持される。対照的に閉経後女性では、海綿骨の減少は主として骨吸収の亢進によってもたらされるため、骨梁の数の低下、骨梁の連結状態の喪失、さらには骨梁穿孔が生じる[11]。骨梁の非薄化(男性型)も骨梁の数の減少(女性型)も、ともに骨密度の低下をもたらすが、後者の方がより甚大に骨強度を損なうことが、女性が男性に比較して骨折頻度が高くなる理由の一つと考えられている[12]。

海綿骨に比較して皮質骨の骨量は壮年期には良く保たれており、加齢にともなう減少が明らかとなるのは男女とも65歳前後からと言われている。その後の減少は男女とも、ほぼ直線的であるが、減少速度は女性の方が速い[13]。皮質骨では骨内腔での骨吸収と同時に骨周囲での骨形成が平行して生じており、皮質骨の骨量はそれらのバランスで決定される。骨内腔での骨吸収は男女ともほぼ同等であるが、骨周囲での骨形成は男性の方が多いとする報告がみられ[14]、このことも、女性が男性に比較して骨折頻度が高くなる理由の一つかも知れない。

5. 性ホルモンの影響

性ホルモンは血中では性ホルモン結合グロブリン(sex hormone binding globulin: SHBG)に結合している画分と遊離している画分とがあり、実際のホルモン作用は遊離ホルモンによって発揮される。男性では加齢に伴い、遊離エストロゲンも遊離テストステロンもともに有意に減少するが、一方でSHBGは増加する(表3)[15]。男性にとって主たる性ホルモンはテストステロンであるため、男性の加齢に伴う骨量の減少は主としてテストステロンの減少に起因するように一見思われるが、実際は男性においても、骨量の減少はエストロゲンの減

表1 骨折の種類別にみた死亡リスクの上昇

オーストラリアのDubboという地域で行われた大規模縦断調査の結果、男女とも骨粗鬆症性骨折の発生後に、年齢・性別標準化死亡率比(SMR)の上昇を認めた。

	骨折者数	死亡者数	人・年	死亡率 (/100人・年)	SMR (95%信頼範囲)
(女性)					
一般住民		1,609	37,406	4.30	
全骨折	952	461	5928	7.78	1.76 (1.59 - 1.95)
大腿骨頸部骨折	183	118	765	15.42	2.43 (2.02 - 2.93)
脊椎骨折	283	133	1,483	8.97	1.82 (1.52 - 2.17)
(男性)					
一般住民		1,514	27,409	5.52	
全骨折	343	197	1,744	11.30	1.96 (1.69 - 2.28)
大腿骨頸部骨折	63	50	195	25.64	3.51 (2.65 - 4.66)
脊椎骨折	107	65	429	15.15	2.12 (1.66 - 2.72)

(文献9から改変引用)

表2 加齢に伴う骨量減少パターンの相違

男性では、加齢に伴う海綿骨の減少は主として骨形成の低下によってもたらされ、対照的に閉経後女性では、海綿骨の減少は主として骨吸収の亢進によってもたらされる。

海綿骨		
骨梁の数・連結状態	男性>女性	
骨梁の菲薄化	男性=女性	
皮質骨		
骨内腔での骨吸収	男性=女性	
骨周囲での骨形成	男性>女性	

(文献11、14より改変引用)

少によりもたらされていることが明らかとなってきた。

Slemendaら[16]は健康な55歳以上の男性93名の骨密度と性ホルモン値を測定した結果、骨密度と血清エストロゲン値との間に有意な正の相関が認められたが、一方で血清テストステロン値との間には負の相関が認められたと報告している。さらにKhoslaら[17]は60歳から90歳までの男性の骨密度と性ホルモン値を4年間追跡調査した結果、骨密度の減少は血清遊離エストロゲン値が低いほど大きく、性ホルモンの影響は遊離テストステロンよりも遊離エストロゲンの方が強かったと報告している。興味深いことに、遊離エストロゲン値には骨密度減少において閾値が存在し、11 pg/mlより低値では骨密度減少率と遊離エストロゲン値の間には相関が認められるが、それ以上では両者の間に相関は認められなかったとしている。遊離エストロゲン11 pg/mlという値は、ちょうど遊離エストロゲン値としては中央値に相当し、また、この値は血中総エストロゲンにすれば31 pg/mlに相当する。総エストロゲンの正常値は10~50 pg/mlであるので、31 pg/mlという値はやはり中央値にあたる。すなわち、血中エストロゲンレベルが中央値以上あれば骨密度には殆ど影響はないが、中央値以下に低下すると、低下の度合いに応じて骨密度が減少するという解釈が可能である。

加齢に伴い成長ホルモンの分泌も減少することが知られており、それに伴いソマトメジンC (insulin-like growth factor I: IGF-I) の産生も減少する。少なくとも20歳から40歳の男性を対象にした研究では、血中IGF-Iレベルが低下すると骨梁の厚さが減少するという報告があるため[18]、加齢に伴うIGF-Iの減少が男性骨粗鬆症の発症に多少とも関与している可能性は否定できない。しかしながら、IGF-Iには肝臓でのSHBGの産生を抑制する作用があり、男性では血中IGF-I値とSHBG値との間には負の相関が認められるため[19]、加齢に伴うIGF-Iの減少は、むしろSHBGの増加を介して、性ホルモンの作用に影響を及ぼしている可能性が高い。

6. 治療

骨粗鬆症の治療に関しては、女性に比較して男性の場合、そもそも介入研究の数が少ないこと、研究対象集団

表3 男性における血清中の性ホルモンの加齢に伴う変化

米国ロチェスター在住の23歳から90歳の男性346名における検討。男性では加齢に伴い、遊離エストロゲンも遊離テストステロンもともに有意に減少するが、一方でSHBGは増加する。

ホルモン	パーセント変化	有意水準
遊離エストロゲン	-47	P < 0.005
遊離テストステロン	-64	P < 0.005
SHBG	+124	P < 0.005
黄体形成ホルモン	+285	P < 0.005
卵胞刺激ホルモン	+505	P < 0.005

SHBG: sex hormone binding globulin(性ホルモン結合グロブリン)

(文献15から改変引用)

のサイズが小さいこと、殆どの研究でエンドポイントが骨密度変化であること等の理由から、薬物療法の骨折予防効果を判定するだけの十分なエビデンスに乏しい[20]。しかしながら、欧米で現在最も汎用されているビスフォスフォネート製剤ならびに副甲状腺ホルモン (PTH) 製剤については、女性とほぼ同等に治療効果が得られたと報告されている。

1) ビスフォスフォネート製剤

ビスフォスフォネート製剤は骨基質に強い親和性を持っており、体に取り込まれるとすみやかに骨組織に集積する。そして、骨吸収の過程で破骨細胞に取り込まれ、破骨細胞の機能障害やアポトーシスを誘発することによって骨吸収の抑制がおこると考えられている。代表的なビスフォスフォネート製剤であるアレンドロネートを31~87歳の白人男性骨粗鬆症患者241人に投与した成績では、明らかな骨密度の増加が得られ、また椎骨骨折リスクも低下する可能性が示唆された[21]。欧米では同様の成績がリセドロネートについても報告されている[22]。わが国においては、65歳以上の脳卒中後の男性患者280名を対象に検討した結果、リセドロネートが大腿骨頸部骨折のリスクを減少させたと報告されている[23]。

2) PTH製剤

閉経後女性の骨粗鬆症は主として骨吸収の亢進によってもたらされるのに対し、男性の加齢に伴う骨粗鬆症は骨形成の減少が大きな役割を果たしていると考えられている。その意味では、男性骨粗鬆症の薬物療法として、骨形成促進作用を有するPTHの間欠投与は理に適っている。PTHは持続的に投与されると骨吸収促進作用を示すが、間欠的に投与されると骨芽細胞刺激効果が破骨細胞による骨吸収作用を凌駕して、結果的に骨形成促進作用を示すことが知られている。ヒトPTHは84アミノ酸からなるペプチドホルモンであるが、N末端の34アミノ酸だけで100%の受容体刺激活性が存在するため、現在は34アミノ酸からなるリコンビナントヒトPTH製剤 (teriparatide) が欧米で臨床に導入されている。わが国では未だ臨床導入はされていないが、欧米での成績を見ると、男女ともに骨粗鬆症治療薬としての有効性が確

認されている[24]。男性骨粗鬆症を対象にした検討では、骨密度増加のみならず、椎骨骨折リスクを減少させる可能性も報告されている[25]。

PTH製剤は骨形成促進作用を有するので、骨吸収抑制作用を有するビスフォスフォネート製剤と併用すると相乗効果が得られると思われるが、実際にはビスフォスフォネート製剤を併用するとPTH製剤の有効性は減弱することが報告されている。これは男性骨粗鬆症においても同様であり[26]、その理由としては、PTH製剤が骨形成作用を発揮する前提として、まずは骨吸収が必要であるため、と考えられている。

7. おわりに

男性骨粗鬆症について述べた。今までは閉経後骨粗鬆症の陰に埋もれて、医師からも患者からもあまり注目されてこなかった領域であるが、高齢者人口の増加とともに、その患者数は確実に増加しつつある。男性は女性に比較して骨折後の死亡リスクの上昇がより大きいことから、今後、男性骨粗鬆症は高齢者医療において重要なテーマになると思われる。

【文献】

1. Khosla S, Amin S, Orwoll E: Osteoporosis in men. *Endocrine Reviews* 29: 441-464, 2008.
2. 山本逸雄. 骨粗鬆症人口の推定. *Osteoporosis Jpn* 7: 10-11, 1999.
3. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC, et al: Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 12: 1761-1768, 1997.
4. Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Connor MK, et al: Bone density and fracture risk in men. *J Bone Miner Res* 13: 1915-1923, 1998.
5. 折茂肇, 坂田清美. 第4回大腿骨頸部骨折全国頻度調査成績: 2002年における新発症患者数の推定と15年間の推移. *医事新報* 4180: 25-30, 2004.
6. Maggi S, Kelsey JL, Litvak J, et al: Incidence of hip fractures in the elderly: a cross-national analysis. *Osteoporos Int* 1: 232-241, 1991.
7. Diamond TH. Pharmacotherapy of osteoporosis in men. *Expert Opin Pharmacother* 6: 45-58, 2005.
8. Center JR, Nguyen TV, Schneider D, et al: Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* 353: 878-882, 1999.
9. Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, et al: Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA* 301: 513-521, 2009.
10. Tosteson AN, Gottlieb DJ, Radley DC, et al: Excess mortality following hip fracture: the role of underlying health status. *Osteoporos Int* 18: 1463-1472, 2007.
11. Aaron JE, Makins NB, Sagreiya K: The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging and women. *Clin Orthop Relat Res* 215: 260-271, 1987.
12. Silva MJ, Gibson LJ: Modeling the mechanical behavior of vertebral trabecular bone: effects of age-related changes in microstructure. *Bone* 21: 191-199, 1997.
13. Seeman E: Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* 359: 1841-1850, 2002.
14. Ahlborg HG, Johnell O, Turner CH, et al: Bone loss and bone size after menopause. *N Engl J Med* 349: 327-334, 2003.
15. Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, et al: Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2266-2274, 1998.
16. Slemenda CW, Longcope C, Zhou L, et al: Sex steroids and bone mass in older men: positive associations with serum estrogens and negative associations with androgens. *J Clin Invest* 100: 1755-1759, 1997.
17. Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, et al: Relationship of serum sex steroid levels to longitudinal changes in bone density in young versus elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3555-3561, 2001.
18. Khosla S, Melton LJ 3rd, Achenbach SJ, et al: Hormonal and biochemical determinants of trabecular microstructure at the ultradistal radius in women and men. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 885-91, 2006.
19. Pfeilschifter J, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, et al: Relationship between circulating insulin-like growth factor components and sex hormones in a population-based sample of 50- to 80-year-old men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 2534-2540, 1996.
20. MacLean C, Newberry S, Maglione M, et al: Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis. *Ann Intern Med* 148: 197-213, 2008.
21. Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, et al: Alendronate for the treatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med* 343: 604-610, 2000.
22. Bobba R, Adachi JD: Review of the safety and efficacy of risedronate for the treatment of male osteoporosis. *Clin Interv Aging* 2: 275-

- 282, 2007.
23. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, et al: Risedronate sodium therapy for prevention of hip fracture in men 65 years or older after stroke. *Arch Intern Med* 165: 1743-1748, 2005.
24. Kurland ES, Cosman F, McMahon DJ, et al: Parathyroid hormone as a therapy for idiopathic osteoporosis in men: effects on bone mineral density and bone markers. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3069-3076, 2000.
25. Gagnon C, Li V, Ebeling PR: Osteoporosis in men: its pathophysiology and the role of teriparatide in its treatment. *Clin Interv Aging* 3: 635-645, 2008.
26. Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, et al: The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med* 349: 1216-1226, 2003.

