

サルコペニアのメカニズム解明に向けて

東京都健康長寿医療センター研究所老年病研究チーム

重本 和宏

サルコペニア（加齢性筋肉減少症）は高齢者のADL(activity of daily living)とQOL(quality of life)を損なう主要な原因である。サルコペニアの特徴は加齢による筋肉量低下と筋力低下だが、実際に臨床や介護現場で有効に役立てることができる定義と診断基準のいずれについても確立されていない。サルコペニアは、多様な原因により筋萎縮へ収束する病態の集合群を単一の概念として捉えていると考えている。我々は、サルコペニアのメカニズムを知るために、加齢による筋の老化促進の要因として、筋と運動神経細胞(中枢神経)の相互作用による維持システムの変化と体内環境全体の変化(代謝)に注目して研究を行っている。もともと健常筋には萎縮へと向かうカスケードが常在している。若い健常人であっても骨折などで筋活動が停止すると、2週間以内で急速に筋萎縮に至る。適切な運動習慣により、運動神経線維と筋のつなぎ目である神経筋シナプスを介した筋と運動神経の相互作用システムが、萎縮カスケードに拮抗することで筋と運動神経の両方が保持されている。筋と運動神経のシナプスを介した相互作用の分子機構は、未だよくわかっていない。我々は、老化に伴う何らかの原因により、運動神経と筋の相互作用維持メカニズムが阻害されると筋萎縮が誘導されると考えている。また、サルコペニアでは筋萎縮に至るまでの過程で遅筋線維から速筋線維への質的変換がおき、そして神経筋シナプスを介して筋の質的変換を決定するとの考え方が20年以上も前に組織学的研究から示されている。遅筋はミトコンドリアによる代謝が主であり、一方で速筋は解糖系が優位であることから、老化による筋の質的変化は代謝変換を伴っていると考えられる。我々は、そのメカニズムを明らかにするために、筋の代謝変換を可視化するマウスの開発を進めている。

Keywords: サルコペニア、筋萎縮、神経筋シナプス、代謝変換

免疫系と神経系の接点から老化促進モデルマウスをとらえる

愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部

島田 厚良

老化促進モデルマウス（Senescence-Accelerated Mouse, SAM）はヒトの老化および老化関連病態を研究するモデル動物として開発された一群の近交系マウスで、促進老化・短寿命を特徴とするSAMP系統群と、通常老化・長寿命を示すSAMR系統群とに2大別される。SAMP系統群のマウスでは、胸腺萎縮やヘルパー T細胞の減少・機能低下を始めとする免疫系の老化徴候がSAMR系統群よりも早期から出現する。SAMP10系マウスは他のSAMP系と共通した促進老化徴候を示すと同時に、この系統に特有な脳の老化関連病態を加齢に伴い自然発症する。すなわち、大脳皮質・辺縁系を中心とした脳萎縮、皮質ニューロンの樹状突起の退縮とスパインの減少、ユビキチン化封入体の蓄積などを伴って学習・記憶能が低下する。最近の研究により、SAMP10マウスの脳では炎症性サイトカインのmRNAレベルが亢進しており、ミクログリアは若齢期から退行変性していることがわかってきた。また、SAMP10マウスの脳組織では、実験的損傷を受けた後に、ミクログリア、アストロサイト、ニューロンの間にサイトカインを介した細胞間コミュニケーションがうまく構築されず、ミクログリアが主導する神経保護機能に欠陥があることを示した。これらの結果は、免疫系の加齢変化と神経系の加齢変化とを結び付けて捉える新しい視点が、脳の老化の原理を研究する実験デザインとして有効であることを示唆している。本シンポジウムでは、SAMマウスに見られる免疫系の異常、脳の老化関連病態、サイトカインを介した脳細胞間ネットワークについて述べた後に、髄膜空間に常在する免疫系細胞が、末梢免疫系と脳のインターフェイスを構築する可能性があることを紹介する。このインターフェイスについて今後解明すべき課題を示しながら、脳の老化に関する基礎研究が進むべきひとつの方向を提唱したい。

