

BIOMEDICAL GERONTOLOGY

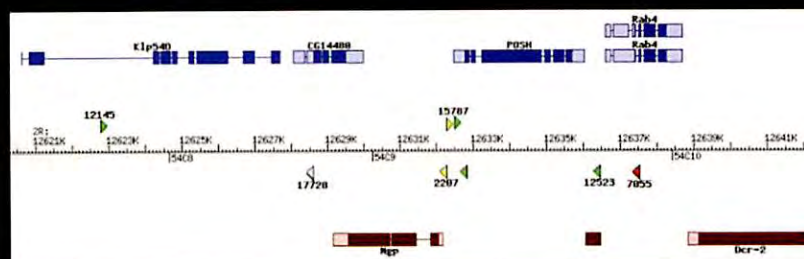
基礎老化研究

日本基礎老化学会第27回大会

プログラム・発表抄録

総説 ■ 抗老化遺伝子—ショウジョウバエの研究から—
相垣 敏郎

附 ● 基礎老化学会サーキュラー 第64号



- 編集委員会委員長： 樋口京一 信州大学 医学部附属加齢適応センター 脈管病態分野
〒390-8621 松本市旭3-1-1
- 編集委員会幹事： 白澤卓二 東京都老人総合研究所 分子老化研究グループ
〒173-0015 板橋区栄町35-2
- 編集委員会委員： 磯部健一 長寿医療研究センター 老化機構研究部
〒474-8522 愛知県大府市森岡町源吾63-3
- 近藤 昊 東京都老人総合研究所 老化レドックス研究グループ
〒173-0015 板橋区栄町35-2
- 三井洋司 筑波大学先端学際領域研究センター
〒305-8577 つくば市天王台1-1-1
- 下川 功 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 病体解析制御学
〒305-8566 長崎市坂本1-12-4
- 戸田年総 東京都老人総合研究所 プロテオーム共同研究グループ
〒173-0015 板橋区栄町35-2
-

Official Journal of The Japan Society for Biomedical Gerontology

- Editor-in-Chief: Keiichi Higuchi, Department of Aging Angiology, Research Center on Aging and Adaptation, Shinshu University School of Medicine, 3-1-1 Asahi, Matsumoto, Nagano 390-8621, JAPAN
- Managing Editor: Takuji Shirasawa, Molecular Gerontology Research Group, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN
- Editors: Ken-ichi Isobe, Department of Basic Gerontology, National Institute for Longevity Sciences, 36-3 Gengo, Morioka-cho, Obu, Aichi, 474-8522, JAPAN
- Hiroshi Kondo, Redox Regulation Research Group, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN
- Youji Mitsui, TARA Center, University of Tsukuba, Tennodai 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, JAPAN
- Isao Shimokawa, Department of Pathology & Gerontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki City 852-8523, Japan
- Toshifusa Toda, Proteomics Collaboration Research Group, 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（但し、当面は年3回）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）、研究報告、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、3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。総説及び研究報告については、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、研究報告、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、総説と研究報告の要旨、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、研究報告は公開される。
5. 総説、研究報告、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）、フロッピーディスク、MOディスク、CDディスクに記録したものとす。図・表および写真は、PICT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）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, 田久保海蒼 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. 研究報告 現在進行中または最近行った自身の研究の紹介。長さその他は総説に準じる。
 4. トピックス 最近の話題性のある研究(または雑誌記事)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。
 5. 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。
 6. 書評 最近出版された書籍の紹介。1,600字以内。
 7. 随筆 長さは刷り上がり2頁(3,200字)以内。
 8. その他
 9. 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: 樋口京一 (khiguchi@sch.md.shinshu-u.ac.jp)
または、編集幹事: 白澤卓二 (sirasawa@tmig.or.jp)

目 次

第一部：日本基礎老化学会第27回大会	
大会案内及びプログラム	1-11
発表抄録	13-31
第二部：総説	
抗老化遺伝子—ショウジョウバエの研究から—	
相垣 敏郎	35-39
附：基礎老化学会サーキュラー 第64号	

CONTENTS

Part1

The 27th Annual Meeting of the Japan Society for Biomedical Gerontology	
<PROGRAM>	1-11
<ABSTRACTS>	13-31

Part2

<REVIEW>Anti-aging genes in Drosophila	
Toshiro Aigaki	35-39

表紙：ショウジョウバエのゲノムには約14,000個の遺伝子がコードされており、ヒト遺伝子の約70%について相同遺伝子が存在する。大規模変異体コレクションを用いた抗老化遺伝子のスクリーニングが進められている。

第 一 部

第27回 日本基礎老化学会 大会

- 大会長 廣川 勝昱
(東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・包括病理学)
- 会 期 平成16年6月17日(木)～18日(金)
学術集会：一般演題、特別講演、シンポジウム 1日目、2日目
理 事 会：前 日 (16日) 18:00～20:00 (アルメイダ)
評議員会：2日目 (18日) 12:00～13:00 (口演会場)
総 会：2日目 (18日) 13:10～13:50 (口演会場)
懇 親 会：1日目 (17日) 18:15～20:30 (アルメイダ)
- 会 場 東京医科歯科大学・5号館 3階 第1セミナー室 (ポスター会場)
4階 講 堂 (口演会場)
- 大会事務局 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・包括病理学内
第27回日本基礎老化学会大会 事務局 宇津山 正典
〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45
電話：03-5803-5176 (直通) FAX：03-5803-0123
E-mail：27th-kisorouka.pth2@tmd.ac.jp
- 大会ホームページ <http://www.tmig.or.jp/jsbg/kaisai27.html>

日本基礎老化学会

- 会 長 後藤 佐多良 (東邦大学 薬学部)
- 学会事務局 東京都老人総合研究所内
日本基礎老化学会事務局 庶務幹事 新海 正
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
E-mail：jsbg@tmig.or.jp FAX：03-3579-4776
- ホームページ <http://www.tmig.or.jp/jsbg>

第27回日本基礎老化学会の開催にあたって

老化は生物全般に起こる一般的な現象です。余りにも一般的であるために、文学的な対象になることはあっても、サイエンスの対象になってからはそれほど長くはないといえます。今年、日本基礎老化学会はその前身の日本基礎老化研究会の時代を含め27回目を迎えます。四半世紀を経て、基礎的な老化研究が隆盛を極めているかといえば、残念ながらそうではないと云わざるをえません。

老化は多面的な現象で、どこから攻めても良いし、また、出来るだけ多面的に解析すべきであるといえます。研究者は好きなことをやりたがります。その結果、研究方向が分散し、ほとんどが孤立した小さい研究グループになっています。その小さい研究グループの発表の場として、この基礎老化学会の果たす役割があったことは、だれもが認めるでしょう。しかし、それらをまとめて行政を動かすほどのパワーにはなっていないのも事実です。

これからはネットワーク的な研究が必要と思います。現在インターネットやEメールを使えば情報交換は極めて容易です。少しでも研究上の共通項があれば、そこを縁としたネットワーク的な共同研究網を作ることが可能でしょう。一人、または一研究室だけではできないものも、ネットワークを作ればできる事もでてくるものです。そのネットワーク作りに基礎老化学会が何らかの役割を果たせないかと考えています。

今年はネットワークの一つの核として、免疫系に焦点を絞って国際的な講演とシンポジウムを企画しました。多面性を維持する目的で自由課題を募集し、すべてポスターとし、テーマごとにまとめて発表することにしました。この大会が活発な討論の場となり、ネットワークづくりの場となることを祈念いたします。

廣川 勝昱

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・包括病理学

第27回日本基礎老化学会・大会長

参加者・発表者の方へ

参加費：

参加費は一般会員8000円、学生は4000円、非会員一般は10000円です。
学生の方は学生証または指導教官による証明書（任意形式）を提示下さい。

受付：

6月17日（木）8：30より講演会場、ポスター会場前にて受付を開始します。
「会員」、「学生」、「非会員」、「非会員・招待演者」それぞれのセクションで受付をしてください。受付時に「大会参加章」をお渡しします。所属・氏名をご記入の上、会場内では必ず吊り下げホルダーに入れ胸におつけ下さい。
懇親会の受付もここでを行います。参加費は1000円です。

発表機材：

特別講演、シンポジウム、一般演題の口演はすべて4階・口演会場でPCプレゼンテーションのみで行います（スライド、OHPは使用できません）。

PowerPoint でWindows XP搭載機器を用意いたしますので、発表者はポスター受付の際にUSBメモリー、CD-ROM、MO、Floppy diskを利用しファイルを提出して下さい。

（注）Mac PowerPoint で作成しましたファイルは出来るだけ、Windows に変換してきてください。誤操作の可能性もありますので よろしくお願ひします。

一般演題口頭発表

PowerPointで作成したスライド3枚以内を使用し、発表内容の重要ポイントを口頭発表してください。発表者の持ち時間はディスカッションを含めて5分間です。時間厳守をお願いいたします。

ポスター発表：

一般演題のポスター発表は3階・ポスター会場にて行います。17日8：30から掲示可能です。2日間張替えなしで行います。各ボードの掲示サイズは幅100cm、高さ160cmです。

掲示用のピン、テープ類は会場に用意します。発表は座長なしで50分間のフリートークとします。発表時間は奇数番号演題が1日目10時より、偶数番号演題は1日目13時より行います。

2日目の16：30までに総てのポスターを撤去して下さい。

懇親会：

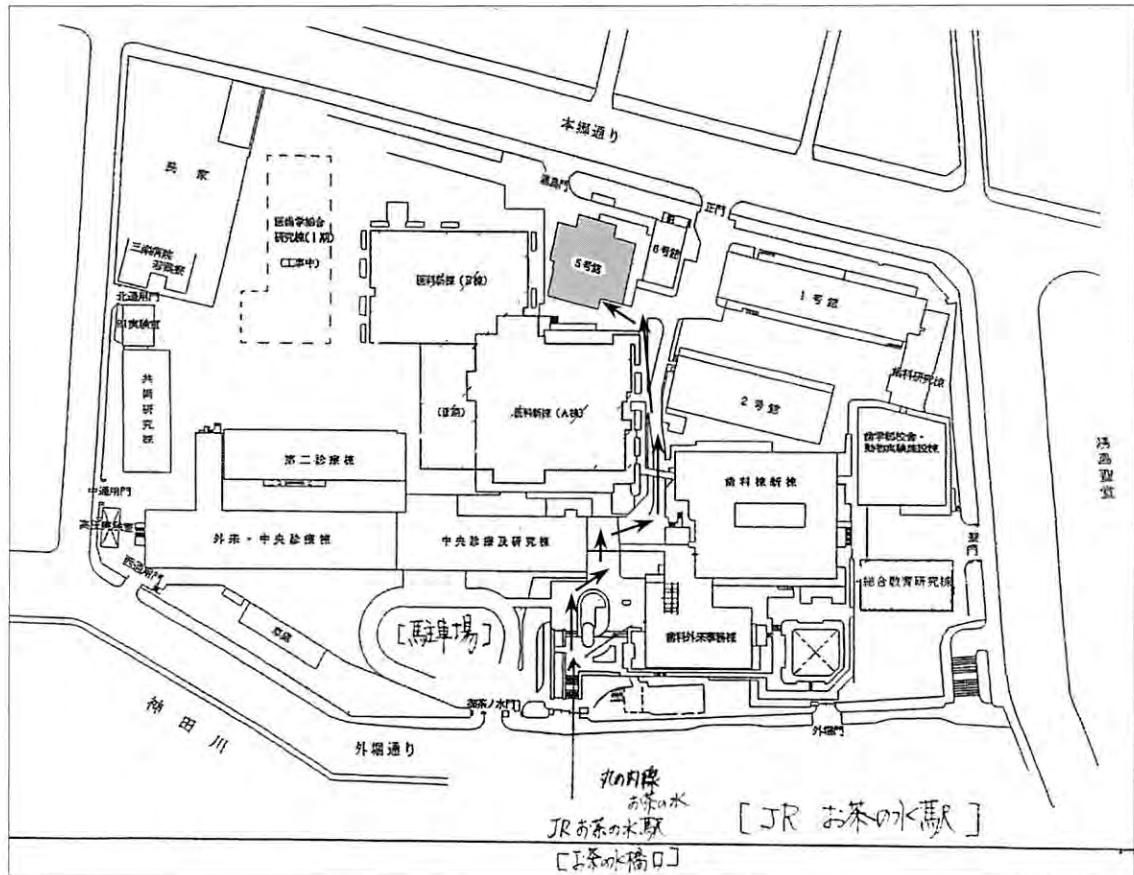
6月17日（木）18：15から大学構内にありますレストラン「アルメイダ」で開かれます。なるべくお誘い合わせの上、奮ってご参加下さい。会費は1000円です。大会当日受付にてお支払い下さい。