Male osteoporosis

Seijiro Mori

Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

35-2 Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan

As compared with postmenopausal osteoporosis, male osteoporosis is not common: approximately one third of the female osteoporosis in frequency, but is an increasingly recognized problem with associated fracture morbidity and mortality. As opposed to postmenopausal women, reduced bone formation is the predominant mechanism of age-related bone loss in men. Although both serum free testosterone and free estradiol levels decline with age in men, it has been proved that estrogen plays an important role in maintaining bone mass in men. For the most common osteoporosis therapies (bisphosphonates and PTH) the effects in men appear very similar to those in women.

Keywords: osteoporosis, fracture, estrogen, testosterone

【トピックス】日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者

癌抑制・細胞老化因子ARFが引き起こす血管新生抑制及び疾患との関わり

川岸 裕幸¹⁾、丸山 光生¹⁾、高木 正稔²⁾、杉本 昌隆¹⁾

¹⁾ 国立長寿医療研究センター研究所 老化機構研究部 ²⁾ 東京医科歯科大学 発生発達病態学

1. はじめに

哺乳動物の体細胞は試験管内で培養すると、ある一定回数の分裂を繰り返した後に細胞老化と呼ばれる恒久的な増殖停止状態に陥る[1]。細胞老化を起こすまでの期間(分裂寿命)はドナーとなる生物種の寿命と強い相関を示すことから、個体の寿命を規定する一因子であると考えられてきた。細胞老化は細胞内外からのストレスによって特異的な細胞周期のチェックポイント機構が活性化された結果引き起こされる現象である。このようなチェックポイントではp53を含む複数の癌抑制タンパク質が作用しており、実際に細胞老化が生体において極めて重要な癌に対する防御機構として機能していることが知られている。

p19^{ARF}(ヒトではp14^{ARF})はp53の上流因子として機能する癌抑制タンパク質である。ARFノックアウト(KO)マウスは早期に癌が多発し、その繊維芽細胞は分裂寿命を持たず無限に増殖する[2]。p19^{ARF}はp53の抑制因子であるユビキチンリガーゼMdm2に結合してその活性を阻害することにより、p53タンパク質を活性化する[3]。しかしながら近年、ARFの癌抑制機能が単純にp53だけに依存しないことが示されている[4]。

本稿では我々が発見したp19^{ARF}がp53非依存的に血管形成因子VEGFA(vascular endothelial growth factor A)のmRNA翻訳を負に制御すること、また生体内においてVEGFA依存的な血管新生を抑制するという知見について紹介する[5]。

2. ARFタンパク質によるVEGFAの発現抑制

p19^{ARF}による癌関連因子の発現に対する影響を調査したところ、レトロウイルスを用いてp19^{ARF}を発現させたマウス繊維芽細胞ではVEGFAタンパク質の発現が低下していることを発見した(図1A)。しかし図1Bに示すように、VEGFA mRNAの発現はp19^{ARF}による影響を受けなかった。従ってp19^{ARF}はVEGFAの発現を転写後調節により制御していることが考えられた。そこでp19^{ARF}がVEGFA mRNAの翻訳に影響を与えるかについて調べるために、p19^{ARF}発現細胞および非発現細胞からポリソーム/非ポリソーム画分をショ糖密度勾配法により調製し、VEGFA mRNAの局在をノーザンブロットにより解析し

た。p19^{ARF}非発現細胞では殆どのVEGFA mRNAはポリソーム画分に見られ、VEGFA mRNAは積極的に翻訳されていることが示された(図1C)。これに対しp19^{ARF}発現細胞では大部分のVEGFA mRNAは非ポリソーム画分に局在していることから、VEGFA mRNAの翻訳が特異的にp19^{ARF}によって抑制されることが示された。これらの現象は同様にARF/p53 KOマウス繊維芽細胞を用いた実験系でも見られることから、p19^{ARF}の持つp53非依存的機能の一つであることが示唆された。

3. ARFタンパク質とmRNAの翻訳抑制

VEGFA mRNAは、5'-UTR(untranslated region: 非翻訳領域)に存在するIRES(internal ribosome entry site)によって翻訳制御されていることが知られている[6]。そこでp19^{ARF}によるVEGFAの翻訳抑制にIRESが関与するかを調べるために、ルシフェラーゼを用いたVEGFA-IRESレポーターアッセイを行った。その結果、p19^{ARF}はVEGFAのIRES活性を顕著に抑制することを見出した(図2)。従ってp19^{ARF}によるVEGFAの発現抑制は、少なくとも一部はIRES活性の調節を介していることが示唆された。

4. 腫瘍組織におけるARFによる血管形成阻害

VEGFAは血管形成において重要な役割を持つ因子であり、血管形成は腫瘍の発達に重要な現象である。そこでp19^{ARF}によるVEGFAの抑制が、生体における腫瘍内の血管形成に及ぼす影響について調べた。Ras(V12)により形質転換したp53/ARF KOマウス繊維芽細胞にp19^{ARF}を発現させたものとさせてないものをヌードマウスに移植し、移植腫瘍組織内の血管形成について血管内皮細胞マーカーであるCD31染色により評価を行った。図3Aに示したとおり、p19^{ARF}発現細胞を移植した群では非発現細胞を移植した群と比べ、有意に腫瘍組織内の血管密度が低かった。この血管形成の阻害は外来性VEGFAを発現することで見られなくなることから、p19^{ARF}はVEGFA依存的に血管形成を阻害することが示唆された。

ヒトの癌においても、遺伝子の変異やサイレンシングによりARFの失活が見られる。そこでヒトの腫瘍組織(colon carcinoma)においてもARFによる血管形成の阻害が見られるかを確認するために、p14^{ARF}の発現と血管密度の関連について調べた。その結果、p14^{ARF}の発現が見られない腫瘍組織では血管密度が高い傾向にあることが示され、ARFによるVEGFA抑制機構がヒトにおいても同様に保存されていることが示唆された(図3B)。

連絡先：〒474-8522

愛知県大府市森岡町源吾35

Tel : 0562-46-2311 内線5115

Fax : 0562-46-8461

Email : msugimot@ncgg.go.jp, kawa13@ncgg.go.jp

腫瘍組織内では酸素や栄養を供給するために血管が発達し、これが腫瘍の発育や転移を促すことから、ARFは少なくともVEGFA発現抑制を介して腫瘍内血管形成を阻害し、非細胞自立的な癌抑制機能を持つことが考えられる。

5. おわりに

今回我々はARFがp53非依存的にVEGFAの発現を翻訳レベルで抑制し、その機能が生体内においては血管形成の阻害を引き起こすことを示した。詳細な分子メカニズムに関しては不明であるが、細胞内でARFがMdm2以外にも複数のタンパク質と相互作用することが報告されていることから[4,7]、これら新規経路を介してVEGFAの発現抑制を行っていると考えられる。我々の実験ではARFの癌抑制因子としての面を主に解析したが、癌以外の生命現象においてもこの制御機構が役割を持つことが考えられる。

野生型マウスでは発生過程において、眼球組織内でARFによるPDGF受容体などの血管形成因子の発現抑制により血管の退縮が起こるが、ARF KOマウスでは血管の退縮が正常に起こらないために盲目になる[8]。我々が今回得た知見から考えて、VEGFAの転写後発現制御もこの現象に関与している可能性がある。更に我々が行った実験から、p19^{ARF}の老齢個体組織での発現上昇が確認されている(未発表データ)。加齢は虚血性血管疾患のリスクファクターとなるが、この原因の一つとして老化組織では虚血部位においてVEGFAの発現が低下していることが報告されており[9]、造血系や内皮細胞でのVEGFAの発現低下が加齢に伴い腎機能を悪化させるといった報告もされている[10]。もしこれらの現象が、老化組織で発現が亢進したARFによるVEGFA等の発現抑制によるものであるとすれば、それはARFの持つ細胞老化因子としての機能が個体の老化や老齢疾患に関与しているということなのかもしれない。今後の細胞老化研究では個体老化との相互関係を調査することが重要であり、これらを解析することにより個体老化の機構解明へと繋がることを期待される。

追記 学会発表した研究成果は現在論文を作成しているため、編集部の手承を得て異なる内容を掲載させて頂きました。

Reference List

- Hayflick, L. and Moorhead, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp.Cell Res.*, 25: 585-621, 1961.
- Kamijo, T., Zindy, F., Roussel, M. F., Quelle, D. E., Downing, J. R., Ashmun, R. A., Grossveld, G., and Sherr, C. J. Tumor suppression

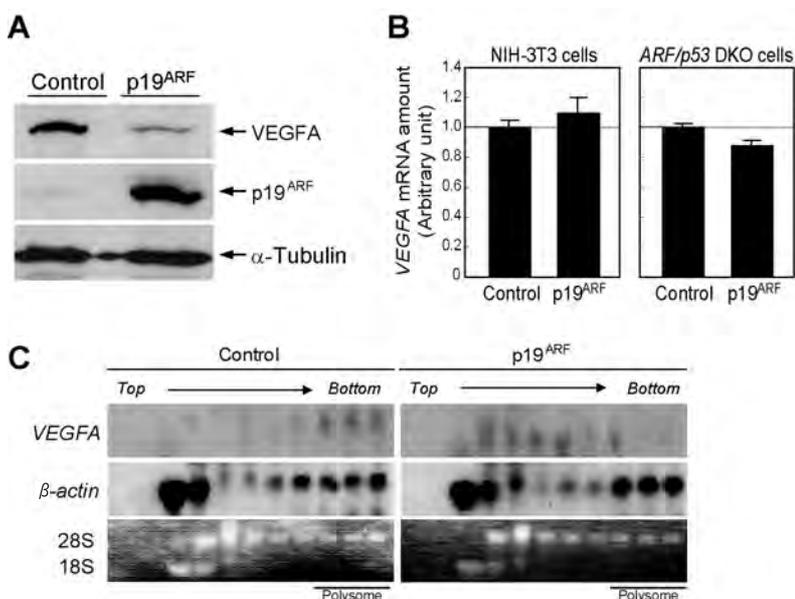


図1 p19^{ARF}によるVEGFAの発現抑制

(A) VEGFAタンパク質のウェスタンブロットティング。(B)リアルタイムPCR法によるトータル VEGFA mRNAの定量。(C)ノーザンブロットティングによるポリソーム/非ポリソーム画分における VEGFA mRNAの分布解析。

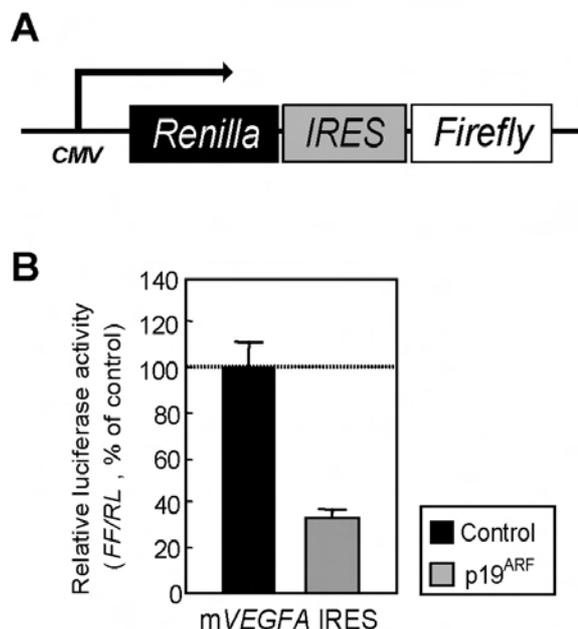


図2 VEGFA mRNAのIRES活性への影響

(A)アッセイに用いたIRESレポーターベクターの模式図。(B)レポーターアッセイによる VEGFA IRESの活性測定。FF: Fireflyルシフェラーゼの活性、RL: Renillaルシフェラーゼの活性。

at the mouse INK4a locus mediated by the alternative reading frame product p19ARF. *Cell*, 91: 649-659, 1997.