Keywords: 老化促進モデルマウス、免疫系、サイトカイン、神経変性、ミクログリア

ビタミンCと老化、老化関連疾患

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 分子老化制御
石神 昭人

ビタミンC (L-アスコルビン酸) は水溶性の強力な抗酸化剤であり、細胞内や血液中での活性酸素種を効率的に消去すると考えられている。また、生物の不可逆的な時間経過、「加齢」による機能低下、すなわち「老化」の一因は細胞内活性酸素種の増加による細胞障害とも考えられている。活性酸素種の増加が老化の一因であるならば、ビタミンCは当然に老化を抑制する「抗老化 (アンチエイジング)」効果があることになる。しかし、それを証明する科学的根拠は希薄である。私たちは体内でビタミンCを合成できないSMP30/GNL遺伝子破壊マウスを用いてビタミンCと老化、および老化関連疾患について研究を行っている。本シンポジウムではこの点について言及したい。

SMP30 (日本名: 加齢指標タンパク質30) は1991年に老若ラット肝臓のプロテオーム解析により、加齢に伴い減少するタンパク質として発見、同定した。発見以降10年以上もの長い間、SMP30の本質的な機能は解明されなかった。2003年、NCBIの遺伝子データベース解析から、SMP30が藍藻 (藍色細菌とも呼ばれる細菌の一種) にある酵素、グルコノラクトナーゼ (GNL) と非常に良く似ていることを発見した。哺乳類におけるGNLはビタミンC合成経路の最後から2番目に位置する酵素であり、L-グルロン酸をL-グルノ- γ -ラクトンへとラクトン化する。私たちはラット肝臓からSMP30を精製し、SMP30が高等生物におけるGNLであることを証明した。また、既に作製していたSMP30/GNL遺伝子破壊マウスを用いた研究から、このマウスはヒトと同様に体内でビタミンCを合成できないことを明らかにした。SMP30/GNL遺伝子破壊マウスはビタミンCを合成できない新しい動物モデルとしてこれからのビタミンC研究への貢献が期待できる。

最近のビタミンCと老化関連疾患に関する研究でもビタミンC不足が喫煙による慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の発症リスクを高めることを明らかにした。COPDは高齢者に多い肺の生活習慣病であり、発症機構は未解明、そのため治療薬は全く無い。十分なビタミンC摂取が喫煙によるCOPD発症リスクを下げられるか、またビタミンC摂取で治療効果が得られるかは検討中である。また、ビタミンC不足による様々な臓器中での活性酸素種の動態について詳細に解析を行っている。最新の研究成果を交えて紹介したい。

Keywords: ビタミンC、慢性閉塞性疾患、SMP30/GNL、喫煙、活性酸素種

寿命制御と細胞老化シグナル、加齢関連疾患の発症メカニズム

千葉大学大学院医学研究院循環病態医科学
南野 徹

加齢に伴って、糖尿病や動脈硬化、高血圧などの生活習慣病の罹患率が増加し、その結果、虚血性心疾患や脳卒中の発症の基盤病態となっている。これらの疾患は、多くの高齢者において共通に認められることから、老化の形質の一部として捉えることができる。すなわち、これらの疾患の究極的な治療のターゲットは、寿命を調節する仕組みそのものかもしれない。しかし、これまで加齢に伴って個々の病態がどのように変化するかという観点からの研究は行われてきたが、老化・寿命という側面からみた包括的な研究は行われていない。