総会 および 評議員会

2日目の13：10から口演会場にて総会を開催いたします。より良い学会とするために、是非、ご参加下さい。評議員会は2日目の12：00から口演会場にて開催いたします。

若手奨励賞

すべての発表の中から若手奨励賞を若干名選抜し、すべての口頭発表終了時に大会会長から授与します。40歳以下の発表筆頭者で事前にエントリーされた方を対象者とし、理事および大会長が審査に当たります。エントリー演題はポスター会場の演題番号に赤丸印、プログラム中では演題番号に下線があります。



JR利用の際はお茶ノ水橋出口を右に出て、右側の御茶ノ水橋を渡り、更に、外堀通りを横切って大学構内に入ってください。地下鉄・丸の内線出口前が横断歩道となっております。

会場は本郷通り沿いにある5号館の3、4階で、生協食堂が1階にあります。

行き先案内板に沿って来て頂ければわかるようにしておきますが、迷った時は携帯電話（090-3470-6931）にご連絡下さい。（学会開催日限定の携帯電話）

プログラム

6月17日(木) 1日目

受付およびポスター展示 8:30より

開会の挨拶 9:50より 廣川 勝昱・大会長 (ポスター会場)

ポスター・セッション I <奇数番号演題・質疑応答> 10:00~10:50

休憩 10:50~11:00

特別講演 **Immunosenescence** 11:00~12:00
(Chairperson: Katsuiku Hirokawa)

Age and Immunity

Graham Pawelec (University of Tübingen, Tübingen, Germany)

昼食 12:00~13:00

ポスター・セッション II <偶数番号演題・質疑応答> 13:00~13:50

シンポジウム I : **Ageing and Immunity** 14:10~17:20
(Chairperson: Tamas Fülöp, Yoshio Hayashi)

SI-1 Role of thymus in immunological ageing
Masanori Utsuyama and Katsuiku Hirokawa (Tokyo Medical & Dental University Graduate School)

SI-2 CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance and negative control of immune
Takashi Nomura and Shimon Sakaguchi (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

SI-3 Lipid rafts and T cells activation: effect of aging
Tamas Fülöp¹, Anis Larbi¹, Abdelouahed Khalil, Gilles Dupuis^{1,2}
(Research Center on Aging and ¹Immunology program, ²Dept.of Biochemistry, Faculty of
Medicine, University of Sherbrooke, Canada)

休憩 15:40~15:50

SI-4 The Swedish OCTO and NONA immune longitudinal studies: Development of the concept of an
immune risk phenotype
A Wikby^a, J Strindhall^a, G Pawelec^b, R Forsey^c, Y Barnett^d, F Ferguson^c and B Johansson^f
(^aSchool of Health Sciences, Jönköping Univ., Sweden, ^b Univ. of Tübingen Medical School
Tübingen, Germany, ^c Unilever Research, Sharnbrook, UK, ^d Univ. of Nottingham, UK
^ePenn State Univ, USA, ^f Univ. of Göteborg, Sweden)

SI-5 Accelerated Autoimmunity Developing in Sjögren's Syndrome Mouse Model with Aging via
Bystander T Cell Activation
Yoshio Hayashi, Naozumi Ishimaru, Rieko Arakaki (Tokushima University School of Dentistry)

SI-6 K and NK/T cells in human healthy aging
Rafael Solana. ("Reina Sofia" University Hospital. University of Córdoba, Spain)

休憩 17:20~17:30

口演発表：免疫 I (座長：磯部 健一)

17:30~17:45

- 1) Physics of Ageing Involving an Immune System (II)
免疫系に関する老化の物理学 (II)
根間幸美、澤岷英正 (琉球大・理)
- 2) Antibody-forming responses of cultured spleen cells to a protein antigen and function of presenting cells in SAMP1 mice
老化促進モデルマウス (SAMP1) におけるタンパク抗原に対する抗体産生反応と抗原提示細胞の機能について
木村智美、細川友秀 (京都教育大・生命科学)
- 3) Regulatory effects of noradrenalin on the immune memory expression to a protein antigen of cultured spleen cells from antigen-primed mice ---Effects of aging---
マウスにおけるタンパク抗原に対する免疫記憶の in vitro における発現とノルアドレナリンの調節作用---加齢の影響について---
細川友秀、廣重幸世、加藤なつみ (京都教育大・生命科学)

口演発表：免疫 II (座長：細川 友秀)

17:45~18:00

- 4) Senescence B-lymphopoiesis is balanced in suppressive homeostasis: decreased in IL-7 and TGF- β levels in stromal cells of senescence-accelerated mice (SAM)
老化に伴いB細胞造血は造血間質細胞のIL-7 と TGF- β の産生低下により抑制的平衡状態へ移行する
壺井功^{1,2}、平林容子²、Li Guang-Xun²、平本正樹¹、菅野純²、相澤信¹、井上達³
(¹日大・医・解剖、国立医薬品食品衛生研 ²毒性部、³安全性生物試験研究センター)
- 5) PMN rescue from apoptosis is defective with aging
Anis LARBI, Nadine DOUZIECH, Tamàs FÜLÖP
(Immunology program, Service de Gériatrie, Faculty of Medicine, University of Sherbrooke, Research Center on Aging, 1036 belvedere sud, J1H 4C4, Sherbrooke, Qc, Canada)
- 6) Effects of Composite Group Drumming on Modulation of Immune Parameters
複合的グループドラミングが免疫パラメータに及ぼす効果
和智正忠¹、小山雅寛²、宇津山正典¹、廣川勝昱¹
(¹東京医歯大・院・包括病理学 ²ヤマハ株式会社)

懇親会 <アルメイダ>

18:20~20:30

6月18日(金) 2日目

口演発表：エネルギー応答 (座長：宮坂 京子)

9:00~9:25

- 7) Reduction of Saccharide by Lactic Acid Bacteria in Diabetes KK-Ay Mouse
糖尿病 KK-Ay マウスに対する、乳酸菌 (エンテロコッカス) の糖低下作用
河合康雄¹⁾、J.B.Moloney²⁾、R.J.Tello³⁾、F. Deinhardt⁴⁾
(¹榊河合乳酸球菌研究所 ²NCI, Baltimore, USA. ³Medical Center, Denver, USA.
⁴Rush Medical univ. & Univ. of Illinois, USA)
- 8) Lack of stimulatory effect of orexin-A on food intake in old male rats (second report)
老齢ラットにおける Orexin-A の摂食亢進効果の減少 (第2報)
高野紗恵子^{1,2}、植松宏²、金井節子¹、細矢博子¹、太田稔¹、吉田由紀¹、宮坂京子¹
(¹都老人研・生体機能調節と加齢研究 G、²東京医歯大・院・口腔老化制御学)

- 9) Stimulatory effects of Bitter meron-malt vinegar and Kurozu on daily energy turnover in rats
にがうりエキス酢および黒酢のラットエネルギー代謝回転亢進と基礎代謝上昇効果
関日綾子、金井節子、太田稔、細矢博子、高野紗恵子、宮坂京子
(都老人研・生体機能調節と加齢研究 G)

- 1 0) Role of UCP in basal thermal homeostasis
老化と体温調節におけるUCPの役割
山下 均¹⁾、汪 幼学¹⁾、紺谷康英²⁾、森 望¹⁾
(¹長寿医療センター・老化制御研究部 ²金沢医科大・微生物)

- 1 1) Adaptive traits to cold exposure of young Senescence Accelerated mouse
若齢老化促進モデルマウスの寒冷暴露に対する適応特性
山下剛徳^{1,2)}、千葉陽一²⁾、佐藤 衛²⁾、斉藤優子²⁾、花井敦子²⁾、島田厚良²⁾、中村榮太郎³⁾、細川
昌則²⁾ (¹京大・院 人間・環境学研究科、²愛知県コロニー発達障害研・病理学部、³京大総
合人間学部)

口演発表：カロリー制限 (座長：下川 功) 9：25～9：45

- 1 2) Analysis of insulin signaling pathway in long-lived model rats: comparison of calorie restriction with
the reduction of GH-IGF-1 axis
長寿モデルラットにおけるインスリンシグナル伝達系の検索：カロリー制限と GH-IGF-1 系抑
制の比較
山座治義、野口 歩、小松利光、黨 和夫、遠山啓亮、千葉卓哉、樋上賀一、下川 功
(長崎大・院 内臓機能病態病理)

- 1 3) Gene expression profile in mice white adipose tissue ---effect of short-term and long-term calorie
restriction ---
カロリー制限によるマウス白色脂肪組織での遺伝子発現プロフィール
樋上賀一¹⁾、Richard Weindruch²⁾、Thomas A Prolla²⁾、下川 功¹⁾
(長崎大・院 内臓機能病態病理、²⁾University of Wisconsin-Madison)

- 1 4) Alteration of fat metabolism related gene expression in calorie-restricted and/or reduced GH/IGF-1 axis
rat white adipose tissue
カロリー制限、GH-IGF-1 系抑制による白色脂肪組織における脂質代謝関連遺伝子の発現変化
遠山啓亮、黨 和夫、林田隆広、小松利光、山座治義、大谷 博、樋上賀一、下川 功
(長崎大・院 内臓機能病態病理)

- 1 5) Adaptation of the heart in energy-restricted mice in terms of gene expression
遺伝子発現からみた、エネルギー制限マウスにおける心臓の生体適応
和田安彦、西池珠子、西村泰光、井口 弘 (兵庫医大,衛生)

口演発表：テロメア (座長：仲村 賢一) 9：45～10：00

- 1 6) Differential gene expressions during immortalization of normal human fibroblasts and endothelial cells
transfected with human telomerase reverse transcriptase gene
テロメラーゼ遺伝子導入により不死化したヒト血管内皮細胞と繊維芽細胞の遺伝子発現変動
熊崎努¹⁾、檜山桂子¹⁾、高橋知子¹⁾、大松秀明¹⁾、谷本圭司¹⁾、野口琢矢¹⁾、檜山英三¹⁾、三井洋司¹⁾、
西山正彦²⁾ (¹徳島文理大・香川葉 (前・筑波大学 TARA センター)、²広島大学原医研)