- Honda, R. and Yasuda, H. Association of p19(ARF) with Mdm2 inhibits ubiquitin ligase activity of Mdm2 for tumor suppressor p53. *EMBO J.*, 18: 22-27, 1999.
- Sherr, C. J. Divorcing ARF and p53: an unsettled case. *Nat.Rev. Cancer*, 6: 663-673, 2006.

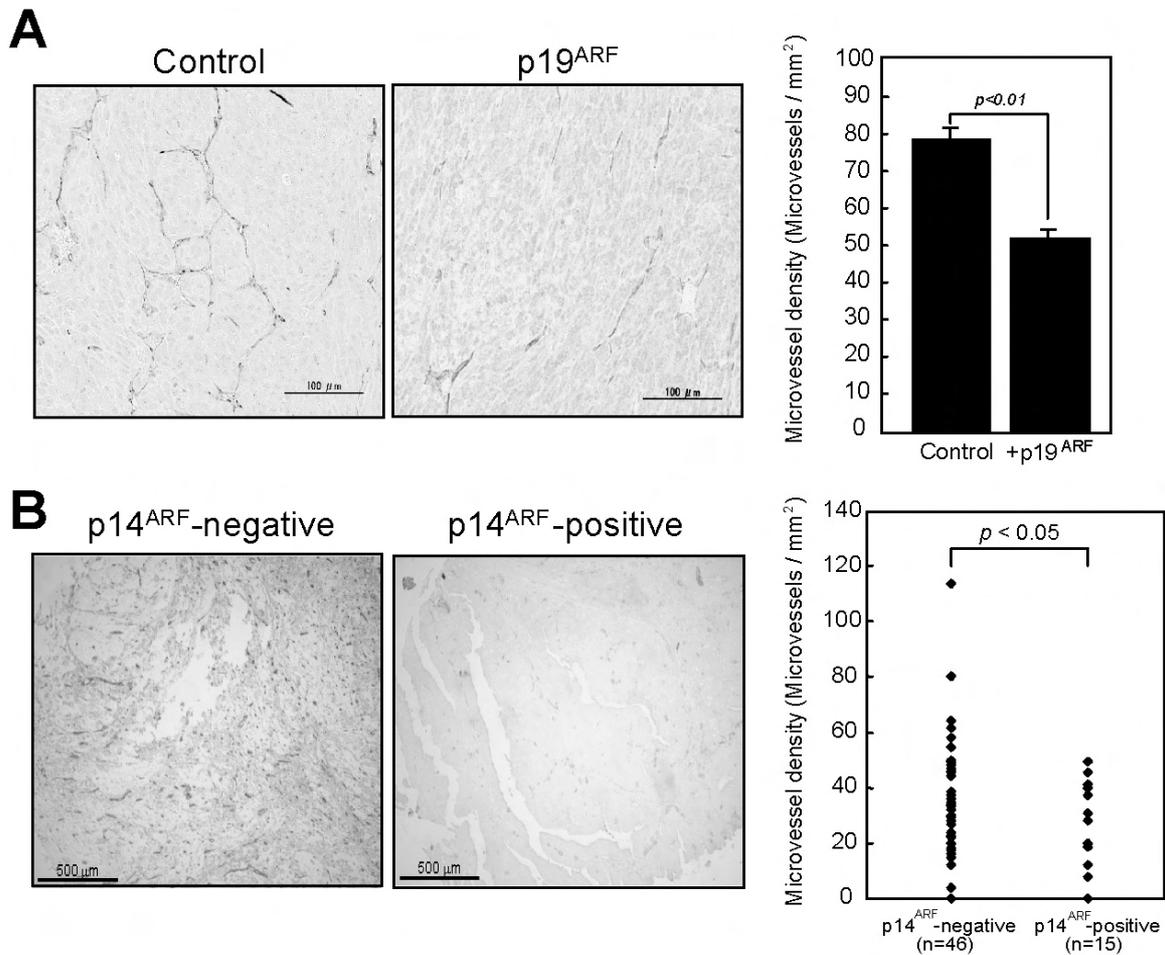


図3 腫瘍組織内におけるARFタンパク質による血管形成の抑制

(A)細胞移植後14日目における腫瘍組織切片を血管内皮細胞のマーカーであるCD-31で免疫染色した図。右のグラフは、血管密度を示したもの。

(B)ヒト大腸癌組織切片のCD-31免疫染色。右グラフはARFポジティブ/ネガティブの癌組織内の血管密度を示したもの。

5. Kawagishi, H., Nakamura, H., Maruyama, M., Mizutani, S., Sugimoto, K., Takagi, M., and Sugimoto, M. ARF suppresses tumor angiogenesis through translational control of VEGFA mRNA. *Cancer Res.*, 70: 4749-4758, 2010.
6. Akiri, G., Nahari, D., Finkelstein, Y., Le, S. Y., Elroy-Stein, O., and Levi, B. Z. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is mediated by internal initiation of translation and alternative initiation of transcription. *Oncogene*, 17: 227-236, 1998.
7. Chen D., Shan J., Zhu, W. G., Qin, J., and Gu, W. Transcription-independent ARF regulation in oncogenic stress-mediated p53 responses. *Nature*, 464: 624-627, 2010.
8. Silva, R. L., Thornton, J. D., Martin, A. C., Rehg, J. E., Bertwistle, D., Zindy, F., and Skapek, S. X. Arf-dependent regulation of Pdgf signaling in perivascular cells in the developing mouse eye. *EMBO J.*, 24: 2803-2814, 2005.
9. Rivard, A., Fabre, J. E., Silver, M., Chen, D., Murohara, T., Kearney, M., Magner, M., Asahara, T., and Isner, J. M. Age-dependent impairment of angiogenesis. *Circulation*, 99: 111-120, 1999.
10. Yamaji, M., Bielby, H., Licence, D., Cheng, C. W., Cook, E., Smith, S. K., Print, C. G., and Charnock-Jones, D. S. VEGF-A Loss in the Haematopoietic and Endothelial Lineage Exacerbates Age-Induced Renal Changes. *Microvasc.Res.*, 2010.

【トピックス】日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者

マウス老化アミロイドーシスにおける熱ストレス反応の役割；

HSF1ノックアウトマウスを用いた解析

銭 金澤¹、弘瀬 雅教²、王 耀勇¹、張 倍茹¹、付 笑影¹、澤下 仁子¹、
張 鵬亮¹、友澤 寛³、森 政之¹、中井 彰⁴、樋口 京一^{1,3}

¹ 信州大学大学院医学系研究科加齢生物学分野、² 信州大学大学院医学系研究科分子薬理学講座、

³ 信州大学ヒト環境科学研究支援センター動物実験部門、⁴ 山口大学大学院医学系研究科医化学分野

1. はじめに

マウス老化 (AApoAII) アミロイドーシスでは、apolipoprotein A-II (apoA-II) 由来アミロイド線維AApoAIIが全身性に沈着する[1,2]。C型apoA-II (*Apoa2^c*) を持つSAMP1やR1.P1-*Apoa2^c*系統は、AApoAIIアミロイドーシスのモデルマウスである[3,4,5]。タンパク質のミスフォールディングが原因である疾患の発症や治療には熱ショックタンパク質 (Heat shock proteins: Hsps) 等のシャペロン分子が関与すると考えられる[6,7,8]。熱ショック転写因子 (HSF1) は加齢により活性が減少し、Caloric RestrictionやSirt1が発現を促進する事が報告されており、老化と深く関与する事が知られている[9]。

2. *Hsf1* 欠損マウスでのHspsの発現

HSF1は、高温、放射線、重金属や異常タンパク質の蓄積などのストレスによるHspの発現誘導を制御する主要な転写因子である。Hsps は分子シャペロンとして機能し、新生タンパク質の折畳み、変性タンパク質の再生および分解などを手助けし、ストレスなどによるダメージから生体を防護するように働く内因性の防御因子の1つであると考えられている。プリオン病などのタンパク質のミスフォールディングが原因である疾患において、Hspsが重要な役割を持つことが指摘されてきた[8]。さらに、活性型HSF1が異常なポリグルタミンによって蛋白質の凝集を抑制することが示唆された[10]。*Hsf1*欠損マウスでは種々のストレスによるHspsの誘導が見られないことが示されている[11,12]。

我々は、*Hsf1*ノックアウトマウス (*Hsf1^{-/-}*) をR1.P1-*Apoa2^c*マウスと戻し交配し、*Apoa2^c*アリルを持つ*Hsf1^{-/-}*マウスを作成した。R1.P1-*Apoa2^c*マウスの肝臓より分取した1 μgのAApoAIIアミロイド線維を、2ヶ月齢の*Hsf1^{-/-}*及び*Hsf1^{+/+}* (Wild type) 雌マウスの尾静

脈に投与し、アミロイドーシスを誘発した。AApoAII線維投与2ヶ月後に、*Hsf1^{+/+}*マウスではアミロイド沈着に伴い、心臓でのhsp27、hsp40、hsp70の発現が増加したが、*Hsf1^{-/-}*マウスでは、増加しなかったが、(図1)。これらの実験結果より、*Hsf1^{-/-}*マウスの心臓では、アミロイドが沈着しても、熱ショック蛋白質が誘発されないことが明らかになった。

3. *Hsf1* 欠損マウスでのアミロイド沈着程度

AApoAIIアミロイド線維投与2ヶ月後に、*Hsf1^{-/-}*マウスも*Hsf1^{+/+}*マウスも全身にアミロイド線維が沈着したが、沈着程度は*Hsf1^{-/-}*マウスの方が有意に高いことを示した。特に、*Hsf1^{-/-}*マウスの心臓では、全てのマウスでアミロイドの沈着が観察され、沈着程度が高いことが明らかになった。同様に線維投与4ヶ月後の*Hsf1^{-/-}*マウスの心臓でも、AApoAIIアミロイド線維沈着が多いことが示唆された (図2)。以上の結果から、*Hsf1^{-/-}*マウスでは特に心臓でのAApoAIIアミロイド沈着が促進されていることが明らかになった。

4. アミロイド沈着した*Hsf1* 欠損マウス心臓でのα-actinの発現量

α-actinは、筋原線維を構成する主要なタンパク質であり、筋収縮を起こさせることが知られている[13, 14]。線維投与4ヶ月後の*Hsf1^{+/+}*マウスでは、アミロイド沈着に伴い心臓でのα-actin量が減少したが、*Hsf1^{-/-}*マウスでは、アミロイド沈着の重篤化により、α-actin量がさらに、減少していた (図3)。この結果より*Hsf1^{-/-}*マウスでは、重度のアミロイド沈着により、心筋収縮能の低下が示唆された。