通常ヒト正常体細胞は、ある一定回数の分裂増殖後、細胞老化とよばれる分裂停止状態となる。このような細胞の分裂寿命に重要な因子が、テロメアである。テロメアは、染色体の両端に存在し、その安定性に寄与するが、DNA複製が不完全であるため、細胞分裂とともに短縮する。ある一定の長さまで短縮したテロメアは、DNA損傷として認識され、p53依存性細胞老化シグナルの活性化によって、細胞は老化する。最近では、酸化ストレスや紫外線などのストレスによってDNA損傷が生じると、テロメアの短縮を伴わずに細胞は老化することが知られている。老化した細胞が高齢者の皮膚へ集積すること、早老症候群患者より得られた細胞の寿命は有意に短いことなどが報告されていることから、加齢に伴って生じる組織における細胞老化シグナルの活性化が、寿命や加齢関連疾患の病態生理に関与する可能性がある。実際、このようなp53依存性細胞老化シグナルが、加齢に伴う様々な疾患の病態に関与していることが、最近の研究で明らかとなってきた。そこで本講演では、老化分子としてのp53の役割について最近の知見を紹介し、加齢関連疾患に対する次世代の治療法の開発について議論してみたいと思う。

Keywords: p53, 細胞老化, 糖尿病, 動脈硬化, 心不全

百寿者調査から超百寿者調査—長寿遺伝子の探求—

慶應義塾大学医学部老年内科
広瀬 信義・新井 康通

健康長寿モデルと考えられている百寿者は急増しており2010年には4万5千人となった。百寿者の医学的特徴は、1) ほとんどの百寿者が何らかの疾患を持っている、2) 糖尿病が少ない、3) 動脈硬化が少ない、4) 炎症反応亢進、5) 低栄養、6) 高アデイボネクチン血症である。これらの所見から、1) 老化炎症仮説、2) 強力な防御因子の存在という仮説を提唱した。老化炎症仮説は老化に伴い炎症反応が亢進する。炎症反応が、低栄養、虚弱など老化形質を引き起こすというものである。現在動脈硬化、肥満など様々な病態に関与することが知られているが、老化に伴う炎症がどのようなかを明らかにすることにより、虚弱などの老化形質の治療に結びつくのではないかと考え研究を行っている。縦断調査の結果より、1) 虚弱が余命を短くする、2) アデイボカインのprofileが予後に関連する事が判明した。脂肪組織の機能を保つことが長寿に重要であることが示唆された。急増しつつある100歳老人はほとんどが何らかの疾患を持っておりすべての百寿者は健康長寿モデルではない。105歳以上者(超百寿者)は全国で2000名程度生存しており、また死亡率が105歳頃から低下することが判明した。これは超百寿者が健康長寿モデルである可能性を示唆する。超百寿者の遺伝素因を検討することにより長寿遺伝子の同定が出来るものと考えられる。我々もGWASを行っており、その結果いままでも長寿に関連すると思われる異なる遺伝子が現れてきた。その一つの遺伝子として、アメリカ、イタリア、アシュケナージジューと日本の百寿者GWASデータを用いて新規の寿命関連遺伝子ADAR (adenosin deaminase on RNA) が明らかになった。今後common disease, common variantを明らかにするGWAS(genome wide association study)から、rare caseを用いてrare variantsを明らかにするために110才以上の方を対象に(全国で60名、実に200万人に一人, supercentenarian) whole genome sequencingを行う準備をしている。作用の強い長寿遺伝子が明らかになる日も近いと希望している。これらの遺伝子がどのような機序で長寿に結びつくかの研究が重要となろう。機能解析のために110歳以上の方のご協力をいただきiPS細胞を作成した。この発表が基礎老化とヒトの長寿科学の架け橋になるきっかけになることを期待したい。