- 1 7) Analysis of genetic interaction between *S.pombe* RPA and Taz1 in telomere maintenance
分裂酵母 RPA と Taz1 のテロメア維持における遺伝学的相互作用の解析
木部 達也、小野 祐生、上野 勝 (静岡大・理学部・化学科)

- 1 8) Development of telomere analysis in tissue section and in metaphase by FISH
FISH 法による組織切片およびメタフェーズにおけるテロメア長測定法の開発
仲村賢一¹、下村七生貴¹、神森 眞^{1,2}、田久保海誉¹
(¹都老人研・高齢者臓器、²東京大・病院・内分泌外科)

口演発表：老化モデル I (座長：樋口 京一) 10:00~10:25

- 1 9) Isolation of a new type of the mutant with long autogamy-immaturity in *Paramecium tetraurelia*
長いオートガミー未熟期をもつ新しいタイプの突然変異株の分離
小森理絵・高木由臣
(奈良女子大・理 生物学)

- 2 0) Regulation of Apoptosis and Ultradian Rhythm by the Mouse CLK-1
哺乳動物における clk-1 遺伝子のアポトーシスと生体リズムへの関与
高橋真由美、中井大輔、野尻英俊、森泉栄子、清水孝彦、白沢卓二
(都老人研 分子老化研究G)

- 2 1) Analysis of oxidative injury in tissue-specific MnSOD knockout mice
組織特異的 MnSOD ノックアウトマウスを用いた活性酸素傷害の組織特異性の解析
内山 智¹、清水孝彦¹、佐々木徹²、白澤卓二¹ (都老人研 ¹分子老化、²ポジットロン医学)

- 2 2) Sympathetic changes in congenic rats strain for the hypertension-related region on chromosome 1
第一染色体高血圧連鎖領域を有するコンジェニックラットの交感神経系の変化
小林裕太¹、川上浩平¹、崔宗虎²、並河徹²
(島根大 ¹総合科学研究支援センター、²医・病態病理)

- 2 3) Reduction of transcription of haploid-specific genes in senescent SAMPI mouse testis
老化 SAMPI 系マウスの精巣における半数体特異的遺伝子群の発現低下
姚俊潔¹、千葉卓哉²、酒井潤³、広瀬国孝³、山本三毅夫⁴、羽田亮之⁴、倉本和直⁵、樋口京一¹、森
政之¹
(¹信大・院・加齢生物、²長崎大・院・内臓機能病態解析、³呉羽化学工業・生物医学研、
⁴防衛医大・生化学第二、⁵都老研・実験動物)

休 憩 10:25~10:45

口演発表：老化モデル II (座長：石神 昭人) 10:45~11:05

- 2 4) Age-related change in the gene expression profile of liver from senescence accelerated mouse (SAM) P8 and R1 strains: cDNA array analysis
老化促進モデルマウス(SAM) P8系と R1系肝臓における遺伝子発現の加齢変化：cDNA アレイ
解析
高橋良哉、福永修司、後藤佐多良 (東邦大・薬・生化学)

- 2 5) SMP30 is a unique enzyme that hydrolyzes DFP in the liver
SMP30 は肝臓で唯一の DFPase である
近藤嘉高^{1,2}、石神昭人¹、下門顕太郎²、丸山直記¹
(¹都老人研・加齢臓器障害研究 G、²東京医歯・院 血流制御内科学)

- 2 6) Age-related increase in the incidence of albuminuria and changes of cubilin and megalin the kidney of F344 rats
老齢 F344 ラットにおけるアルブミン尿症発症と腎臓 cubilin、megalin の変化
大寺恵子、高橋良哉、後藤佐多良 (東邦大・薬・生化学)

- 2 7) Mammalian D-aspartyl endopeptidase: a scavenger for noxious racemized proteins in aging
哺乳類のD-アスパラギン酸含有蛋白質分解酵素について
木野内忠稔¹、香川靖雄²、浜本敏郎¹
(¹自治医科大・生化学・機能生化学、²女子栄養大・医化学)

口演発表：酸化ストレス I (座長：石井 直明) 11:05~11:30

- 2 8) Analysis of signaling pathway mediated by superoxide anion from mitochondria.
ミトコンドリアからの活性酸素が起因となるシグナル伝達経路の解析
宮沢 正樹、石井 恭正、安田 佳代、石井 直明 (東海大・医・分生2)

- 2 9) Characterization of paraquat-resistant mutants in nematode *Caenorhabditis elegans*
線虫 *Caenorhabditis elegans* のパラコート耐性変異体の解析
藤井道彦¹、三木健輔¹、石井直明²、鮎沢大¹ (¹横浜市大・木原研、²東海大・医・分生2)

- 3 0) Effect of Chinese prescription Kangen-karyu on human fibroblast cells
ヒト線維芽細胞における冠元顆粒の影響
佐藤亜希子¹、趙 恩珠^{1,2}、横澤隆子¹
(¹富山医薬大・和漢薬研究所、²Dept. Food Science and Nutrition, Pusan National Univ)

- 3 1) Mechanism of oxidative stress-induced GADD153 expression in Jurkat cells
酸化ストレスによる Jurkat 細胞への GADD153 の誘導とその機構解明
大橋憲太郎^{1,2}、木内一壽¹、磯部健一² (¹岐阜大・工・生命情報工学1、²長寿医療セ・老化機構研究)

- 3 2) Evaluation of the reactive oxygen formation in living brain slices using real-time radiography
リアルタイムバイオラジオグラフィ法を用いた脳生スライスの活性酸素発生量の解析
佐々木徹¹、磯千恵子^{1,2}、清水孝彦³、内山智³、白澤卓二³、小島周二²
(都老人研 ¹ポジトロン医学、³分子老化、²東京理科大・薬放射薬品)

口演発表：酸化ストレス II (座長：金子 孝夫) 11:30~11:50

- 3 3) Stress response in the reduced GH-IGF1 axis rat: relation to calorie restriction
長寿命 GH-IGF1 抑制ラットにおけるストレス応答：カロリー制限との比較
小松利光、後田洋子、山座治義、黨 和夫、遠山啓亮、林田隆広、樋上賀一、下川 功
(長崎大・院 医歯薬学総合研究科医療科学専攻(病理学・老化学))

- 3 4) Anti-oxidant enzyme activities in tissues of spontaneous dwarf rats
自然発症矮小ラットの抗酸化酵素活性について
近藤 昊¹、新海 正¹、田原正一¹、倉本和直²、服部明德³、金子孝夫¹
(都老人研 ¹老化レドックス制御、²動物施設、³都老人医療センター)

- 3 5) Estrogen and Insulin signaling regulate resistance to oxidative stress in mice
エストロゲンシグナルとインスリンシグナルはマウスの酸化ストレス耐性能を調節している
清水孝彦、馬場智規、桑原宏朋、小河原緑、白澤卓二 (都老人研・分子老化研究G)

- 3 6) Effects of Aging on Proteins Responsive to Oxidative Stress
酸化ストレスによるタンパク発現変化に及ぼす加齢の影響
三浦ゆり¹、加納まゆみ¹、戸田年総²、浦野四郎³、鈴木捷三¹
(都老人研 ¹老化レドックス、²プロテオーム、³芝浦工業大)

昼 食 11:50~13:10
<< 評議員会(口頭会場にて) 12:00~13:00 >>

総 会 13:10~13:50

シンポジウム II: 老化と癌 14:00~16:10
(座長: 北川 昌伸 (SII-1, SII-2)、新井 富生(SII-3, SII-4))

SII-1 Clinicopathologic and molecular characteristics of carcinoma of the gastrointestinal tract in the elderly
高齢者消化管癌の臨床病理学的、分子病理学的特徴
新井富生 (東京都老人医療センター病理部門)

SII-2 DNA methylation in cancer and aging
老化と癌化におけるメチル化の役割
湯浅保仁 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科・分子腫瘍医学)

休 憩 15:00~15:10

SII-3 Tumor spectrum in Werner syndrome and its genetic epidemiology using a Japanese founder mutation
早老症 Werner 症候群に発生した腫瘍のスペクトルおよび日本人の founder mutation と分子疫学
石川 雄一 (財団法人癌研究会癌研究所・病理部)

SII-4 Host aging effects on carcinogenesis
宿主の加齢変化と発癌
北川 昌伸、宇津山 正典、廣川 勝昱 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科・包括病理学分野)

休 憩 16:10~16:30

口演発表: 脳 I (座長: 城川 哲也) 16:30~16:55

3.7) Age-Dependent Changes In Cortical Serotonergic And Noradrenergic Axon Terminals In F344 Rats
F344 ラットの脳前頭葉におけるセロトニンおよびノルアドレナリン神経終末の加齢変化
中井 定、城川哲也、磯部健一 (長寿医療セ・老化機構研究)

3.8) Different age-dependent changes of noradrenergic innervations between hippocampus and frontal cortex.
ラット海馬回と前頭葉におけるノルアドレナリン系の加齢変化の違い
松永 渉、城川哲也、磯部健一 (長寿医療セ・老化機構研究)

3.9) Improvement of brain monoamines and immunity of aged mice by Japanese herbal medicine
老齢マウスにおける漢方補剤投与による脳内モノアミン量への影響
常深あきさ¹、宇津山正典¹、小林 悟²、廣川 勝昱¹
(¹東京医歯大・院・包括病理学、²都老人研・脳機能改善G)

4.0) Diameter of the cerebral cortical parenchymal microvessels increases during stimulating the nucleus basalis of Meynert in adult rats.
大脳皮質実質内微小血管の直径は、成熟ラットのマイネルト核刺激中に増加する
金井千恵子、堀田晴美、内田さえ、神田健郎 (都老人研 運動・自律機能相関研究G)

4 1) Age-related changes in growth hormone (GH) cells in the pituitary gland of male mice are mediated by GH-releasing hormone but not by somatostatin in the hypothalamus.