5. アミロイド沈着による心機能の解析

アミロイドーシス誘発4ヶ月後に、心エコーで心機能を観察した。その結果、*Hsf1^{-/-}*マウスでは、重篤なアミロイド沈着により、心室中隔が*Hsf1^{+/+}*マウスと比較して、有意に厚くなっていた (0.95 ± 0.08 vs. 0.75 ± 0.04 %, p < 0.01、表1)。左室のFS%では、*Hsf1^{-/-}*マウスの方が有意な低下も認められた(32.5 ± 2.8 vs. 47.5 ± 1.0 %, p < 0.001、表1)。以上のことから*Hsf1^{-/-}*マウスは重度なアミロイド沈着により左室の拡張不全が起

連絡先：樋口 京一

〒390-8621 松本市旭3-1-1

信州大学大学院医学系研究科加齢適応医科学系
加齢生物学分野

Tel: 81-263-37-2691

Fax: 81-263-37-3428

e-mail: keiichih@shinshu-u.ac.jp

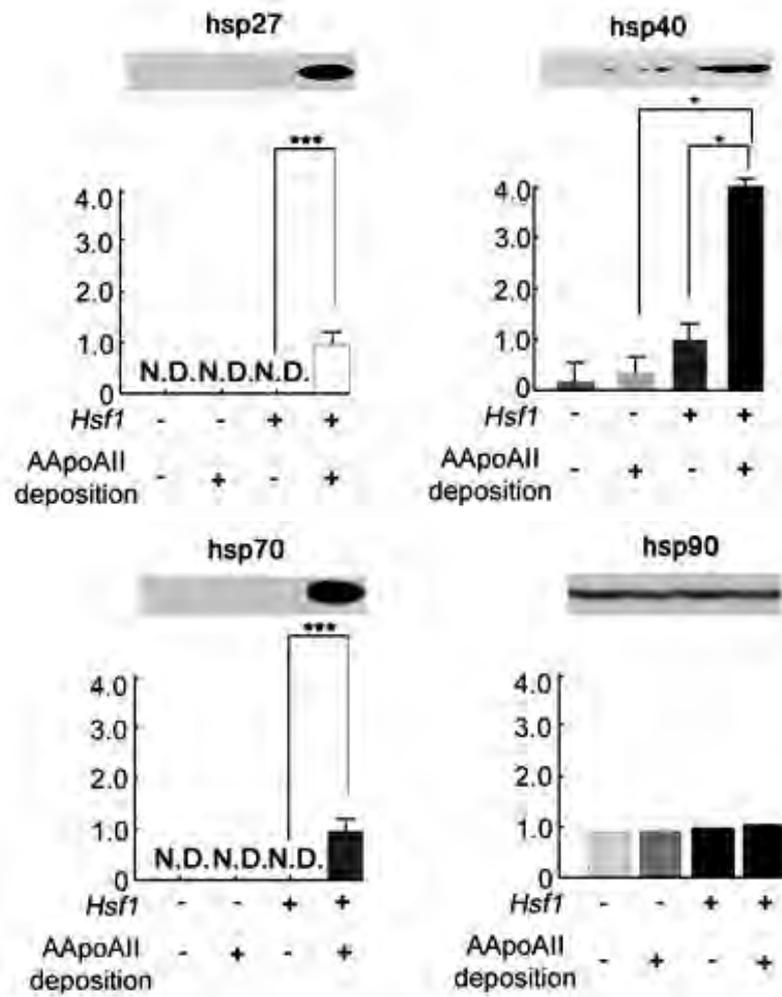


図1: *Hsf1* 欠損マウスでのHspsの発現。*Hsf1*^{-/-}マウスでは、心臓でのアミロイド沈着に伴うhsp27、hsp40、hsp70の発現増加がおこらなかった。

こっていた (図4)。さらに、*Hsf1*^{-/-}マウスでは、アミロイド線維が重度に沈着により、体重に対する心臓重量を有意に重く、心臓が肥大していた (表1)。

6. おわりに

本研究では、*Hsf1*^{-/-}マウスでは心臓でのHspsの発現が抑制されている事を明らかにし、このマウスを用いて、1) 細胞外へのAApoAIIアミロイド沈着は心臓でのHSF1を活性化し、Hspsの発現が誘導されるが、*Hsf1*^{-/-}マウスではこのような熱ストレス反応はほとんど起こらない。2) その結果として*Hsf1*^{-/-}マウスでは、心臓でのアミロイド線維の沈着程度が有意に高い。3) 重度なアミロイド沈着により*Hsf1*^{-/-}マウスでは心臓の心収縮機能の低下が認められる。

細胞外に沈着すると考えられているAApoAIIアミロイド沈着が、HSF1の発現と活性化を促進し、Hspsの増加を誘導する機構や、細胞内に存在すると考えられるHspsが細胞外のアミロイド沈着を抑制する機構は、まだ不明である。しかし同様な知見はトランスサイレチン(TTR)でも観察されている[15, 16]。アミロイド線維が従来考えられていた以上に能動的、流動的で、細胞内外での、ダ

イナミックな代謝の結果としてアミロイド沈着やその消失が起こっていることを示す結果であり、薬剤などによ

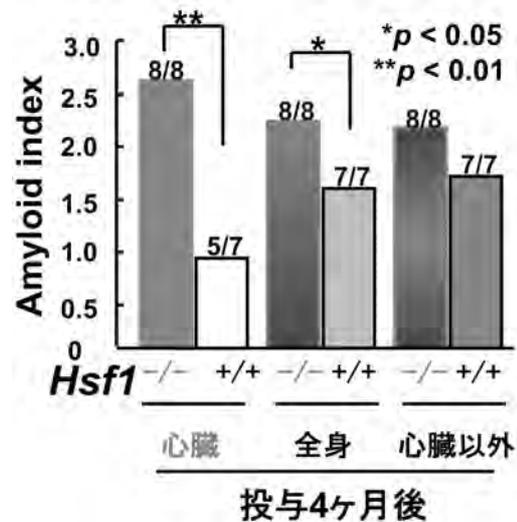


図2: *Hsf1* 欠損マウスでのアミロイド沈着程度。AApoAIIアミロイド線維投与2ヶ月及び4ヶ月後、*Hsf1*^{-/-}、*Hsf1*^{+/+}マウスでは全身にアミロイドが沈着した。しかし特に*Hsf1*^{-/-}マウスの心臓で沈着程度が高かった ($p < 0.01$)。

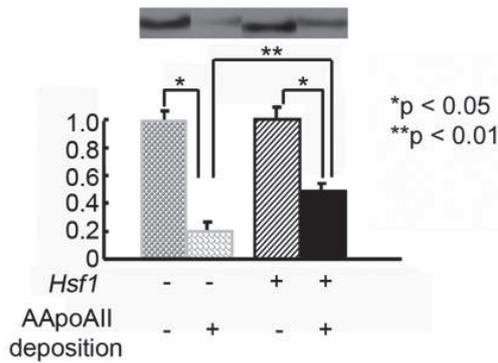


図3：アミロイド沈着した*Hsf1*欠損マウス心臓での *a*-actinの発現量。AApoAII線維投与4ヶ月後、*Hsf1*^{+/+}、*Hsf1*^{-/-}マウスでは心臓の *a*-actin の発現量が減少した。特に*Hsf1*^{-/-}マウスでは、重篤なアミロイド沈着により、*a*-actinの発現量は*Hsf1*^{+/+}マウスによりも有意に減少していた ($p < 0.01$)。

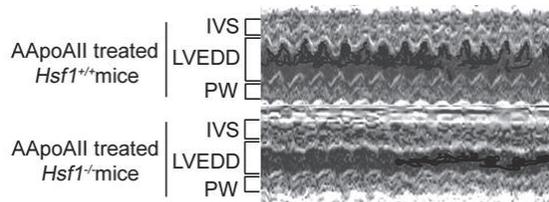


図4：アミロイド沈着による心機能の解析。AApoAII線維投与4ヶ月後に心エコーで心機能を解析した。*Hsf1*^{-/-}マウスでは、*Hsf1*^{+/+}マウスと比べ、心室中隔 (IVS)が有意に厚くなり、左室の拡張不全 (LVEDd) を示唆した。左室のFS%も低下していたことが認められた。

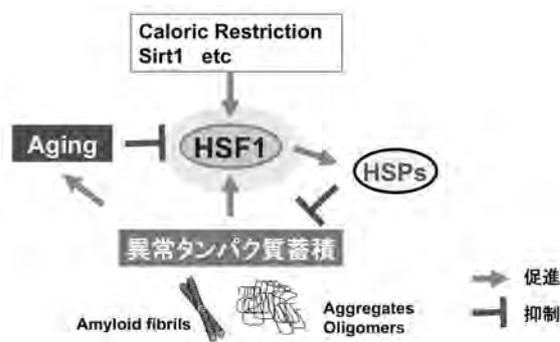


図5：HSF1を中心とした、「老化」、「Hsps」、「異常蛋白質沈着」の相互関係

るHSF1の発現促進がアミロイドーシス発症及び老化遅延に有効である。今後のアミロイドーシスの研究や治療法の開発におおきな示唆を与えると考えている。(図5)

謝辞

本研究は、「厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 アミロイドーシスに関する調査研究班」及び、文部科学省科学研究費「基盤B」により補助された。

引用文献

- Higuchi, K., Yonezu, T., Kogishi, K., et al. Purification and characterization of a senile amyloid-related antigenic substance (apoSAS_{SAM}) from mouse serum. ApoSAS_{SAM} is an apoA-II apolipoprotein of mouse high density lipoproteins. *J Biol Chem* 261:12834-12840, 1986.
- Yonezu, T., Higuchi, K., Tsunasawa, S., et al. High homology is present in the primary structures between murine senile amyloid protein (ASSAM) and human apolipoprotein A-II. *FEBS Lett.* 203:149-152, 1986.
- Higuchi K, Kitagawa K, Naiki H, et al. Polymorphism of apolipoprotein A-II (apoA-II) among inbred strains of mice. Relationship between the molecular type of apoA-II and mouse senile amyloidosis. *Biochem J* 279: 427-433, 1991.
- Kitagawa K, Wang J, Mastushita T, et al. Polymorphism of mouse apolipoprotein A-II: seven alleles found among 41 inbred strains of mice. *Amyloid* 10: 207-214, 2003.
- Higuchi K, Naiki H, Kitagawa K, et al. Apolipoprotein A-II gene and development of amyloidosis and senescence in a congenic strain of mice carrying amyloidogenic ApoA-II. *Lab Invest* 72: 75-82, 1995.
- Morimoto, R. I. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes Dev* 12: 3788-3796, 1998.
- Pirkkala, L., Nykanen, P. and Sistonen, L. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *FASEB J* 15: 1118-1131, 2001.
- Morimoto, R. I. Proteotoxic stress and induci-

	AApoAII	IVS (mm)	LVEDd (mm)	LVFS (%)
<i>Hsf1</i> ^{-/-} (n=8)	—	0.73 ± 0.05	2.8 ± 0.1	45 ± 2
<i>Hsf1</i> ^{-/-} (n=8)	+	0.95 ± 0.09 ^{&&###}	2.5 ± 0.1 ^{&&###}	32 ± 3 ^{&&&###}
<i>Hsf1</i> ^{+/+} (n=8)	—	0.75 ± 0.02	3.4 ± 0.2	49 ± 1
<i>Hsf1</i> ^{+/+} (n=7)	+	0.75 ± 0.04	3.3 ± 0.1	47 ± 1