Keywords: 超百寿者, GWAS, ADAR, rare case rare variant, supercentenarian

β 1インテグリンの持続的活性化による細胞老化誘導

東京理科大学薬学部分子病態学
深井 文雄

細胞の生存・増殖には、増殖因子受容体の活性化に加え、 β 1インテグリンを介した細胞接着シグナルも必須とされている。我々は、機能性細胞外マトリックスタンパク質の一つであるテネシン-Cに由来するペプチドTNIIIA2が、 β 1インテグリンを強力かつ持続的に活性化することを見出した。TNIIIA2は、正常マウス線維芽細胞NIH3T3のPDGF依存性増殖を強く促進するのに対し、Rasが恒常的活性化しているヒト線維肉腫様細胞WI38VA13に対してはアポトーシスを引き起こす。一方、正常細胞に恒常的活性化型Rasを強制発現させると細胞老化が誘導されることが知られている。今回、ヒト正常線維芽細胞WI38の β 1インテグリンをTNIIIA2で活性化すると、細胞老化が引き起こされることが明らかになった。

WI38細胞にTNIIIA2を作用させると、みかけの増殖が抑制された。この時、Rasの活性化が確認されると共に、細胞が扁平肥大化し、細胞老化の指標であるSA- β -galactosidase染色陽性に変化したことから、細胞老化の誘導が推測された。実際、TNIIIA2処理した細胞で、細胞周期阻害因子p21^{cip1}及びp16^{INK4a}の発現上昇が認められた。また、 β 1インテグリン活性化因子であるMg²⁺によっても同様の変化が観察され、更に、インテグリン下流のシグナル分子であるSrcに対する阻害剤PP2でTNIIIA2作用が抑制されたことから、TNIIIA2による細胞老化の誘導はインテグリン活性化に基づいていることが示唆された。また、v-Ha-ras導入による細胞老化の際にオートファジーが惹起されるとの報告があるが、TNIIIA2処理した細胞においてもオートファジーの指標であるLC3-IIの上昇が認められた。

以上、TNIIIA2はインテグリンの強力かつ持続的活性化に基づいてアポトーシスや細胞老化を引き起こし、その決定因子としてRasの活性化状態が重要な役割を担っている可能性が示唆された。

Keywords: 細胞老化、接着、インテグリン、Ras、テネイン

個体老化を制御するDNA損傷応答機構

独立行政法人国立長寿医療研究センター研究所

加齢健康脳科学研究部加齢病態研究室

本山 昇

個体老化は、加齢に伴い各種組織の機能が低下していく生理応答であるが、認知症・動脈硬化などいわゆる老年病発症のリスクファクターであると考えられる。老化が加速し比較的若年期より種々の老年病を発症する早期老化症の原因遺伝子の同定およびDNA修復酵素欠損モデルマウスが早老症様の症状を呈することからゲノムDNA安定化機構の破綻が個体老化を促進することが明らかになってきた。また高齢者由来の細胞において、DNA損傷を持った細胞が増加すること示され、DNA損傷とそれによって引き起こされるDNA損傷応答機構（DDR：DNA damage response）が個体老化と密接に関連していることが示唆されている。

私たちのゲノムDNAは1日細胞当たり1万～10万ものDNA損傷が生じている。これに対してDDRが活性化し、細胞周期を停止させDNA修復を試みる。またアポトーシスや細胞老化が誘導され、DNA損傷およびそれにより引き起こされるDNA変異を持った細胞の異常な増殖を阻止し、がん化を抑制している。さらに近年老化した細胞から炎症性サイトカインや増殖因子など多くの生理活性因子が分泌されていることが示され、この現象をSASP（Senescence-associated secretory phenotype）という。このような細胞老化やSASPは、動脈硬化や糖尿病などの老年病にも関与することが示唆されている。

そこで本発表ではDDRに着目し、DNA損傷によって誘導されるアポトーシス・細胞老化・SASPの制御メカニズムおよび早期老化症モデルマウスを用いた研究を紹介し、加齢に伴うDNA損傷の蓄積・DDRの活性化によるアポトーシス・細胞老化・SASPと個体老化・老年病発症との関連について述べたい。