雄マウス下垂体成長ホルモン細胞の加齢変化は、視床下部のソマトスタチンではなく、成長ホルモン放出ホルモンの作用を受ける

桑原佐知^{1,2}、塚本康浩¹、田中慎²、佐々木文彦¹ (¹大阪府大・院・獣医解剖学、²長寿医療セ・加齢動物育成室)

口演発表：脳 II (座長：細川 昌則)

16:55~17:15

4 2) Comparative study of hippocampal synaptosome proteins between young-adult and aged rats with 2D-PAGE

老化に伴うラット海馬シナプトソーム蛋白質変化の解析

佐藤樹台¹、山中秀徳²、鈴木佑典³、鈴木實³、戸田年総¹、鈴木明身³、篠原康郎²、遠藤玉夫¹

(都老人研¹糖蛋白質、¹プロテオーム、²アマシャム・バイオサイエンス、³理研・フロンティア)

4 3) Age-related brain pathology in SAM mice: Cytoplasmic ubiquitinated inclusions and nuclear DNA damage

SAMマウスの脳老化病変：細胞質内ユビキチン化封入体と核内DNA傷害

島田厚良、佐藤衛、千葉陽一、齋藤優子、慶野裕美、河村則子、細川昌則

(愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部)

4 4) Accumulation of mtDNA A3243G mutation in brain tissues

脳組織におけるミトコンドリア DNA A3243G 変異の蓄積についての解析

針原伸二^{1,2}、仲村賢一²、田久保海蒼²、竹内二士夫³ (東京大¹理・生物、³病院・内科、²都老人研・高齢者組織G)

4 5) The mechanism of neuroprotection by propargylamines

Propargylamine 化合物による神経保護の分子メカニズム

丸山和佳子¹、永井雅代¹、磯部健一²

(長寿医療センター¹老化機構研究部・代謝、²老化機構研究部)

口演発表：脳 III (座長：浦野 四郎)

17:15~17:30

4 6) Appearance of β -amyloid-like substances in rats caused by oxidative stress and aging

酸化ストレスと老化によるラット海馬領における β -アミロイド様物質の発現について

新井秀和¹、福井浩二¹、高津博勝¹、高橋武幸¹、新海 正²、阿部皓一³浦野四郎

(¹芝浦工大・生物化学、²都老人研、³エーザイ)

4 7) Distinct expression patterns of calyntenin family in cerebral cortical neurons treated with β -amyloid

β アミロイドによる Calyntenin family 遺伝子の選択的発現制御

内田洋子、中野俊一郎、五味不二也 (都老人研・老年病ゲノムG)

4 8) Alzheimer's disease and deiminated proteins

アルツハイマー病の発症における脱イミノ化蛋白質の関与

石神昭人¹、田口ひろみ¹、小林沙織¹、大澤多加子²、齋藤裕子³、村山繁雄³、丸山直記¹

(都老人研¹加齢臓器障害研究G、²遺伝子情報研究G、³老化臨床神経科学研究G)

若手奨励賞授与式

17:30~

閉会の挨拶 廣川 勝昱・大会長

**日本基礎老化学会第27回大会
発表抄録**

Abstracts

The 27th Annual Meeting of
The Japan Society for Biomedical Gerontology

Age and Immunity

Graham Pawelec, University of Tubingen, Tubingen, Germany

Like other organ systems, the immune system does not escape the ageing process. Moreover, a strong argument can be made for the view that age-associated altered immunological behaviour contributes to ageing of other tissues and to age-associated diseases including dementias and cardiovascular pathologies. Infections in the elderly are not only more frequent but also more severe than in the young, and reasons for this are likely to include immunosenescence, a term referring to the age-associated decline of the immune system, particularly the T cell compartment. Infection itself can also be the cause of immunosenescence, as chronic exposure to antigens (which occurs in chronic infections like HIV, and also in autoimmune diseases and cancer.) may lead to T cell clonal exhaustion reflecting the inability of T cell clones to divide indefinitely.

As will be discussed in detail during this session by Dr. Utsuyama, aged individuals have a decreased or negligible output of naive T cells from the thymus, which undergoes age-associated degeneration. The shrinking of the T cell repertoire caused by decreased production of naive T cells, together with an accumulation of dysfunctional memory cells, may increase the susceptibility of the elderly to infection with new pathogens against which specific T cells are absent. At the same time, dysregulation of peripheral immunity and suboptimal functioning of thymic T cell selection increases the level of autoreactivity in the elderly, as discussed by Drs. Hayashi, Nomura and Sakaguchi. We are now beginning to appreciate the potential clinical relevance of immune system status in the elderly. As discussed by Dr. Wikby, longitudinal studies of the very old reveal a cluster of immunological parameters, collectively the "immune risk profile, IRP" which predicts incipient mortality in that population. Clonal expansions and dysfunction of CD8 cells specific for CMV, and to a lesser extent EBV, seem to play a major role in determining the risk phenotype. The accumulation of dysfunctional virus-specific T cells bearing many of the hallmarks of replicatively-senescent cells appears to have a major impact on

remaining lifespan. Manipulation of such cells in vivo might offer remedial advantages to those individuals within the IRP group. To maintain functional integrity, the adaptive immune system depends upon waves of clonal expansion and contraction in response to differing levels of antigenic stress. T cell signalling deficits and age-associated changes, as discussed here by Dr. Fulop, will have a profound affect on immune function. Dysregulation of these processes will result in imbalance and malfunction of immunity. T cell clonal cultures provide a model for clonal expansion and contraction, and a tool for seeking biomarkers of ageing which can be validated in vivo. CD28 expression and function is one such well-known marker, important for T cell function, but other molecules such as the negative NK receptors, may be even more critical, as discussed by Dr. Solana. The clonal model also allows for the experimental manipulation of T cells with the aim of modifying their functional longevity. Some success has been achieved in this respect with antibodies neutralising cytokines like TNF- α , as well as with antioxidants. Telomere shortening and oxidative damage to DNA further compromise function but may be preventable in different ways, eg. by transfecting hTERT, proteasome component or heat shock protein genes. Longevity extension in vitro would of itself also be interesting for applications in adoptive immunotherapy.

The accelerating pace of research into immunity and ageing gives cause for optimism that the wide-ranging contribution of immune dysfunction not only to morbidity and mortality due to infectious disease but also to a multitude of other age-associated diseases in which dysregulated inflammatory and autoimmune processes may play critical roles, will soon be better understood and become susceptible to rational manipulation to increase health in old age.

シンポジウム I

S 1 - 1

Role of thymus in immunological ageing

Masanori Utsuyama and Katsuike Hirokawa
Department of Comprehensive Pathology, Tokyo Medical & Dental University Graduate School

The decline of immune function does not develop abruptly in the old age, but gradually starts as early as puberty. This age-related decline occurs mainly in the T cell compartment. One of the major causes of the immunological decline is thymic atrophy starting as early as at the 1st decade.

The activity of the thymus to promote T cell differentiation is high in the newborn but quickly declines thereafter. The importance of thymus can be observed in radiation bone marrow chimera constructed by young and old mice. Among 8 combinations of host mice / bone marrow / thymus, the high immune response is always seen in mice with young thymus. In practice, implantation of newborn thymus can extend the mean life span of ageing mice 100 days from 742 to 842 days.

Thus it is important to know the mechanism of thymic functional decline starting at the early phase of life. For this purpose we are searching for genes or factors that are expressed in thymic stromal tissue of newborn mice and quickly decline after the birth.

Firstly we surveyed factors or genes responsible for T cell differentiation by a panel of monoclonal antibodies inhibiting T cell differentiation in fetal thymic organ culture. By this method, we identified several novel molecules playing important roles in T cell differentiation in the thymic microenvironment.

The second approach is a DNA array-based method. We focused on mRNAs expressed in thymic stromal tissues cells and selected genes which are highly expressed in newborn thymus and declining thereafter. We are now examining function of about 50 candidate genes identified by this method.

The final goal of this program is to reconstruct the thymic microenvironment showing high capacity of T cell differentiation. For the reconstruction, we are using many thymic epithelial cell lines and will report the present situation how T cell differentiation can be driven in our system.

Our hypothesis is that thymic reconstruction would be greatly beneficial for the immunological restoration of the elderly people.

S 1 - 2

CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance and negative control of immune responses

Takashi Nomura and Shimon Sakaguchi
Department of Experimental Pathology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

Accumulating evidence supports a critical role of naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T (T_R) cells in the maintenance of self-tolerance and negative control of immune responses to non-self-antigens. Developmental or functional abnormality of CD25⁺CD4⁺ T_R cells, which constitute 5 to 10 % of CD4⁺ T cells in normal naive animals, leads to the development of various autoimmune diseases, inflammatory bowel disease and allergy in humans, as observed in IPEX (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome). CD25⁺CD4⁺ natural T_R cells are at least in part produced by the normal thymus as a functionally mature and distinct subpopulation of T cells. FOXP3, the causative gene of IPEX, is a master control gene for the development and function of natural T_R cells. This unique T cell subpopulation can be exploited to control pathological as well as physiological immune responses including tumor immunity, transplantation tolerance, and microbial immunity.

Lipid rafts and T cells activation: effect of aging

Tamas Fulop¹, Anis Larbi¹, Abdelouahed Khalil, Gilles Dupuis^{1,2} (Research Center on Aging and ¹ Immunology program, ²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Sherbrooke, 1036, rue Belvedere sud, Sherbrooke, Qc, J1H 4C4, Canada. E-mail: tamas.fulop@Usherbrooke.ca)

Aging is associated with a decline in T-cell activation and proliferation, however the underlying mechanisms are not fully understood. Recent findings suggest that cholesterol-enriched microdomains called lipid rafts act as a platform in the initiation of T-cell activation by formation of the initial complex of signal transduction. Since lipid rafts are the earliest events in T cell signaling we tested the hypothesis that lipid raft properties are altered in T lymphocytes from elderly individuals. We studied the composition in lipids and signaling molecules of the T cell membrane, the coalescence of lipid rafts, the fluidity and cytokine production. Results showed that the cholesterol content of lipid rafts derived from T cells was consistently higher in the case of elderly donors and that membrane fluidity was decreased. In addition, lipid rafts coalescence and signalling molecules recruitment to the site of TCR engagement was impaired in T-cells from elderly donors. Studies in CD4⁺ and CD8⁺ subsets show differential alterations in relation to lipid rafts functions. Contrary to CD4⁺ T cells, CD8⁺ did not show coalescence upon stimulation. Thus, CD4⁺ T cells are dependent on lipid rafts for activation, while CD8⁺ T cells are not. Our data suggest that some properties of lipid rafts are altered in aging and the differences observed in T cells subsets suggest different roles of lipid rafts in lymphocytes signaling as well as in immunosenescence. The CD4⁺ T cells are the more affected by the aging process in their function.

The Swedish OCTO and NONA immune longitudinal studies: Development of the concept of an immune risk phenotype

A Wikby^a, J Strindhall^a, G Pawelec^b, R Forsey^c, Y Barnett^d, F Ferguson^e and B Johansson^f (^aSchool of Health Sciences, Jonkoping Univ., Sweden, ^bUniv. of Tubingen Medical School Tubingen, Germany, ^cUnilever Research, Sharnbrook, UK, ^dUniv. of Nottingham, UK ^ePenn State Univ, USA, ^fUniv. of Goteborg, Sweden)

In 1989 we started the OCTO immune longitudinal study in Jonkoping, Sweden, to study changes in the immune system in a sample of very old individuals. It was an integrated part of the population-based OCTO longitudinal study on bio-behavioural ageing, allowing us to associate changes in the immune system with other variables across 2-year measurement occasions. Inclusion criteria were set to include individuals that were non-institutionalised, with normal or only mild cognitive dysfunctioning and not on a drug regimen that might influence the immune system (n=102). We identified an immune risk phenotype (IRP) with high CD8⁺, low CD4⁺ and poor proliferative response associated with increased mortality, inversion of the CD4/CD8 ratio and evidence of persistent cytomegalovirus (CMV) infection. These findings constituted the rationale for the ongoing NONA immune longitudinal study that started in 1999 as an integrated part of the NONA longitudinal study initiated to examine the disablement process in late life. In the NONA immune, using no exclusion criteria we examine a sample of 138 individuals, aged 86-94 years at baseline. The aims are to further examine predictive factors for longevity in a broader context of health and cognitive functioning. The immune components include analysis of T cell subsets, virus serology, cytokines, MHC/peptide tetramers to analyse the number of virus specific CD8⁺ cells, DNA damage and defence and TCR clonotype mapping in collaborations with several laboratories within the EU funded T-CIA project. The presentation will review results from the OCTO and NONA longitudinal immune studies with focus on the IRP and associations with persistent virus infection, CD8⁺ T-cell differentiation, proliferative response and cognitive functioning.

Accelerated Autoimmunity Developing in Sjogren's Syndrome Mouse Model with Aging via Bystander T Cell Activation

Yoshio Hayashi, Naozumi Ishimaru, Rieko Arakaki
Department of Pathology, Tokushima University School of Dentistry, 3 Kuramotocho, Tokushima 770-8504, Japan.