[&] $p < 0.05$, ^{&&} $p < 0.01$, ^{&&&} $p < 0.001$, vs. AApoAIIを投与しなかった *Hsf1*^{-/-}マウス
^{###} $p < 0.001$, vs. AApoAIIを投与した *Hsf1*^{+/+}マウス

表1：AApoAII線維投与4ヶ月後に、*Hsf1*^{-/-}マウスでは、*Hsf1*^{+/+}マウスと比べ、心臓重量 (体重比)が有意に重かった ($p < 0.01$)。

- ble chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. *Genes Dev* 22: 1427-1438, 2008.
9. Stuart K, Calderwood, Ayesha Murshid, Thomas Prince. The Shock of Aging: Molecular Chaperones and the Heat Shock Response in Longevity and Aging - A Mini-Review. *Gerontology* 55:550-558, 2009.
 10. Fujimoto M, Takaki E, Hayashi T, et al. Active HSF1 significantly suppresses poly glutamine aggregate formation in cellular and mouse models. *J Biol Chem* 280:34908-34916, 2005.
 11. McMillan DR, Xiao XZ, Shao L et al. Targeted disruption of heat shock transcription factor 1 abolishes thermo-tolerance and protection against heat inducible apoptosis. *J Biol Chem* 273: 7523-7528, 1998.
 12. Tanaka K, Tsutsumi S, Arai Y, et al. Genetic Evidence for a Protective Role of Heat Shock Factor 1 against Irritant-Induced Gastric Lesions. *Mol Pharmacol* 71: 985-993, 2007.
 13. Davis J, Cribbs DH, Cotman CW, et al. Pathogenic amyloid β -protein induces apoptosis in cultured human cerebrovascular smooth muscle cells. *Amyloid: Int. J. Exp. Clin. Invest.* 6:157-164, 1999.
 14. Atencia R, Asumendi A, Garcia-Sanz M. Role of cytoskeleton in apoptosis. *Vitamins and Hormones* 58:267-297,2000
 15. Sofia Duque Santos, Rui Fernandes, Maria Joãõ Saraiva. The heat shock response modulates transthyretin deposition in the peripheral and autonomic nervous systems. *Neurobiol Aging* 31: 280-289, 2010.
 16. Teixeira PF, Cerca F, Santos SD, et al. Endoplasmic reticulum stress associated with extracellular aggregates. *J Biol Chem* 281: 21998-22003, 2006.

【トピックス】日本基礎老化学会第33回大会奨励賞受賞者

アドレノメデュリン-RAMP2システムによる血管恒常性維持と発生および老化の制御

小山 晃英、新藤 隆行

信州大学医学系研究科臓器発生制御医学講座

アドレノメデュリン (Adrenomedullin:AM) は、ヒト褐色細胞腫から発見された生理活性ペプチドである(1)。AMは、全身の組織に広く分布し、血管においては血管内皮細胞や、平滑筋細胞から産生される。AMは当初、血管拡張作用を有する血管作動性ペプチドとして注目されたが、その後の研究から、血管拡張作用や血圧調節作用以外にも、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、抗酸化作用など、多彩な生理活性を有することが明らかとなってきた。

我々は、AMノックアウト (AM^{-/-})マウスが、胎生期の血管の発達が未熟であり、血管の構造に異常を認め、胎生致死であることを報告した(2)。このことから、AMが血管の発生にも必須であることが明らかとなった。また、AMヘテロノックアウト (AM^{+/-}) マウスは、成体まで成長し、外見の変化はないが、血圧の上昇が認められた。AM^{+/-}マウスでは、心血管系に傷害を加えたときの心肥大、線維化、腎障害、動脈硬化が亢進しているのに対し、血管特異的AM過剰発現マウスでは、血圧は低下し、臓器障害や動脈硬化に抵抗性を示すことから、AMが臓器保護作用、抗動脈硬化作用を有することを報告してきた(3-7)。

一方、AMとそのファミリー因子であるcalcitonin receptor-like receptor(CLR)という7回膜貫通Gタンパク共役型受容体を共有している(8)。AMとCGRPに対するCLRの特異性は、1回膜貫通型タンパクである受容体活性調節タンパクRAMP(receptor-activity-modifying protein)により規定されていると考えられている。RAMPには、RAMP1,2,3の3種類が報告されている。CLR+RAMP1の組み合わせは主としてCGRPの受容体として作用し、CLR+RAMP2, CLR+RAMP3では、主としてAM受容体として機能する(Fig.1)。

AMは臓器保護作用、抗動脈硬化作用、抗酸化作用など、多彩な生理機能を有し、臨床応用が期待される一方で、ペプチドであるためその半減期は短く、治療薬としての応用には制限もある。そこで我々は、AMの受容体システムに着目した。AM^{-/-}マウスが致死となる直前の胎生期の血管の内皮細胞においては、受容体活性調節タンパクRAMPのサブアイソフォームの中でも、特に

RAMP2の発現が高いことから、我々は、血管におけるAMの機能は、主としてRAMP2により規定されている可能性を考えた。実際に、RAMP2単独ノックアウト(RAMP2^{-/-})マウスを作製してみると、RAMP2^{-/-}マウスはAM^{-/-}マウス同様、血管の発達不全、構造異常、著明な浮腫(Fig.2)や出血などにより、胎生致死であった(9)。RAMP2^{-/-}マウス胎児の血管における遺伝子発現の変化を検討すると、RAMP2が欠損することによって、代償性のAMの発現亢進が認められたが、CLRやその他のRAMP発現量に変化が認められず、RAMP2欠損によりAMの受容体機能が失われること、その他のRAMPサブアイソフォームとの間には機能的な相補性がなく、血管の正常な発生にはAM-RAMP2系が必要であることが示された。

本研究では、血管におけるRAMP2の病態生理学的意義を明らかにするために、Cre-lox Pシステムを用いて、RAMP2 floxマウスと、血管内皮細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現するvascular endothelial(VE)-cadherin Cre transgenic マウス(10)を交配することにより、血管内皮細胞特異的RAMP2ノックアウト (E-RAMP2^{-/-})マウスを新たに作製した。E-RAMP2^{-/-}マウスは、Conventional RAMP2^{-/-}マウスと比較して、胎生後期まで発生段階が進むものの、表現型が強いものでは、周産期に全身性の著明な浮腫とそれに伴う体重の増加が認められ、ほとんどの個体において、周産期の死亡が確認された(Fig.3)。E-RAMP2^{-/-}胎児の組織では、腸管の絨毛の毛細血管の構造異常、肺の間質の浮腫、電顕像では血管内皮細胞の空胞化や基底膜からの剥離などが認められた。これらの結果から、全身性の浮腫により、親マウスによる喰殺・育児放棄、授乳障害、腸管絨毛の浮腫による栄養吸収障害、肺の間質浮腫による呼吸不全など諸々の原因から、周産期に約95%が死亡すると考えられた。Conventional RAMP2^{-/-}マウスの胎生期の血管壁では、4型コラーゲンやアクチンの発現低下が認められ、電顕像から血管壁の菲薄化と層状構造の破綻が観察される。これらのことから、RAMP2^{-/-}マウスでは、血管を構成する細胞の分化自体は認められるものの、血管壁構造が脆弱なため、血液循環開始後、最終的に血管が破綻してしまうと考えられた。一方、E-RAMP2^{-/-}マウスでは、血管内皮細胞の異常が、表現型の主因であると考えられ、内皮細胞間の結合の脆弱性などにより、血管内成分が漏れ出て、全身性の浮腫になったと予想される。今回、E-RAMP2^{-/-}マウスも、多くが全身性の浮腫により致死となったことから、血管内皮細胞の異常が、

連絡先：〒390-8621

長野県松本市旭3丁目1番1号

TEL 0263-37-2578

FAX 0263-37-2564

Mail address : tkoyama82@hotmail.co.jp

RAMP2^{-/-} マウスの浮腫の表現型の主因となっていることが明らかとなった。

コンディショナルターゲティングによるE-RAMP2^{-/-} マウスでは、RAMP2欠損の浸透率は100%ではない。E-RAMP2^{-/-} マウスのうち、RAMP2遺伝子発現が一部残った約5%の個体では成体が得られた。成体のE-RAMP2^{-/-} マウスは、野生型マウスと比較して血圧が低下しており、胸部大動脈の病理所見では、収縮性が失われたように血管が拡張していた。さらに、6ヶ月齢のE-RAMP2^{-/-} マウスでは、senescence-

associated β -galactosidase (SA β -gal) 染色陽性所見が認められた。電顕による観察では、血管内皮細胞の基底膜からの剥離と、血管平滑筋層の断裂化が観察された (Fig.4)。大動脈のリング標本のin vitro培養を行うと、E-RAMP2^{-/-} マウスでは、標本からの血管新生が著明に低下している事が観察された。これらの結果から、E-RAMP2^{-/-} マウスでは、血管内皮細胞と平滑筋の構造異常を認め、血管の収縮性と、血管新生能が低下していることが示された。

血管壁での細胞活動を引き起こす要因として、血管壁に対する直接的な物理化学的あるいは代謝的ストレス、また各種の液性因子の働きが重要である。血管壁へのストレスに対応して、平滑筋細胞は可塑的にその形質を変える。E-RAMP2^{-/-} マウスでは、胎児期から内皮細胞が基底膜から剥離しており、様々なストレスが血管平滑筋層に大きく加わることにより、平滑筋細胞の形質変換を生じ、血管の収縮力低下と血圧低下を引き起こしているのではないかと推測された。

Conventional RAMP2ヘテロノックアウト (RAMP2^{+/-}) マウスは成体まで成長し、外見上の変化は認めないが、1年齢を超える加齢マウスでは、肺、腎臓、肝臓といった主要な臓器に血管炎様の細胞浸潤が認められる。また胸部大動脈では、SA β -gal染色陽性所見が認められる。さらに、血管において、炎症性接着因子であるICAM-1, VCAM-1は、8週齢の若年期から発現が亢進している。一方、E-RAMP2^{-/-} マウスでは、RAMP2^{+/-} マウスより、病変が早期に出現した (Fig.5)。血管炎様の所見は若年期でも認められ、6ヶ月齢程になると、より著明となった。浸潤細胞は、CD3やF4/80陽性細胞が多いことからTリンパ球やマクロファージの浸潤による慢性炎症が生じていることが示唆された。

次に、野生型とRAMP2^{+/-} マウスから、肝臓類洞内皮細胞を初代培養し、マクロファージの接着実験をおこなった。RAMP2^{+/-} マウス由来の内皮細胞では、野生型と比較して、マクロファージの接着性が亢進していた。また、内皮細胞の遺伝子発現を検討したところ、VCAM-1の発現亢進、eNOSの発現低下が認められた。前述の様に、E-RAMP2^{-/-} マウスでは、血管における内皮細胞