Keywords: DNA損傷、DNA損傷応答機構、アポトーシス、細胞老化、SASP

老化関連遺伝子で探る分子レベルの2つの老化研究

国立長寿医療研究センター研究所 老化機構研究部

丸山 光生

私たちの体を構成する細胞の分裂回数には寿命があり、細胞老化と呼ばれる不可逆的な増殖停止状態に陥ることが知られている。この増殖停止には細胞が生体内外で酸化ストレス、あるいはカルチャーショックといった過酷な環境に曝されることによるストレスも深く関与することが明らかになり、細胞老化は生体内においてはがん化の危険性を回避する癌抑制機構の一端としても捉えられてきた。我々は老化期特異的発現を指標にした網羅的解析等によって同定した老化関連遺伝子の機能について、分子・細胞レベルから個体レベルまで基礎的な解析を進めており、こうした遺伝子を手がかりに生体が兼ね備えている普遍的な老化機構について解明を目指している。今回は個体老化との関連も含め、マウス胚性繊維芽細胞(MEFs)の継代培養から細胞老化早期に一過的に強発現する細胞老化関連遺伝子として同定したTARSH(target of NESH/Abi3bp)と、加齢に伴う免疫機能の低下について、ワクチン、あるいは抗体を用いた免疫療法にも密接に関係する獲得免疫系の細胞に特異的発現している老化関連遺伝子Zizimin2 (DOCK11)についてこれまでに得られた結果を示したい。具体的には、TARSH遺伝子については低分子量Gタンパク質Rac依存的な重合反応に関与するNESHのSH3ドメインに結合する癌化に関連した分子として同定され、その後、我々がMEFs細胞老化において一過的な発現上昇を見いだしたことから、さらには正常肺に特異的発現を示し、肺腫瘍においては発現が著しく抑制されていることから、癌化と細胞老化の双方に関与していることを、またCdc42に結合し、活性化する新規のグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)として同定したZizimin2遺伝子に関しては最近作出した遺伝子欠損マウスを用いた免疫系における機能解析を中心に私たちの目指す老化研究を紹介する。

Keywords: 細胞老化、個体老化、免疫老化、老化機構

中高齢期からの食餌制限の有益性とリスク

東邦大学 薬学部 生化学教室
高橋 良哉

若齢期からの食餌制限は、寿命を延長し加齢に伴う様々な疾患の発症を抑制または遅延することが知られている。しかし、中高齢期からの食餌制限の有益性に関する研究は少ない。これまで当教室では中高齢期からの食餌制限が老齢ラット・マウスにみられる老性変化に対してどのような影響を与えるかについて調べてきた。その結果、老齢組織に蓄積した熱不安定異常酵素やミトコンドリアのカルボニル化酸化修飾タンパク質は、比較的短期間のうちに食餌制限により低下することを明らかにした。また、異常タンパク質分解酵素であるプロテアソーム活性が食餌制限により若齢レベルまで回復することを見出した。さらに、老齢動物のタンパク尿症が食餌制限で改善することも見出した。このように老齢動物にみられる老性変化は、中高齢から開始した食餌制限により改善することがわかった。しかし、中高齢期からの食餌制限は加齢に伴う筋肉量低下（サルコペニア）や骨量・骨密度の低下を加速する可能性がある。ところが、実際に食餌制限を行った老齢ラット後肢筋の重量や線維タイプに与える影響について調べてみると食餌制限はこれらの加齢変化に対してほとんど影響を与えていないことがわかった。骨でも同様であった。このように動物実験レベルでは中高齢期からの食餌制限には調べた範囲では大きなリスクはなさそうである。しかし、ヒトでは同様な効果を単純に期待できない可能性がある。例えば、加齢に伴い低栄養状態の高齢者が増加するが、このような高齢者への食事制限はさらに彼らの健康状態を悪化させることが容易に予想できる。実験動物からヒトへの外挿の難しさがみられる。本シンポジウムでは、中高齢期からの食餌制限の動物実験の研究成果を紹介しながら、ヒトへの外挿の問題についても考えてみたい。