The aim of this study was to evaluate the age-related changes in Sjogren's syndrome (SS) mouse model focused on extraglandular manifestations including rheumatoid arthritis (RA). Severe autoimmune arthritis developed in aging SS model mice until 24-months-old in association with epitope spreading of a-fodrin autoantigen and bystander T cell activation. A significant elevation in serum rheumatoid factor (RF), autoantibody against ss-DNA, and chicken type II collagen (CII) was found in aging SS model mice. A high titer of serum autoantibodies against a-fodrin autoantigen fragments containing different epitope from primary SS was frequently detected in aged SS model, and splenic T cell culture supernatants from aged model contained high level of interleukin (IL)-2, and IFN- γ . In vitro T cell apoptosis assay indicated that Fas-mediated activation-induced cell death (AICD) is dysregulated by autoantigen stimulation in splenic T cells from aged SS model.

In aged SS model, significant proliferative T cell responses to CII and a-fodrin fragments containing different epitope were detected using splenic T cells. Moreover, we found that a-fodrin autoantigen induces Th1-immune responses, and accelerates disturbance of Fas-mediated T cell apoptosis in aged SS model. These results indicate that age-associated disturbance of AICD with epitope spreading may play a crucial role on the development of autoimmune arthritis in a murine SS model with aging.

K and NK/T cells in human healthy aging.

Rafael Solana. Department of Immunology. "Reina Sofia" University Hospital. University of Cordoba. Av. Menendez Pidal s/n, E-14004 Cordoba, Spain.

Immunosenescence refers to the deterioration of the immune response associated with aging. It is characterized by a defective T cell proliferation and IL-2 secretion in response to antigens or mitogens, but the number and function of other cells of the innate immune system are also altered in aging. Age-associated alterations have been demonstrated in natural killer (NK) cells. NK cells play a significant role in the defense against infections as a consequence of both their cytotoxic capacity and the cytokines produced. NK cell cytotoxicity mediated by peripheral blood lymphocytes is well preserved in healthy elderly people. However, a progressive increase in the percentage of NK cells with a mature phenotype in peripheral blood of these individuals is also observed in aging indicating that NK cytotoxicity calculated on a per cell basis is significantly impaired. NK cell proliferation, expression of CD69 and killing of NK-resistant cell lines in response to IL-2 or other cytokines are also decreased in aging whereas other NK cell functions such as TNF- α production or perforin induction are not significantly altered, indicating that ageing is associated to a defective functional capacity of NK cells that is partially compensated by an increased number of mature NK cells. The clinical relevance of the altered NK cell function in aging is shown in studies that demonstrate that low NK cell number or function associate to infections and increased mortality risk. We have also observed the expansion of a T cell subset co-expressing NK cell markers in aging, suggesting that a shift in lymphocyte population from ab T lymphocytes to NK and NK/T cells. However we have shown that the number of CD1-restricted NKT cells defined by the expression of Valpha24-Vbeta11 T cell receptor is decreased in healthy elderly individuals. On the contrary the increased number of T cells that co-express NK cell markers in ageing is due to the expansion of CD8+CD28null T lymphocytes, with short telomeres. These cells have a phenotype of effector-memory cells (CCR7nullCD45RAnull), that show an expansion of 7.1 times compared with the number of effector memory cells from young donors, and effector T cells (CCR7nullCD45RA+), that show an expansion of 1.7 times. The results show that there is a different distribution of the memory subset from CD8+CD28- cells from young and old donors. A significant increase of the effector-memory subset was found in the elderly when compared with young. The increased expression of NK associated receptors on T cells previously shown in the elderly is associated to the expansion of these CD28negative CD8 T cells. We also have shown a significant expansion of CMV specific T cells in the elderly that are included in the CD28 negative subset. Taken together these results support that the increased expression of NK-associated receptors on T cells from elderly donors is due the accumulation of the memory-effector and effector CD8 T cells that are apoptosis-resistant and have undergone a process of replicative senescence. This expansion could be due to the chronic antigenic stimulation due to the presence of latent viruses as CMV.

シンポジウム II

S II - 1

Clinicopathologic and molecular characteristics of carcinoma of the gastrointestinal tract in the elderly

新井 富生

東京都老人医療センター病理部門

加齢とともに癌発生率が高くなる。本来老化と癌化は異なる現象であるが、DNA損傷の蓄積に関連するという共通点がある。そこでDNA損傷を修復する分子機構に注目し、高齢者消化管癌のうち胃癌、十二指腸癌、大腸癌を対象として臨床病理学的、分子病理学的に検討した。まず臨床病理学的に、高齢者癌は若年者癌に比較し発生部位、組織型、多発癌発生率、リンパ節転移率などに差異が認められた。加齢に伴い、胃癌では下部1/3発生・高分化腺癌・多発癌が、十二指腸癌では第1部発生が、大腸癌では右側結腸発生・粘液癌・低分化腺癌が増加した。次に、高齢者胃癌、大腸癌の発生機序に修復機構がどう関与しているかについてミスマッチ修復遺伝子に注目し検討した。胃癌では加齢に伴いhMLH1蛋白発現減弱例が増加した。hMLH1蛋白減弱・マイクロサテライト不安定性を示す胃癌は充実型低分化腺癌・下部発生・高齢女性に多くみられた。一方、高齢者大腸癌では低分化腺癌の約2/3、粘液癌の約1/2にhMLH1蛋白発現減弱、マイクロサテライト不安定性、hMLH1プロモーター領域メチル化との関連が認められた。これらの特徴を示す低分化腺癌は組織学的に大部分medullary typeに分類された。Medullary type低分化腺癌は、右側結腸発生、分化成分の併存、腫瘍周辺の炎症細胞浸潤、低リンパ節転移率、比較的良好な予後など特異な臨床病理像を示し、高齢女性に集積する傾向があった。以上のように、高齢者消化管癌は若年者癌と異なる臨床病理像を示し、その発生機序も若年者と異なる腫瘍が存在する可能性が示された。また、高齢者消化管癌の一部は修復遺伝子のメチル化などepigenetic eventが関与する症例が加齢とともに増加する可能性が示唆された。

Keywords 高齢者 胃癌、大腸癌、ミスマッチ修復遺伝子、マイクロサテライト不安定性、メチル化

S II - 2

DNA methylation in cancer and aging

湯浅 保仁

東京医科歯科大学医歯学総合研究科分子腫瘍医学

高齢者になるほど癌の頻度は高くなるが、その理由として突然変異の蓄積、テロメアの異常、免疫異常などの複合的影響が考えられる。さらに近年、DNAメチル化によるエピジェネティックな遺伝子の発現抑制も、癌化機構の一つとして注目されており、高齢になるほどメチル化の頻度があがるという報告もある。遺伝子発現の抑制に関与するメチル化は、遺伝子のプロモーター領域にある塩基CとGがくり返す配列(CpGアイランドと呼ばれる)におこる。

癌化に関連する遺伝子には、癌遺伝子、癌抑制遺伝子、DNA修復遺伝子がある。メチル化を受けて発現が抑制され癌化に関与するのは、APC, BRCA1, CDH1, p16などの癌抑制遺伝子と、hMLH1, MGMTなどのDNA修復遺伝子である。

数年前からエストロゲンレセプター遺伝子などで、高齢化に伴いメチル化頻度があがることが報告されている。我々が、胃癌においてhMLH1のメチル化と年齢との関係を調べた結果、高齢になるほどメチル化頻度があがった。メチル化も高齢者に癌が多いことの原因の一つかもしれない。

我々は最近、胃癌患者の生活習慣とメチル化頻度との関連を解析した。その結果、緑茶や十字架野菜の摂取が多い患者では、メチル化頻度が低かった。故に生活習慣の改善によりメチル化の軽減、ひいては癌予防の可能性もある。

Keywords: methylation, cancer, tumor suppressor gene, diet

Tumor spectrum in Werner syndrome and its genetic epidemiology using a Japanese founder mutation

石川 雄一

(財) 癌研究会癌研究所病理部

成人型早老症として知られるWerner症候群は、RecQ helicaseの一つ WRNの変異によって生じる常染色体劣性遺伝病で、思春期以降さまざまな老化兆候を示し、平均寿命は46才である。また、癌の好発という点でも注目されている。Werner症候群は世界で約1100例の報告があるが、興味深いことにその80%以上が日本人である。その理由は、日本人特有の変異型 (founder mutationと考えられる。mut4と呼ぶ) が我が国で多いこと (60%以上)、近親結婚が多いことなどがある。

Werner症候群にどのような腫瘍が発生するのかを調べた結果、甲状腺癌、骨腫瘍、軟部腫瘍、メラノーマ、白血病 (及び前駆状態)、髄膜腫の、計6種類の腫瘍が頻発していた。一般の高齢者に多い肺癌、大腸癌、前立腺癌などは少なかった。

これらのうち、骨肉腫については我が国で報告されている12例の内の10例を収集して、病理組織学的に詳細に検討した結果、総じて成人型の骨肉腫ではあるものの、手足の先端に好発するなど発生部位が特異であること、若年型のような「典型的組織像」(骨-、軟骨-、線維-形成性) のものが多いなどの特徴があった。

甲状腺癌では、日本人26症例をまとめた結果、濾胞癌:乳頭癌:未分化癌=35:48:13 (%) (一般集団では78:14:2 (%)) と濾胞癌が多く、さらに乳頭癌は変異がhelicase領域の上流に、濾胞癌は下流にあるという、遺伝子型-表現型の関係が示唆された。

Werner症候群は日本で特に多く、分布は全国に亘っているが、人種的に近縁の韓国からは報告が無い。この理由を解明するため、韓国のソウル、光州、釜山で一般人でのmut4の頻度を検索した。その結果、釜山で1/1000、ソウル、光州ではいずれも0/1000であった (日本の神奈川では6/1000)。韓国・中国では儒教の影響で近親婚がないが、mut4頻度もきわめて低いことが判明した。

Host aging effects on carcinogenesis

北川 昌伸、宇津山 正典、廣川 勝昱

(東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 老化制御学系 加齢制御医学講座 包括病理学分野)

宿主の加齢に伴って免疫系の機能低下が起こることは、これまでヒトの材料や様々な実験系を用いた検討で示されている。一方で加齢とともに癌の起こる頻度が高くなることも一般的な事実である。それでは宿主の加齢が癌化のメカニズムに及ぼす影響はどのようなものだろうか。ヒトの大腸癌における解析から、高齢者の癌は予後が悪いこと、癌細胞中の増殖細胞の頻度は高く、一方でアポトーシスも多いことがわかってきた。従って出来上がった癌の性格を見る限り、高齢者の癌は比較的良好な生物学的態度を示すという考えは検討しなおす必要があるようである。一般的に加齢に伴って様々な遺伝子異常の頻度が高くなることが示されている。従って、加齢個体では発癌に関連した遺伝子にも異常を起こすチャンスが多いため、癌が起こりやすくなるという可能性が考えられる。しかし、放射線誘発胸腺リンパ腫の実験系を用いた解析では必ずしもそのような結果は得られない。即ち、加齢宿主ではむしろ発癌が起こりにくく、この原因は胸腺上皮にあることがわかった。ところが、ウイルス発癌の実験系では加齢に伴って発癌の感受性は上昇することが示された。この結果は、免疫原性の高い腫瘍の発生には加齢宿主の免疫機能の低下が大きな影響を及ぼす可能性を示している。ヒトの癌は様々な原因、経過をとって起こる複雑な多因子性の疾患と考えられる。実験系から得られた結果によれば、発現のメカニズムの違いによって、また宿主の遺伝的背景の違いによって加齢と発癌の関係は多様な様式発現をするというのが真実に近いところであろう。本シンポジウムでは宿主の加齢変化と癌の性格・発癌様式に関連してこれまでに我々が行ってきた検討結果についてまとめてみたい。

Keywords: host, aging, colon cancer, carcinogenesis, radiation-induced carcinogenesis, virus-induced carcinogenesis

一般演題

J P - 1 Physics of Ageing Involving an Immune System (II)

根間幸美 (琉球大・理)
澤崎英正 (琉球大・理)

We would like to suggest a phenomenological description of human ageing processes involving an immune system by the physical consideration of defining an ageing-age for malignant neoplasm. The purpose of present study is to find the speed of ageing-age which calculated on the real Japanese mortality rate data published by the Ministry of Welfare in 1994. The speed of ageing-age calculated is actually measured for logarithm graph of age and ageing-age by measure.