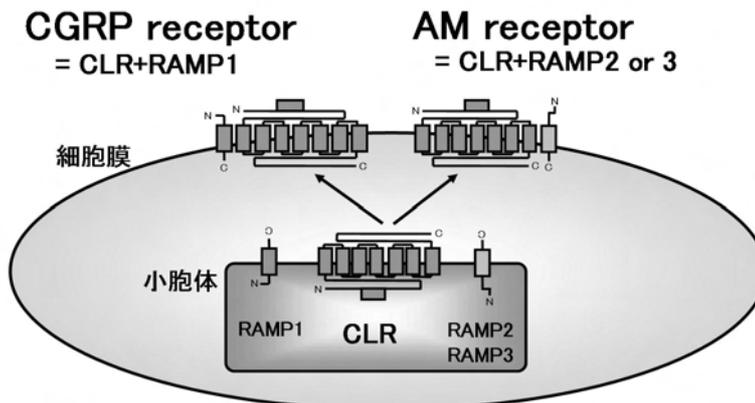


Fig.1 AMおよびCGRPの受容体システム

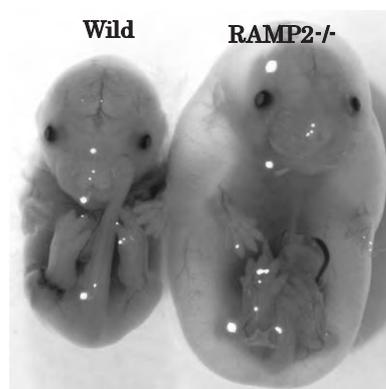


Fig.2 RAMP2ノックアウトマウス胎仔 (E14.5) の外観

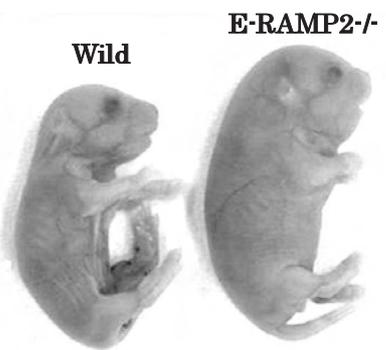


Fig.3 血管内皮細胞特異的RAMP2ノックアウトマウス (E-RAMP2^{-/-}) 胎仔 (E19.5) の外観

と平滑筋細胞の構造異常が確認される。ノックアウトマウスの血管壁では、血管構成細胞の構造異常に加え、血管内皮細胞の接着因子の発現亢進によって、炎症細胞の血管壁へのTransmigrationが起りやすい環境となっていることが推測された。

さらに、E-RAMP2^{-/-} マウスの肝臓においては、6ヶ月齢以上の一部のマウスで、肝硬変様の形態変化が認められた (Fig.6)。肝臓組織のSirius red染色による検討では、通常の肝硬変とは異なり、線維化は肝細胞側ではなく、血管の走行に沿って進行していることから、類洞内皮細胞の障害が、肝線維化のプライマリーな原因となっていることが予想された。その他、肝細胞のダメー

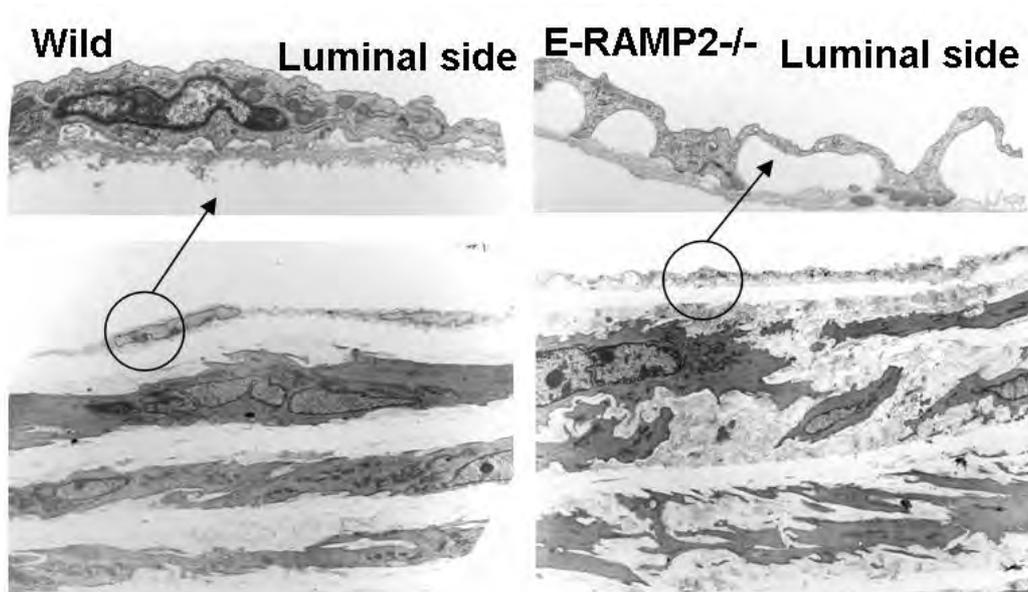


Fig.4 6ヶ月齢マウスの成体の血管壁の電顕像
E-RAMP2^{-/-}では、血管内皮細胞の基底膜からの剥離と血管平滑筋層の断裂化を認める。

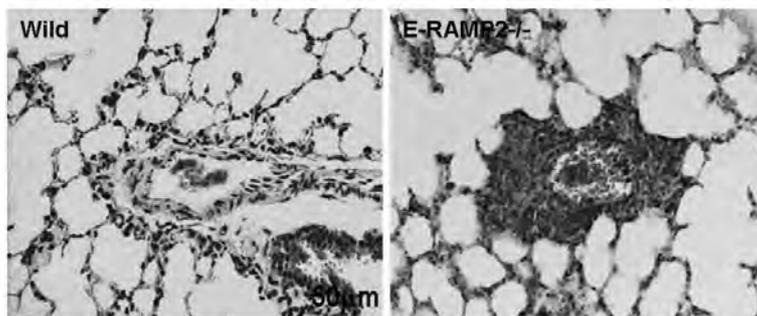
ジを示す肝細胞の空砲変性も認められた。

腎臓では、E-RAMP2^{-/-}マウスでは、水腎症と多発性嚢胞腎が確認された(Fig.7)。嚢胞の周囲には線維化が著明であった。糸球体も拡大しており、糸球体硬化症を伴っていると考えられた。電顕像からは、糸球体において、足突起の融合、基底膜の肥厚、内皮細胞と基底膜の部分的離開などが確認された。E-RAMP2^{-/-}マウスでは、膀胱の異常拡張も認められ、排尿障害の存在が疑われた。このため、水腎症については、下部尿路の通過障害によるバックフロー圧の上昇も要因の一つと考えられた。

AMは、強い抗酸化作用を有することが報告されている。E-RAMP2^{-/-}マウスにおける臓器障害の原因として、酸化ストレス亢進の可能性を考え、スーパーオキシドの産生を示すdihydroethidine(DHE)染色、不飽和脂肪酸の過酸化物である4-hydroxy-2-nonenal (4HNE)の免疫染色、NADPH oxidaseの細胞質型のサブユニットであるp67-phoxの免疫染色を行った。E-RAMP2^{-/-}マウスの肝臓では、斑状にDHE,p-67phox陽性所見を認め、中心静脈周囲に4HNE陽性所見を認めた。腎臓では、DHE,4HNE,p67-phoxともに尿細管に強い陽性所見が認められた。また腎臓では、NADPH-oxidaseのサブユニットであるp22-,p47-,p67-phoxの遺伝子発現が亢進していた。

最後に、酸化ストレスへの応答性におけるAM-

肺



肝臓

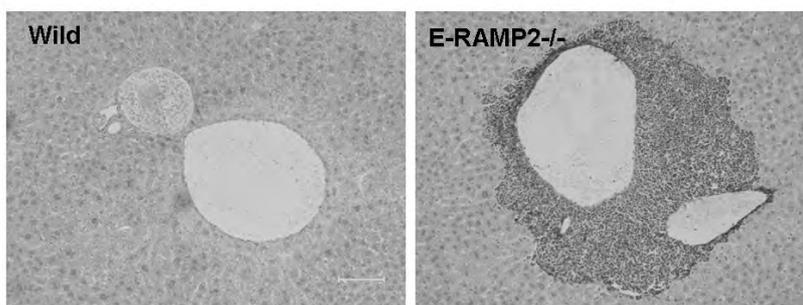


Fig.5 6ヶ月齢マウスの肺と肝臓の病理像

RAMP2系の意義を検討するため、ヒト臍帯静脈内皮細胞を細胞株化したEAhy926細胞に、RAMP2を安定過剰発現させた細胞を作製した(9)。premature senescenceを引き起こす過酸化水素負荷を加えたところ、RAMP2過剰発現細胞では、コントロールに比較して、SAβ-gal染色性が低下していた。

本研究により、AMの発生における血管新生作用が主として血管内皮細胞のRAMP2によって規定されていること、成体においてもAMによる血管保護作用、臓器保

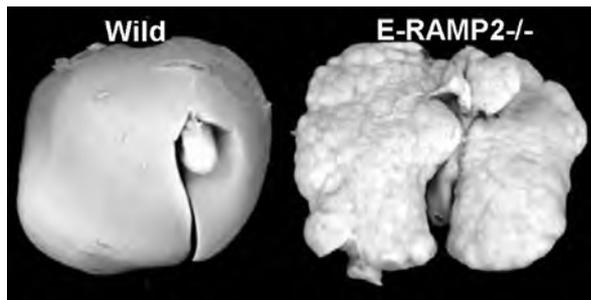


Fig.6 6ヶ月齢マウスの肝臓の外観

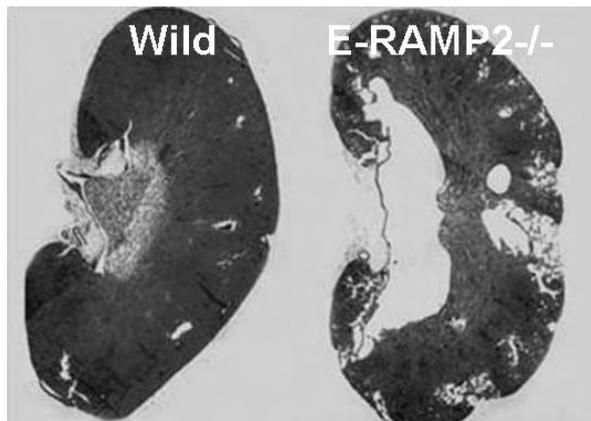


Fig.7 6ヶ月齢マウスの腎臓の断面像

護作用が血管内皮細胞のRAMP2によって制御されていることが示された。E-RAMP2^{-/-}では、血管内皮細胞のRAMP2欠損により、血管の恒常性破綻を生じ、全身の老化促進に繋がることが示唆された。高血圧、動脈硬化、脂質異常症、糖尿病といった血管の老化を促進する生活習慣病は、全身の老化に繋がることが示唆されている。AM-RAMP2システムの血管恒常性維持機構は、各臓器の保護と老化抑制の新しい治療標的となることが期待される。

文献

1. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T: Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 192:553-560., 1993
2. Shindo T, Kurihara Y, Nishimatsu H, Moriyama N, Kakoki M, Wang Y, Imai Y, Ebihara A, Kuwaki T, Ju KH, Minamino N, Kangawa K, Ishikawa T, Fukuda M, Akimoto Y, Kawakami H, Imai T, Morita H, Yazaki Y, Nagai R, Hirata Y, Kurihara H: Vascular abnormalities and elevated blood pressure in mice lacking adrenomedullin gene. *Circulation* 104:1964-1971, 2001
3. Shindo T, Kurihara H, Maemura K, Kurihara Y, Kuwaki T, Izumida T, Minamino N, Ju KH, Morita H, Oh-hashii Y, Kumada M, Kangawa

K, Nagai R, Yazaki Y: Hypotension and resistance to lipopolysaccharide-induced shock in transgenic mice overexpressing adrenomedullin in their vasculature. *Circulation* 101:2309-2316, 2000