Keywords: 異常高分子、酸化タンパク質、サルコペニア、中高齢期、食餌制限

カロリー制限（CR）動物のエネルギー代謝の特徴とCR mimetics

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・探索病理学
下川 功

カロリー制限（CR）マウスは、摂食と絶食を繰り返す。CRのエネルギー代謝の特徴は、絶食期間のエネルギー源を確保するために、摂食時に炭水化物を脂肪に変換し、絶食時でさえ、脂肪を蓄積する（あるいは過剰な消費を防ぐ）方向へ代謝をシフトさせることである。この点で、肥満動物の摂食エネルギーを適正レベルへ落とすこと（つまりダイエット）とは異なる。CRは、脳や筋肉へ効率的にエネルギーを供給するために、肝臓と白色脂肪間のエネルギー変換を精妙に制御している。たとえば、細胞のエネルギーセンサーとして働くAMPKは、CR群の肝臓では、その活性が低下し、絶食時の糖新生を促進するが、白色脂肪では、SIRT1に拮抗して、脂肪分解を抑制する。転写因子FoxO1はCRの抗腫瘍効果に必要なが、恒常的な発現は、Nonalcoholic steatohepatitisや筋萎縮を誘発する。CRによるエネルギー代謝や神経内分泌系の変化は視床下部神経核によって制御されていると推測される。たとえば、視床下部弓状核のNeuropeptide Y (NPY)はCRによって増加する。NPYが欠損するマウスでは、CRの効果が減弱する。しかし、NPYを単純に活性化しようとすれば、摂食量を制限しない限り、肥満や代謝疾患を引き起こすというジレンマに陥る。CRのエネルギー代謝の特徴を俯瞰し、CRおよびCR mimetics (模倣剤)の応用について議論する。

Keywords: カロリー制限、エネルギー代謝、CR mimetics、Neuropeptide Y

カロリー制限による脂肪酸合成関連転写因子SREBP1cを介した脂質代謝の変化

東京理科大学薬学部生命創薬科学科

分子病理・代謝学研究室

樋上 賀一

近年、長寿を示す変異および遺伝子改変動物を用いた研究から、CRの分子メカニズムの解明がすすめられてきた。そして、成長ホルモン(GH)/インシュリン様成長因子(IGF)-1の抑制、酸化ストレスの抑制、炎症の抑制、ミトコンドリア・バイオジェネシスの活性化、Sirtuin遺伝子の活性化など様々なシグナルや分子が重要であることが明らかとなってきた。我々は、CRに伴う白色脂肪組織(WAT)のリモデリングが寿命制御に重要であることを報告した。また、CR動物のWATでは、ピルビン酸/リンゴ酸回路の活性化を介して、グルコースをよりエネルギー効率の良い脂質に変換する役目を担っているようである。さらに、CRにより誘導されるWATでの形態および遺伝子発現プロファイルの変化は、主としてGH/IGF-1非依存性に制御されていること、特にCRにより発現が増加する脂肪酸合成関連遺伝子群および発現が減少する炎症関連遺伝子群にその傾向が強いこと、CRによる脂肪酸合成遺伝子群の発現増加に、sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP1c) が重要である可能性を示した。事実、SREBP1cをノックアウトすると、CRによる寿命延長作用やグルコース耐性・インシュリン感受性試験の改善効果などが失われていた。また、一部の臓器では酸化傷害レベルが増加していた。さらに、SREBP1cノックアウトマウスは、野生型マウスに比べて、脂質を有効に利用できないようであり、絶食に対する応答性が大きく異なることが明らかとなってきた。近年、CRの抗老化・寿命延長効果に、脂質の有効な利用が重要であるとの仮説が提唱されている(Guarente, Cell 2008)。SREBP1cノックアウトマウスはこの仮説を証明しうる有力なモデル動物であり、このマウスの解析はCR研究に新たな光をあてるものと期待される。

Keywords: カロリー制限、白色脂肪組織、脂質代謝、SREBP1c