The speed of human ageing-age for most malignant neoplasm is described as a degree of ageing, and have the peak of about 25 ages except for leukaemia, and decreased as like a function of stepwise.

Keywords ageing, thymus

J P - 3 Antibody-forming responses of cultured spleen cells to a protein antigen and function of presenting cells in SAMPI mice

木村 智美、細川 友秀
(京都教育大学・生命科学)

[目的] 老化促進モデルマウスでは、*in vitro* におけるタンパク抗原に対する免疫記憶発現の低反応性が若齢から顕著に見られる。そこで、SAMPI の抗原提示細胞に着目し、その機能について検討した。

[方法] 2~4 ヶ月齢の SAMPI/Kue マウスと C3H/He マウスを用い、OVA (卵白アルブミン) 10 μg を水酸化アルミニウムゲル 0.5 ml とともに、腹腔内注射を 2 度行い免疫記憶を誘導した。免疫刺激後、数回、採血を行ない、血清中の抗 OVA IgG 抗体価により、*in vivo* における免疫記憶形成を評価した。また、免疫記憶を誘導したマウスの脾臓細胞から付着性細胞を除去し、SAMPI または C3H/He の付着性腹腔渗出細胞を加え、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の OVA とともに 2 週間培養して、免疫記憶発現における抗原提示細胞の機能を比較した。免疫記憶発現の評価は、培養開始 1 週間と 2 週間の培養上清中の抗 OVA IgG 抗体価を ELISA 法により測定して行った。

[結果] 両系統間において、血清中の抗 OVA IgG 抗体価に差はほとんど見られなかった。また、C3H/He の付着性細胞を除去した脾臓細胞に C3H/He 及び SAMPI の付着性細胞を加えると、脾臓細胞のみの培養群と比較して、付着性細胞を得たマウスの系統に関わらず十分な免疫記憶発現が見られた。

[結論] SAMPI の *in vitro* におけるタンパク抗原に対する免疫記憶発現の低反応性の原因は、*in vivo* における記憶形成の不備ではなく、記憶発現の不備によることが示唆される。また、その原因は、抗原提示細胞の抗原提示機能の不備によるものであるとは考えにくい。

Keywords antigen presenting cell, adherent cell, SAMPI

J P - 2 Senescence B-lymphopoiesis is balanced in suppressive homeostasis: decreased in IL-7 and TGF- β levels in stromal cells of senescence-accelerated mice (SAM)

壺井 功^{1,2}、平林容子²、Li Guang-Xun²、平本 正樹¹、菅野 純²、相澤 信¹、井上 達³、日本大学医学部 解剖学¹、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部²・安全性生物試験研究センター³

老化に伴うB細胞造血の低下はB細胞前駆細胞(CFU-Pre-B)の造血刺激因子であるIL-7の産生低下とIL-7に対するCFU-Pre-Bの反応性の低下に起因すると考えられている。TGF- β はCFU-Pre-Bの増殖を抑制するが、興味あることにIL-7とTGF- β は間質系細胞に作用しお互いの産生を抑制することが知られている。今回我々は、老化促進モデルマウス(SAM)を用いて、両因子の相互関係に基づく老化に伴うB細胞造血の低下のメカニズムを検討した。結果として、通常のマウスの老化で認められるのと同様にSAMでも骨髄中のCFU-Pre-B数の低下が観察された。また、骨髄中のIL-7 mRNAの発現は加齢に伴い有意に低下していた。骨髄間質細胞の加齢に伴う造血抑制機能の変化を観察する目的で、若齢マウス由来のB細胞をIL-7存在下で、若齢および加齢マウス由来の骨髄間質細胞と共培養を行ったところ、加齢マウスの骨髄間質細胞は若齢マウスと比較し、CFU-Pre-Bの維持能と増殖抑制能が共に低下していた。共培養系に抗TGF- β 中和抗体を加えると、若齢マウスでは増殖が促進したが、加齢マウスでは増殖には変化が認められなかった。さらに、骨髄間質細胞の培養上清中のTGF- β 濃度をELISAで測定したところ、加齢マウスでは、若齢マウスと比較しTGF- β 濃度が有意に低下していた。これらの結果は、加齢マウスではTGF- β の産生が低下しているため、CFU-Pre-Bが分化増殖し結果的にCFU-Pre-Bの維持能が低下していると推測された。加齢に伴い骨髄間質細胞はB細胞造血に対する増殖因子であるIL-7と、抑制因子であるTGF- β の産生が共に低下し、加齢に伴うB細胞造血はsuppressive homeostasisの状態に移行しており、これらの骨髄間質細胞の機能低下が加齢に伴うB細胞造血の低下の原因であると考えられた。**Key words:** aging, senescence-accelerated mice(SAM), B-lymphopoiesis, IL-7, TGF- β

J P - 4 Regulatory effects of noradrenalin on the immune memory expression to a protein antigen of cultured spleen cells from antigen-primed mice ---Effects of aging---

細川友秀、廣重幸世、加藤なつみ
京都教育大・生命科学

[目的] 昨年の本学会において、抗体産生における免疫記憶の発現が交感神経伝達物質であるノルアドレナリン(NA)により、濃度依存的に促進および抑制されることを報告した。昨年は、免疫記憶の発現におけるNAへの反応性がドナーマウスの月齢により影響を受けるか検討し、加齢に伴いこの反応性が低下する傾向を認めたが明確な結論に至らなかった。今回、このNAへの反応性における加齢変化についてさらに検討し明確な結論を得ることを目的とした。

[方法] C3H/HeSlc マウスの2~3ヶ月(若齢群)、11~13ヶ月(成熟齢群)、23~24ヶ月齢(加齢群)を使用し、OVA(卵白アルブミン) 10 μg を水酸化アルミニウムゲル 0.5 ml とともに腹腔内に2回注射して免疫記憶を誘導した。マウスから脾臓細胞を得て、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のOVAと種々の濃度のNAを加えて2週間培養して免疫記憶を発現させ、1週間目と2週間目の培養上清中の抗OVA IgG抗体価をELISAにより測定した。

[結果] 若齢マウスの免疫記憶発現は、NA濃度 $3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ をピークとして $3.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ から $3.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ で顕著に増強された。成熟齢群では $3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ と $3.0 \times 10^{-1} \text{ M}$ の濃度のNAによって有意に増強されたが、その効果は若齢群に比べて小さく、 $3.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ では増強効果が認められなかった。さらに加齢群では $3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ での有意な増強も、 $3.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ での有意な抑制も見られなかった。

[結論] 1) T依存抗原に対する免疫記憶の発現規模はNAにより濃度依存的に調節される。2) このNAによる調節への反応性は個体の成熟と加齢により低下する。

Keywords protein antigen, immune memory expression, noradrenalin, aging

J P - 5 PMN rescue from apoptosis is defective with aging

Anis LARBI, Nadine DOUZIECH, Tamás FÜLÖP

Immunology program, Service de Gériatrie, Faculty of Medicine, University of Sherbrooke, Research Center on Aging, 1036 belvedere sud, J1H 3C4, Sherbrooke, Qc, Canada

Polymorphonuclear neutrophils (PMN) are the first cells attracted to the site of aggression. Upon arrival, PMN quickly initiate microbicidal functions including production of free radicals and proinflammatory cytokines, thereafter the acquired immune system is activated. PMN are short lived cells (18h) however their life can be extended with GM-CSF. The GM-CSFR signalling involves the MAPK, PI3K as well as the JAK/STAT pathway. Human aging has been associated with a decline in the acquired immune system functions, especially T lymphocytes, however there is little data concerning the functions of cells involved in innate immunity. Thus, we were interested in neutrophils ability to respond efficiently to stimulations (LPS) as well as their survival capacities (GM-CSF). We separated PMN from healthy young and elderly donors. First, we analyzed by flow cytometry surface markers expression and found that Fas and Fas-L were overexpressed in PMN from elderly donors. This was associated with a higher susceptibility to apoptosis for PMN from elderly donors as shown by Annexin-V labelling. Moreover, GM-CSF which is known to delay apoptosis is shown here to downregulate the expression of Fas after 18h of stimulation (from 93 % to 41%) in PMN of young subjects. However, we found that GM-CSF has no effects on Fas downregulation on PMN from elderly donors. We next analyzed whether defects in intracellular signalling could explain the defects in response to GM-CSF. We found that ERK1/2 were phosphorylated to a lower extent, whereas p38 activation was delayed in time. Concerning the JAK/STAT pathway, we found here that JAK2 phosphorylation is decreased in PMN from elderly donors explaining in part the alterations of the PMN response to GM-CSF. We showed in this study defects in intracellular signalling, in survival and changes in surface markers expression all leading to a decline in PMN functions with aging. These changes in PMN functions may have critical consequences in their antimicrobial activity as well as in the local inflammatory state.