4. Niu P, Shindo T, Iwata H, Imuro S, Takeda N, Zhang Y, Ebihara A, Suematsu Y, Kangawa K, Hirata Y, Nagai R: Protective effects of endogenous adrenomedullin on cardiac hypertrophy, fibrosis, and renal damage. *Circulation* 109:1789-1794, 2004
5. Niu P, Shindo T, Iwata H, Ebihara A, Suematsu Y, Zhang Y, Takeda N, Imuro S, Hirata Y, Nagai R: Accelerated cardiac hypertrophy and renal damage induced by angiotensin II in adrenomedullin knockout mice. *Hypertens Res* 26:731-736, 2003
6. Nishimatsu H, Hirata Y, Shindo T, Kurihara H, Kakoki M, Nagata D, Hayakawa H, Sato-naka H, Sata M, Tojo A, Suzuki E, Kangawa K, Matsuo H, Kitamura T, Nagai R: Role of endogenous adrenomedullin in the regulation of vascular tone and ischemic renal injury: studies on transgenic/knockout mice of adrenomedullin gene. *Circ Res* 90:657-663, 2002
7. Imai Y, Shindo T, Maemura K, Sata M, Saito Y, Kurihara Y, Akishita M, Osuga J, Ishibashi S, Tobe K, Morita H, Oh-hashii Y, Suzuki T, Maekawa H, Kangawa K, Minamino N, Yazaki Y, Nagai R, Kurihara H: Resistance to neointimal hyperplasia and fatty streak formation in mice with adrenomedullin overexpression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22:1310-1315, 2002
8. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, Solari R, Lee MG, Foord SM: RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* 393:333-339, 1998
9. Ichikawa-Shindo Y, Sakurai T, Kamiyoshi A, Kawate H, Inuma N, Yoshizawa T, Koyama T, Fukuchi J, Imuro S, Moriyama N, Kawakami H, Murata T, Kangawa K, Nagai R, Shindo T: The GPCR modulator protein RAMP2 is essential for angiogenesis and vascular integrity. *J Clin Invest* 118:29-39, 2008
10. Kogata N, Arai Y, Pearson JT, Hashimoto K, Hidaka K, Koyama T, Somekawa S, Nakaoka Y, Ogawa M, Adams RH, Okada M, Mochizuki N: Cardiac ischemia activates vascular endothelial cadherin promoter in both preexisting vascular cells and bone marrow cells involved in neovascularization. *Circ Res* 98:897-904, 2006

【学会報告】

日本基礎老化学会第33回大会を終わって

磯部 健一
名古屋大学

日本基礎老化学会の皆様、名古屋大学にお集まり頂いてありがとうございます。

学会での発表と細胞老化をめぐる世界のAging researchの動向とを重ねあわせながらまとめてみましたので、今後の参考にさせていただけたら幸いです。

私が老化研究をはじめた時、私のなかでの素朴な疑問は以下のものでした。これは一般の人の疑問でもありますから老化研究がこの疑問にどこまで答えているかを時々まとめておくことは重要だと思います。

- 1) なぜヒトを含む生物には寿命があるのか。その寿命が生物によっておおむね決まっているが、それを決定づける要因はなにか。
- 2) ヒトは年をとると、白髪、老眼、しわといった外観上の変化や脳機能低下、免疫機能低下といった臓器の機能低下をきたすが、それを説明する統一的な原理はなにか。これらの疑問に老化研究は答えようと努力してきました。当然ながら分子生物学の方法論がこの分野にも適用され、特定の遺伝子が寿命に関係することを、酵母、線虫を中心とした研究が明らかにしてきたことは皆さんのよく知るところです。

出芽酵母では Sir2の過剰発現やmTORの変異で寿命が伸びます。線虫ではdaf-2 (IGF-1R)の変異で寿命が伸びます。そしてその下流遺伝子age-1 (PI-3K)の変異は寿命を延ばし、daf-16 (FOXO)の変異は寿命を低下させます。これらの研究成果を受けてSir2, mTOR, FOXOといった遺伝子の哺乳類における働きが遺伝子欠損マウスを使用した研究で競争になっています。本学会では本山研究室(長寿研)からマウスにおけるFOXO蛋白の研究が紹介されました(W2D01)。酸化ストレスによってFOXO蛋白が脱リン酸化をうけ核移行し、ターゲット遺伝子発現を上昇させるといふものです。FOXOは酸化ストレスといった寿命を短くする刺激に対し、防御的に働くこととなります。本田(老人研)は線虫の系でDAF-16の下流にトレハロース合成酵素が誘導され、トレハロースができることで、線虫の寿命が伸びること、トレハロースは熱ストレス耐性をあげ、ポリグルタミン凝集を低下させることを示しました(S2A-01)。

Hayflickがヒトの細胞を培養すると、約50分裂で分裂を停止することを示し、細胞老化と呼びました(1965 Exp. Cell Res)。彼の論文はなかなか通らなかったと聞きますが、その後も細胞老化は個体老化に関係ないとする意見が日本基礎老化学会の皆さんも含め数多く存在します。私も未だにこの現象の本当の理解を追い求めています。少なくとも、培養細胞はテロメラーゼが働か

ない状態では分裂によって染色体末端のテロメアが短くなり、構造が維持できなくなって細胞に構造的なストレスがかかります。その結果p53のリン酸化からp21の上昇、p16 (INKa) からRBの上昇と行った細胞周期停止遺伝子の発現上昇が起きます。これは培養細胞を使った多くの分野で見られる現象と考えられるようになりました。個体の老化と関係するしないに関わらず、老化研究から生まれた成果として、基礎老化学会で今後も扱うべきテーマの1つと考えます。この細胞老化に関連し、p53を中心に2つのシンポジウム演題を取り上げました。杉本(S1A-03;長寿研)は彼の総説をみてください(本誌19-21ページ参照)。前原(S1A-04)は培養細胞の老化により、ヘテロクロマチン構造があらわれ、中心体蛋白CENP-Aが低下し、p53を誘導し細胞老化を示すことを明らかにしました。細胞が老化すると、テロメアばかりでなく、中心体にも変化が現れ、細胞老化に重要なp53-p21系を誘導することは注目すべき発見だと思います。それでは私の最初の疑問(なぜヒトを含む生物には寿命があるのか。老化による臓器の機能低下をきたす理由は?)を細胞老化とりわけp53で説明できるのでしょうか?そのためには個体の研究が必要になります。ご存知のようにp53遺伝子欠損マウスは癌が発生します。ではp53遺伝子欠損マウスは癌が発生しなければ理論上は長生きするのでしょうか?また、p53欠損は老化による機能低下を抑制するのでしょうか?わたしたちは1999年p53欠損マウスのT細胞は早期老化を示すことを示しました。

(Accelerated development and aging of the immune system in p53-deficient mice. Ohkusu-Tsukada K, Tsukada T, Isobe K. J Immunol. 1999.)。すなわち、p53はanti-agingに働くのです。その後p53+/m (mutant)マウスが作製され、p53を過剰発現すると癌はできにくいですが、老化は促進されるという論文が出て私たちのストーリーは間違いであったかと自問することが続きました。ところがこのマウスのp53は正常なストレス応答ができず、弱いp53活性状態がつづいているだけとわかりました。Serranoのグループはp53/p19ARFのスーパーマウス、すなわちp53過剰発現するマウスは老化を抑制することを最近示しました(Matheu; Nature 2007)。その後次々に、細胞老化に関連する遺伝子を過剰発現するマウスがつくられ、老化を抑制することが明らかになってきました。すなわち細胞老化で発現する蛋白は老化を抑制するために上昇してくる老化防御遺伝子であったのです(Lawrence A. Donehower Cold Spring Harb Perspect Bio 2009)。そ

れではp53はどのように個体老化をおさえるのでしょうか。私はp53は幹細胞が分化せずに幹細胞のままどまるために必要な分子であると考えています。もちろん一部は分化して筋肉細胞になったり、成熟T細胞になったりしますが、未分化のまま留まることが、あらたな組織細胞の供給に必要なんでしょう。だからp53欠損マウスでは幹細胞がどんどん分化して、供給できない状態すなわち老化が早く訪れるのだと思います。そこで老化と再生の問題が哺乳類の老化を考えると、避けて通れない話題になります。老化マウスでは幹細胞が減り供給できない状態になっています。でもそれだけではなく、幹細胞をナーシングする細胞の存在が重要です。私(S1B-01)や壺井(S1B-03)はB細胞の発生でそのことを述べました。老化すると、幹細胞をナーシングする細胞も老化してきます。私のグループは老化マウスからiPS細胞を作製し、それと胎児繊維芽細胞から作製したiPS細胞の様々な組織への分化を発表しました(S1B-01, W2A-01,02, 04, W2B-06)このことは後の号で詳しく述べます。三井(S1B-02)はヒトの細胞からiPS細胞を作製しました。これとテロメラーゼ遺伝子導入することで細胞を若返らせることに成功しています。自分のiPS細胞をつくって老化を人工的に戻すことが可能でしょうか？

ここで、もう一度最初の疑問、“なぜヒトを含む生物には寿命があるのか”を考えてみましょう。高木は有性生殖が寿命をもった始まりであることをゾウリムシのオートガミーの研究から示そうとしました(W1D-01)。“寿命が生物によっておおむね決まっているが、それを決定づける要因はなにか”の疑問に須田(W1D-02)は数学的に答えようと努力しています。この分野の研究者が少ないからなかなか討論になりませんが、寿命曲線が違う種で著しく似ていて、それが数式で表せるなら、種の老化を決定するのはその数式に含まれる係数によるでしょう。

老化による機能低下の話に移ります。すなわち2番目の疑問“ヒトは年をとると、白髪、老眼、しわといった外観上の変化や脳機能低下、免疫機能低下といった臓器の機能低下をきたすが、それを説明する統一的な原理はなにか”に対する答えを求めて学会を振り返ります。酸化

ストレスは組織の老化を進めることは多くの人が認めるところです。(佐々木 W2G-05, 三浦PB-01)。酸化ストレスは神経を障害し、脳機能の老化をきたします(福井W2G-04, 柳原PB-04)。柿澤(W2F-01)は小脳機能を低下させることを電気生理学的に明らかにしました。伊藤らのグループは酸化ストレスによる神経障害にセサミンが(W2G-01)、アレルギーに水素水が(W2G-02)有効であることを示しました。酸化ストレスは免疫老化(W1B-01)も誘導します。血管の老化も主として酸化ストレスによっておきます。NOは血管の老化に拮抗することが林らによって示されました(S2B-02)。さらに白内障に結びつく角膜の老化も酸化ストレスで発生します(大内PB-03)。それでは老化様変化を誘導するのは酸化ストレスだけでしょうか？。遠藤(W2F-02)は転写因子遺伝子変異マウスが長期記憶のスーパーマウスになることを示しました。脳の老化、認知症を克服する大きなヒントになるでしょう。でもこれだけではありません。D型アミノ酸が増えることが老化の原因になりうるのです。木野内はD-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ活性について(W1D-03)、大神(W1D-04)はD型アミノ酸が増えると聴力低下を招くというおもしろい結果を報告しました。老化によって産生が増えるアミロイド繊維も組織の老化を促進します。HSF-1 apolipoprotein A2はこれを阻害します(銭 W1C-01, W2C-01本誌23-25ページ参照)。

他にもユビキチン化タンパク質封入体が脳細胞を障害します(島田S2B-01)。このように老化をきたす原因は多彩ですが、やはり全体を説明する理論があると思います。

以上私の2つの疑問に対する答えを求めて本大会の発表を振り返りました。まだまだおもしろい発表がありました。特に若手奨励賞、代謝、脂肪の問題はここで論ずると大幅に紙面を割きますから割愛しました。最後に私の教室員、名古屋観光コンベンションビューローから派遣して頂いたボランティアの方々の献身的な働きに感謝いたします。また、大幸財団から寄附をいただきました。(文中敬称は略させていただきました)。



【随 筆】

老化研究事始め - 低カロリー効果, 日本人での検証は?