J P - 7 Reduction of Saccharide by Lactic Acid Bacteria in Diabetes KK-Ay Mouse

河合 康雄¹⁾, J.B.Moloney²⁾, R.J.Tello³⁾, F. Deinhardt⁴⁾

¹⁾河合乳酸球菌研究所, ²⁾NCI, Baltimore, USA. ³⁾Medical Center, Denver, USA. ⁴⁾Rush Medical Univ. & Univ. of Illinois, USA

各種乳酸菌群の中で、エンテロコッカス属に限って、糖尿病KK-Ayマウスを使って、その低下作用のスクリーニングを行った。糖尿病は、生活習慣病の予備軍といわれてきているが、安全で副作用のない食品は未だ見出されていない。そこで、我々は人の腸内細菌から、採取した乳酸菌エンテロコッカス属に限定して、その効果を糖尿病マウスを使って実験した。

実験動物は、4週令のKK-Ay雄性マウス(日本クレア社)を購入し、2週間の予備飼育の後に実験に供した。実験材料:乳酸菌エンテロコッカス属の典型的種であるエンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・エビウム、エンテロコッカス・デュランス、エンテロコッカス・サリバリウス、エンテロコッカス・ミテイス、エンテロコッカス・イクイヌスの7種を使用した。培養方法:上記乳酸菌エンテロコッカスの7種をRogosa液体培養にて37℃、18時間好気的に静置培養し、得られた菌体を生理食塩水(0.85% NaCl水溶液)で3回洗浄し、採集菌体とした。抽出操作:前記採集菌体を生理食塩水に懸濁し、115℃で10分間加熱し、菌体の破壊と熱水抽出を行った後、乾燥し死菌体として使用した。実験方法:前記、各死菌体80mgを1mlの生理食塩水に懸濁し、糖尿病マウスKK-Ayにノンデ、1日3回80日間におたって供与した。結果:乳酸菌エンテロコッカス属の7種の中で、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・エビウムに血糖値低下作用が見られ、特にエンテロコッカス・フェカリス、カワイ株では、約45%の著しい血糖値の低下が見られた。さらにエンテロコッカス・フェシウムでも52%の顕著な血糖値の低下が見られた。エンテロコッカス・エビウムでは36%の顕著な血糖値の低下が見られた。

以上の結果について、詳細に報告する。

[Keyword]Diabetes; Enterococcus; Reduction of saccharide;

J P - 6 Effects of Composite Group Drumming on Modulation of Immune Parameters

和智正忠¹⁾, 小山雅寛²⁾, 宇津山正典¹⁾, 廣川勝晃¹⁾

¹⁾東京医科歯科大学大学院・歯学総合研究科・包括病理学
²⁾ヤマハ株式会社

【目的】高齢者のウェルネスと QOL 向上への寄与を目的とした複合的グループドラミングプロトコルが米国で開発され、それによる NK 細胞活性の上昇が報告された。本研究では手始めとして日本企業の従業員を被験者としてその追試を行い、かつ測定項目を追加してその効果の確認を目指した。

【方法】ボランティア男性 40 名の健康被験者を、年齢を一致させてグループドラミング群(治療群)または安静対照群に 20 名ずつ無作為に割り付け、1 時間の介入の前後で末梢血採取と POMS アンケート調査を行った。末梢血一般検査、NK 細胞活性、細胞表面マーカー、およびサイトカイン mRNA 発現について測定した。

【結果と考察】各測定値の介入前後の変化を、log(介入後値/介入前値)で評価し、P<0.05 で統計的有意検定を行った。WBC,RBC,HB,HT 及び血小板数では治療群、対照群共に、僅かな上昇を示したが、その群間有意差は認められなかった(但し、WBC のみ群間 P<0.1)。POMS では“抑うつ・落ち込み”等のネガティブ5項目の一部に僅かな下降が、また治療群においてポジティブ項目の“活気”に僅かな上昇が見られたが、何れにも群間有意差は認められなかった(但し、活気のみ P≒0.1)。一方、NK 細胞活性変化では治療群の平均値が対照群に対し有意に上昇した。但し被験者個々の変化は介入前後との間に負の相関を示して一様でなく、介入前値に応じて上昇または下降する統計的傾向が見られた事は興味深い。尚、サイトカイン mRNA 発現と表面マーカーは解析中である。

(東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会承認済研究)

【共同研究者】倉田千弘²⁾, B. Bittman³⁾, L.S. Berk⁴⁾, 白石啓太⁵⁾
Mind-Body Wellness Center, PA, ³⁾School of Medicine, Loma Linda Univ., CA, ⁵⁾パーカッションスト

参考文献 B. Bittman et. al. J Altern Therapies 2001; 7(1):38-47

[Keywords] Drumming, Immune, NK Activity

J P - 8 Lack of stimulatory effect of orexin-A on food intake in old male rats (second report)

S.Takano^{1,2)}, H.Uematsu²⁾, S.Kanai¹⁾, H.Hosoya¹⁾, M.Ohta¹⁾, Y.Yoshida¹⁾, K.Miyasaka¹⁾ (Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology¹⁾, Tokyo Medical and Dental University²⁾)

Aging is associated with a progressive decrease in appetite and food intake. Orexins (both A and B), expressed in specific neurons of the lateral hypothalamic area, have been implicated in the regulation of sleep and feeding. In this study, the stimulatory effect of intracerebroventricular administration of the orexins on food intake was compared between young (4-month-old) and old (25-27-month-old) male Wistar rats. Food consumption was measured at 1, 2, and 4 hr after injection. The protein levels of orexin receptors (OX1R = a specific receptor for orexin-A, OX2R = a receptor for both orexin-A and -B) in the hypothalamus were determined by Western blotting and compared between young and old rats. Intracerebroventricular administration of orexin-A stimulated food intake in a dose-dependent manner in young rats. However, no effects were observed at any dose in old rats. The protein level of OX1R in the hypothalamus was significantly lower in old rats than in young, although the protein level of OX2R was comparable between groups. The present results indicate that the function of the orexin system is diminished in old rats. The decrease in the OX1R protein level in the hypothalamus could be responsible for orexin-A's lack of stimulation of food intake in old rats.

Keywords: orexin, food intake, age, rat, orexin receptor

J P - 9 Stimulatory effects of Bitter meron-malt vinegar and Kurozu on daily energy turnover in rats

関目綾子、金井節子、太田稔、細矢博子、高野紗恵子、宮坂京子
東京都老人総合研究所 生体機能調節と加齢研究グループ

にがりは沖縄県の特産品であり、沖縄の長寿を支えてきた要因のひとつであるといわれている。今回、にがり酢および黒酢エキス含有飼料を非インスリン依存性糖尿病(NIDDM)モデルラットである OLETF ラットおよび対照の LETO ラットに与え、にがり、黒酢がエネルギー代謝に及ぼす効果を調べた。

にがり酢、黒酢エキスの投与により体重は変化がみられなかったが、摂食量は OLETF、LETO ラットともに増加した。エネルギー消費量も OLETF、LETO ラットともに増加した。黒酢エキス投与 LETO ラットでは呼吸商(RQ)の低下が見られ、脂質に由来するエネルギー消費量の割合が増加し、脂質代謝が亢進したと考えられる。

エネルギー代謝の日内変動は正常ラットでは1日2回大きなエネルギー消費量の増加が認められるが、糖尿病を発症した24週齢の OLETF ラットではこのエネルギー代謝日内変動の2つのピークが消失する。にがり酢、黒酢エキス投与 OLETF ラットでは2峰性のエネルギー代謝の上昇が再現し、エネルギー代謝日内変動のパターンが正常化した。血中および血漿パラメータについてはヘモグロビン(Hb)A1c は変化がみられず、中性脂肪、インスリンは LETO ラットでのみ低下した。

これらの結果から、にがり酢、黒酢エキスの長期投与は NIDDM を予防、改善するほどの効果はないが、加齢に伴う基礎代謝の低下や食欲不振を抑制し健康長寿に有益である可能性が示唆された。

Keywords にがり 黒酢 NIDDM エネルギー代謝

J P - 10 Role of UCP in basal thermal homeostasis

山下 均¹⁾、汪 幼学¹⁾、紺谷康英²⁾、森 望¹⁾
¹⁾国立長寿医療センター研究所、老化制御研究部
²⁾金沢医科大学微生物講座

【背景】熱産生機能は、体温の調節・維持のみならず、エネルギーの備蓄と消費などと密接に係る重要な生理機能である。これらの熱産生機能の低下は、ヒトを含む加齢動物で一般的に認められる変化であり、耐寒性の低下や肥満の進展に関連することから生体での熱産生蛋白質の役割、加齢変化などに興味を持たれる。ミトコンドリア脱共役蛋白質(UCP1)は、非ふるえ熱産生の主要器官である褐色脂肪組織に特異的に存在する熱産生蛋白質であり、ヒトでは加齢と共に消退することが知られている。本研究は、UCP1-KO マウスを用いて老化と体温調節における UCP の役割を明らかにすることを目的とする。

【方法】UCP1-KO マウスと wild-type マウスの中心温度(直腸温)を3ヵ月齢より経時的に測定した。また、体表温度(尾背部皮膚温)をサーモグラフィにより解析した。各温度の測定は動物飼育施設内(23±1℃)で実施された。

【結果と考察】通常の飼育温度環境下において、KO マウスの直腸温、皮膚温は wild-type に比べて共に高く、KO マウスにおける恒温性維持機構の変化が示唆された。小さな環境温度の変化に対する反応性を調べるために、およそ2℃低い環境へマウスを移して皮膚温の変化を解析した。その結果、wild-type マウスの皮膚温は移動直後に低下した後時間と共に上昇したが、KO マウスの皮膚温は低下したまま推移し(熱放散の抑制)、室温環境下における小さな温度変化に対する体温調節に大きな違いがあることが明らかとなった。また、この熱放散反応の抑制は加齢と共に増大し、UCP1 非依存性熱産生の低下が示唆された。

【Key words】

Thermogenesis, UCP, heat release, Aging

J P - 11 Adaptive traits to cold exposure of young Senescence Accelerated mouse

山下剛徳^{1,2)}、千葉陽一²⁾、佐藤 衛²⁾、斉藤優子²⁾、花井敦子²⁾、島田厚良²⁾、中村榮太郎³⁾、細川昌則²⁾

¹⁾京大大学院人間・環境学研究所、²⁾愛知県コロンイ発達障害研究所病理学部、³⁾京大総合人間学部

【目的】外部温度への体温の適応は哺乳類の生命維持に不可欠であるが、加齢に伴い体温調節能は低下するといわれている。SAMPマウスは老化促進モデルマウスとして幅広い研究がなされているが、最近若齢時においてミトコンドリアの機能異常やミトコンドリア DNA の傷害の存在が報告されており、老化促進とエネルギー代謝との関連が示唆されている。そこで若齢の SAMP マウスの低温環境に対する体温調節能を検討した。【材料と方法】コンベンショナル条件下で飼育した SAMP1 マウス、SAMR1 マウス(共に3ヶ月齢の雄)を用いた。1日目は室温下で、2日目は3時間寒冷曝露を行った後、室温に戻した。体温・行動量・体密度の測定、Uncoupling protein 1 (UCP1) mRNA・血漿カテコールアミンの定量を行った。【結果】1日目室温時体温及び寒冷曝露中の最低体温に有意な系統差は認められなかったが、寒冷曝露後の2日目室温時平均体温は1日目に比べ SAMR1 マウスで有意に上昇していた。SAMP1 マウスの寒冷曝露中の体温低下速度が SAMR1 マウスよりも有意に遅かった。SAMP1 マウスの寒冷曝露中の行動量が室温時に比べ有意に増加した。UCP1 mRNA量は室温時及び寒冷曝露後において SAMP1 マウスの方が有意に多かった。室温時の SAMP1 マウスのノルエピネフリン量が SAMR1 マウスよりも有意に多かった。【考察】SAMP マウスは UCP1 熱産生能の低下により、低温環境下では活発な筋収縮が体温調節には必要であることが示唆され、系統独自の適応戦略の存在が明らかになった。

【Key words】適応、体温調節、SAM マウス、UCP1

J P - 12 Analysis of insulin signaling pathway in long-lived model rats: comparison of calorie restriction with the reduction of GH-IGF-1 axis

山座治義、野口 歩、小松利光、薫 和夫、遠山啓亮、千葉卓哉、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

【目的】動物の老化遅延・寿命延長に、グルコース-インスリン系の関与が指摘されている。長寿命実験モデルであるカロリー制限(CR)ラットおよび成長ホルモン(GH)-インスリン様成長因子(IGF)-1系抑制剤(tg/-)ラットでは、耐糖能試験中に、血中インスリンが上昇しないにもかかわらず、正常な耐糖能を示した。我々は、この2つの長寿モデルにおいてインスリンシグナル経路の特徴を解析した。