三井 洋司

徳島文理大学 香川薬学部

はじめに

カロリーー25%減の食事を続けると、健康人でも寿命を延長出来るかもしれません。少なくともメタボや癌等の成人病疾患へのリスクは減少して、健康寿命は延びるだろうと期待して、米国のNIAは有償ボランティアを募って、本格的な臨床実験をするプロジェクトを支援し始めたのです。

NIAの担当官とインタビューした私は、米国に多いコーカシアンとアジア人は食習慣や代謝特性がとても異なるので、同様なプロジェクトをアジア人対象に立ち上げて、検証する必要があるだろうと、共通認識に至りました。その研究プロジェクトを大学病院で効率よく動かすのに、日本では稀なコーディネーターの活躍や、管理栄養士チームの見事な働きを先回に紹介しました。

日本でこれを実施するにあたって配慮すべきクリティカルな重要ポイントは、他にも有りそうです。

第25話 有償ボランティアのリクルートに広報マン

ワシントン大学病院、ルイジアナ州立大学病院、タフツ大学病院で臨床試験を実施していますが、どこの病院でも、本臨床試験を2年間の最後まで、全うしてくれる人を選び出すのが、大変な仕事のように思えます。

そこに活躍するのが、こうしたボランティアを募集する専門の人です。言わば広報担当者です。募集案内のチラシ作り、大学内のホームページ掲載、新聞、ラジオ、テレビでの広告案内など、涙ぐましい努力をされていました。ルイジアナ州立大学病院では、まさにその職に有る本人が、私達に一部始終を大変な早口で、立て板に水のごとく、説明してくれたのですが、実に明快だったのにも、プロの技を見る思いでした。病院に広報マンが専属

でいて、対応するのです。

一般向けに放映するビデオの作成もその一部です。主幹研究者のEric Ravussin教授も出演して、写真のようにPRに協力しています。

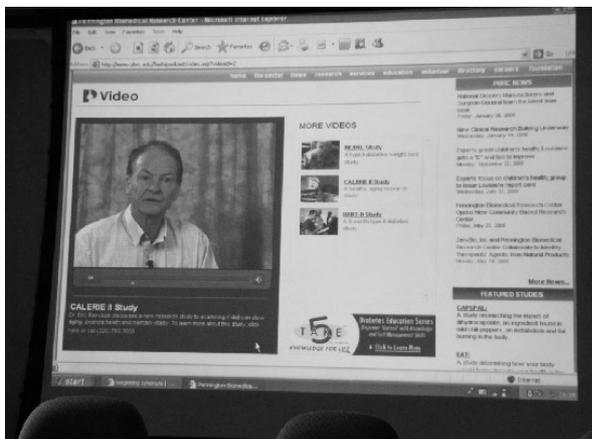
こうした募集に応じて、窓口には電話がかかってくるから、応募者が、募集条件と合致しているかどうかをここで最初にチェックします。年齢、疾病の有無、BMI値、動機などで合格すれば、次に面談をセットします。この面談に来られる候補者のうちから適任者を選抜して、実際にプロジェクトに参加する人は、NIAとの約束で、一施設につき、最終的に85人を確保する必要があります。一見、少ない数字に見えますが、その10倍の人を面接せざるを得ないと言う事です。90%の人は不適合と判断されるのが現状のようです。不適合者を省いて行く作業です。一体、何が問題なのでしょう。

第26話 実力が問われる臨床心理士

この面接において、又その後のフォローアップ作業において、主要な働きをするのは、臨床心理学者のようです。

面接において、応募の動機を述べるボランティア候補者も、其れが約50万円の報酬目当てと見破られれば、落とされます。女性が確実な避妊に消極的なら、不合格です。また、(近い未来の) パートナーが遠い職場に移りそうなケースは、やはり遠慮してもらいます。意志が弱く周囲の雰囲気でもうでもなりそうなタイプも敬遠されます。

つまり、今後2年間にわたる長期プロジェクトに落ちこぼれそうな状況や、性格の人を見分けて、ふるいにかけるのです。何しろ、途中リタイヤーが出るとその人の



ルイジアナ州立大学CALERIE研究へのボランティア募集に Ravussin教授



タフツ大学病院でのボランティア症例検討ミーティング

分は全てキャンセルで、データの取り直しです。当人だけでなく、大きな労力と経費を掛けた病院に取っても、大変な損失になるのですから、選考は慎重です。

ボストンにあるタフツ大学病院では、そうしてプロジェクトに正規に参加したボランティアについて、進行状況とその後を検討する症例検討ミーティングの場に招待されました。

7、8人での会議には、医師も看護師も栄養士もいますが、座長は臨床心理士でした。例えば、理論的な理想体重減少曲線からかなり外れた体重曲線を示している人のケースでは、これが当人の言うパーティが有ったときの過食のせいで、一時的な事か、性格と家族環境の変化による落ちこぼれか、議論されました。また、若い女性ボランティアで非常勤の職を辞めた直後のケースでは、婚約者が安定した職場に留まっていそうか、つまり、遠くへ引っ越す可能性も、情報交換されました。かなりプライベートな内容も話されるのです。

最後に質問は無いかと問われたので、私が手を上げたらびっくりされました。どうせ分かっていないさと思われるていたのかも知れません。正規参加者の中で親、兄弟が糖尿病になっている人のケースが報告されましたが、其れは適切な参加者か、将来に外れるとしたら、どのような健康状態になった時かを尋ねました。臨床心理士が顔をほころばせて答えるには、参加者当人が糖尿病だと正式に診断され、その治療が始まった時に外されると言う事でした。診断名が出るまでは、健康人

として対応されるようです。

途中で脱落する人もいますから、募集は絶えずやっています。募集時だけでなく、途中で問題になる人との対応にも、リーダーとして臨床心理学者が大いに活躍しているのです。ここらあたりは、プロジェクトの成否が掛かりますから、まさに彼らの腕の見せ所と言う訳です。

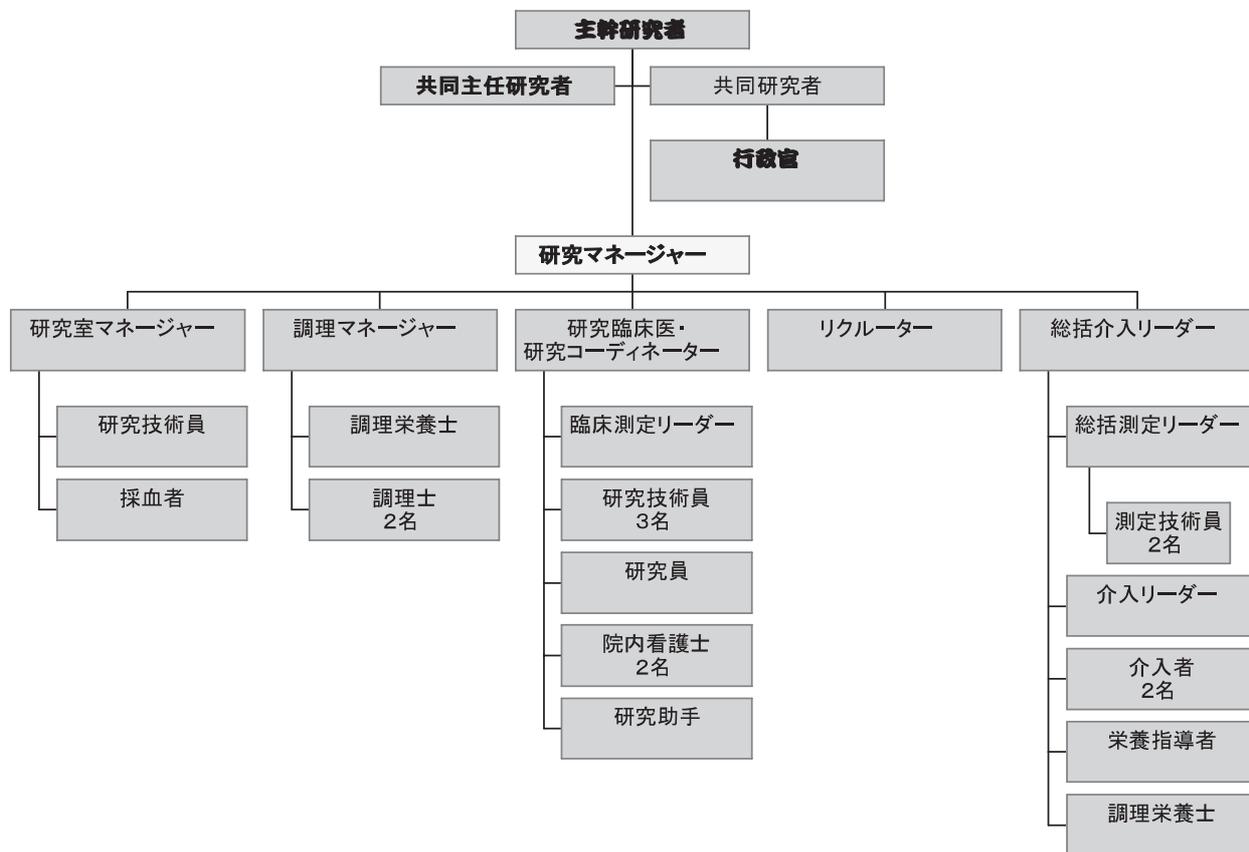
日本における臨床心理士は、専門家として医師をも指導するような状況は作られているのでしょうか。人材の育成が先決なののでしょうか。

第27話 日本人で検証できるか CALERIE研究

長い人類史の過程で 狩猟民族としてタンパク源を多く取っていた欧米人と 農耕民族として炭水化物源を多く取っていた我ら東南アジア人とは、繊維の消化に対応するのか、腸の長さもひどく違っているのです。インスリン制御やカロリー減への代謝応答が、大いに違っている事も推定出来ます。事実、欧米人であればほどの肥満が進展するのは、日本人で起こり易いインスリン感受性の低下が起こりにくい事を意味しているでしょう。また、低カロリーへの暴露（飢饉）にも、エネルギーの内部補充を脂肪分解に任せるか、タンパク分解に陥るかに、民族での違いが出てくるかもしれません。

NIA訪問前に抱いていたこうした私の疑念は、NIAでのCALERIE研究が、こうしたethnicな視点を全く欠落するものと知って以来、一層、増幅されたのです。NIAの担当官、Romashkan 博士はそれに対して、大いに賛

大学病院でのCALERIE研究の体制



同じ、受け皿が日本に有れば、NIAがグラントを出しても良いと、述べているのです。

果たして日本に、受け皿となる体制が出来そうなのでしょうか。参考に、ルイジアナ州立大学の研究体制を図示します。

日本の現状では、主幹研究者がここに見る殆どの役割をこなす為に押しつぶされて、本来の研究成果を得るに

は、超人的な努力が必要でしょう。大学病院の現場と上述の連携が出来る老化研究者がもし日本にいたら、主幹研究者として立ち上がってほしいと願っています。私は望まれば、黒子のマネージャーとして、お手伝い出来るでしょう。

今回は、寿命延長に対するカロリー制限の限界と、それに代わる化学物質を考えてみましょう。

複写される方へ

本誌に掲載された著作物を複写されたい方は、日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、著作権者から複写権等の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。尚、著作物の転載・翻訳のような複写以外許諾は、直接本会へご連絡下さい。

107-0052 東京都赤坂 9-6-41 乃木坂ビル 9F 学術著作権協会
TEL: 03-3475-5618; FAX: 03-3475-5619; E-mail: kammori@msh.biglobe.ne.jp

Notice about photocopying (In the USA)

In order to photocopy any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copyright owner of this publication.

Copyright Clearance Center, Inc.
222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA
TEL: 978-750-8400; FAX: 978-750-4744; www.copyright.com

基礎老化研究 第34巻 第3号

平成22年（2010）9月30日

発行者 日本基礎老化学会
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
東京都健康長寿医療センター研究所内
電話 03-3964-3241

編集 編集委員会

印刷所 三陽工業株式会社