【材料と方法】一晩絶食させたラット腹腔内へグルコース投与し、1

5分後に組織を採取した。タンパク質の検出は免疫沈降法とウエスタンブロット法により、遺伝子発現は real time PCR 法により検索した。

【結果と考察】肝臓におけるタンパク質レベルでの検索において、インスリン受容体は対照群ではグルコース刺激に反応してそのリン酸化の程度が上昇したが、CR ラットでは変化が見られなかった。tg/-ラットではグルコース刺激によりリン酸化の程度が上昇する傾向であった。遺伝子発現の検索の結果、インスリン受容体は tg/-ラットで減少していた。glucose transporter 2 (GLUT2)は、CR ラットでは上昇していたが、tg/-ラットでは減少していた。以上の結果から、CR と GH-IGF-1系抑制におけるグルコース恒常性機構には、異なるメカニズムが関与していることが示唆された。

Keywords: Calorie restriction, GH-IGF-1 axis, insulin signaling pathway, glucose homeostasis

J P-13 Gene expression profile in mice white adipose tissue --effect of short-term and long-term caloric restriction --

樋上賀一¹⁾, Richard Weindruch²⁾, Thomas A Prolla³⁾, 下川 功¹⁾
¹⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内臓機能病態病理、²⁾University of Wisconsin-Madison

げっ歯類における長期食餌カロリー制限 (LCR) は、抗老化、寿命延長作用を示す。また、加齢に伴い体内脂肪組織量が増加し、インシュリン感受性が低下するが、LCR は、このような変化を抑制する。そこで、我々は、10 および 11 カ月齢雄の屠殺前 18 時間の絶食(F)群、屠殺 23 日前よりカロリー制限を開始した短期カロリー制限 (SCR) 群、生後 6 週からカロリー制限を開始した LCR 群およびコントロール (CO) 群の精巣上体周囲白色脂肪組織 (WAT) での遺伝子発現を、高密度 DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析した。F および SCR 群の屠殺前 24 時間の摂食量は、CO 群に比べ、有意に少なかつたものの、その遺伝子発現の違いは、僅かであった。一方、屠殺前 24 時間の摂食量が F および SCR 群とほぼ同量であった LCR 群では、CO 群に比べ、345 個の遺伝子発現 (WAT において発現している遺伝子の 5.5%) が有意に変化していた。このうち 120 個は、糖、アミノ酸、脂質およびミトコンドリアエネルギー代謝関連遺伝子であり、その 85%以上の発現が増加していた。一方、109 個は、炎症関連遺伝子と angiogenesis、細胞外物質および細胞骨格を含む構造関連遺伝子であり、その 95%以上の発現は減少していた。このような遺伝子発現の変化の一部は、in vitro での脂肪細胞の分化に伴う遺伝子発現の変化と同様であった。また、代謝関連遺伝子発現の変化の一部は、beta 3 adrenergic receptor の活性化とそれに引き続く PPAR gamma coactivator 1 の発現の増加およびレプチンの低下とそれに引き続く転写因子である SREBP1/ADD1 の発現の増加により説明可能であった。インシュリン感受性の増強等 LCR の作用に、WAT での代謝の活性化、炎症の抑制、構造の修飾が、重要であることが示唆され、短期間の摂食制限では、このような遺伝子発現の変化を再現する事ができなかった。

J P-15 Adaptation of the heart in energy-restricted mice in terms of gene expression

和田安彦, 西池珠子, 西村泰光, 井口弘
(兵庫医大, 衛生)

【目的】栄養素不足のない「エネルギー制限」(Energy restriction: ER)は、種の動物で唯一、再現性良く老化抑制・寿命延長効果の認められる介入手段である。この ER 下マウスでは 24h 周期で体温の低下 (25 度 C) と回復 (38 C) が繰り返されており、心拍数は毎分 690 回から 110 回の範囲で上下して。近年、この低体温が ER 下マウスの寿命延長に不可欠であることが明らかとなった。心臓は通常、低温に対して心室細胞発生等による脆弱性を有する。我々は、ER 下マウスの心筋細胞の静止膜電位が低温でも深く保たれるのを見いだし、何らかの積極的な適応現象が生じていると考えた。これらを見るため、本研究では cDNA マイクロアレイを用いて ER に特徴的な発現遺伝子を網羅的に検索した。

【材料と方法】6 週齢 B6 雄マウス 3 匹ずつを炭水化物のみ減量した制限食 (4 kcal/週)、コントロール (Ct) 食 (95 kcal/週) のいずれかで維持し、7 ヶ月齢で心臓を取り出した。total RNA を抽出し、ER、Ct 群それぞれ蛍光色素 Cy3、Cy5 標識した cDNA にし、一枚のチップ (6400 遺伝子) にハイブリダイスさせ、2 の蛍光量を比較した。これを 3 組行った。

【結果と考察】構造タンパクでは、細胞外マトリックス関係の遺伝子発現が増する一方、アクチン細胞骨格の安定化に関係する Tropomyosin が減少した。電気現象に関係したものは、いくつかのイオンチャンネルやイオンポンプ関連遺伝子に変化がみられた。以上から、ER 下の心臓では、心筋の構、心筋細胞の電気的な性質が、低エネルギーもしくは低温に適応した形変化している可能性が示唆された。

Keywords: hypothermia, structural proteins, ion channel, ion pump

J P-14 Alteration of fat metabolism related gene expression in calorie-restricted and/or reduced GH/IGF-1 axis rat white adipose tissue

遠山 啓亮, 黨 和夫, 林田 隆広, 小松 利光, 山座 治義, 大谷 博, 樋上 賀一, 下川 功
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態解析制御学講座病理学・老化学

【背景】カロリー制限は哺乳類において確立された唯一の longevity の手段であるが、このカロリー制限がもたらす longevity のメカニズムははまだまだつきりとは知られていない。当教室での GH 遺伝子アンチセンス導入ラット (tg/tg) を用いた実験では、tg/tg では寿命延長効果は見られなかったが、tg-では+/+よりも寿命延長が見られた。これにカロリー制限を行うと、さらなる寿命延長が見られることより、カロリー制限では GH/IGF-1 系の抑制とは別のメカニズムの関与も示唆される。また脂肪はレプチン・TNF- α 、アディポネクチンなどに代表される adipocytokine と呼ばれる多種の分泌タンパクを産生し、糖・脂質代謝に大きな影響を与えている。この脂肪組織での遺伝子発現の変化を cDNA macroarray を用いてプロファイリングを行い、カロリー制限のメカニズムを探る。

【方法】GH 遺伝子アンチセンス導入ラット (tg/tg) とその野生型 Wistar rat (-/-) のハイブリッドラット (tg-:F1) に長期カロリー制限を行った。5~6 ヶ月で sacrifice し、腎周囲白色脂肪組織より RNA を抽出して、cDNA array を行った。

【結果】array (1176 genes) のうち、検討対象とした遺伝子は 492 genes であった。これらの遺伝子について主成分分析法を用いて解析を行った。このうち、カロリー制限群では自由摂食群に比べ脂質合成系やミトコンドリア合成に関する遺伝子発現の増加が見られ、これら遺伝子の mRNA レベルを検討した。

Keywords: カロリー制限, GH/IGF-1 抑制ラット, 脂質代謝

J P-16 Differential gene expressions during immortalization of normal human fibroblasts and endothelial cells transfected with human telomerase reverse transcriptase gene

熊崎努, 檜山桂子, 高橋知子, 大松秀明, 谷本圭司, 野口琢矢, 檜山英三, 三井洋司 (発表者, 現徳島文理大香川薬) 西山正彦 (広島大学原医研, 筑波大学 TARA センター)

正常細胞は分裂加齢するが、癌細胞は不死化し、悪性化している。テロメラーゼの発現有無が一つのキーであるが原因は不明で有る。

そこで、有限分裂寿命をもつヒト正常細胞が不死化する過程にどのような遺伝子変化が重要であるかを見極める為にマイクロアレイ等で解析した。

ヒト血管内皮細胞 HUIE 142、繊維芽細胞 M90 にテロメラーゼ遺伝子 hTERT を導入して高発現させ、稀にも不死化した細胞株、nTE4-6 および TF1 を分離した。これらの遺伝子導入前後と不死化にいたる各過程の細胞について、RT-PCR や microarray 法にて、不死化で変動する遺伝子を同定した。

結果:hTERT 遺伝子導入後、細胞はテロメラーゼ活性を高く発現し、テロメア鎖長も短縮すること無く維持された。繊維芽細胞の場合、アポトーシスと増殖制御に関わる TP53 の発現は、初期に著しく減少し、その後いくらか回復した。一方 BAX の低下と BCL2 の亢進が初期に著しく、その後急速に回復した。細胞周期の制御にも関わる MYC や CDKN1A の発現は、初期からずっと、低下が続いた。CDKN2A は、初期の亢進のあと、低下が続いた。

こうしたアポトーシスの抑制と増殖の制御解除に関わる遺伝子の変動は、不死化過程を合理的によく説明できた。しかし、血管内皮細胞の不死化過程では必ずしも同一の遺伝子変動が観られなかった。

cyclin D1 をコードする遺伝子 CCND1 の発現亢進は、両細胞株に共通して認められた。細胞の不死化に関わる遺伝子解明には、細胞種による特異性も考慮して、更に詳細な検討も必須であらう。

Microarray による網羅的な遺伝子変動結果も提示して、今後の研究の展開を議論する。

Keywords: ヒト正常細胞, 細胞老化, 不死化, 遺伝子発現

J P-17 Analysis of genetic interaction between *S.pombe* RPA and Taz1 in telomere maintenance

木部 達也、小野 祐生、○上野 勝
静岡大学理学部化学科

RPA(replication protein A)は、ヒトから出芽酵母まで広く保存された一本鎖 DNA 結合タンパク質であり、DNA の複製、修復、相同組換えに関与していることが示唆されている。出芽酵母の RPA の large subunit をコードしている遺伝子である *RFA1* 遺伝子の変異株 *rfa1-D228Y* は、テロメア長に変化は認められないが *YKU70* との二重変異株のテロメア長は *KU70* Δ 単独変異株よりもさらに短くなるという報告がある。これまでに当研究室は、分裂酵母における RPA large subunit をコードしている遺伝子である *rad11* の変異株 *rad11-D223Y* を作成し、テロメア長を解析したところ、テロメア長は野生株よりも短くなることを明らかにしている。

そこで本研究では、RPA のテロメア維持における役割を更に詳しく解析するために、様々なテロメア関連因子との二重破壊株を作成した。その結果、*taz1* と *rad11-D223Y* の二重変異株はテロメア DNA を全く維持できないことを発見した。*taz1* 遺伝子を破壊するとテロメアが異常に長くなることから、Taz1 はテロメアアーゼを負に制御していると考えられる。しかし本研究の結果から Taz1 は *rad11* の変異株では、テロメア伸長に必要か、あるいはテロメア分解の抑制に必要であることが示唆された。本発表では *taz1* と *rad11-D223Y* の二重変異株におけるテロメア DNA 消失機構を詳細に解析した結果を紹介する。

Keywords テロメア、分裂酵母、RPA、Taz1

J P-18 Development of telomere analysis in tissue section and in metaphase by FISH

仲村賢一¹、下村七生貴¹、神森 眞^{1,2}、田久保海著¹
¹東京都老人研・高齢者臓器、²東京大・病院・内分泌外科

染色体末端に存在するテロメアは TTAGGG6 塩基の繰り返し配列で、染色体の安定や癒合の防止をにになっていると考えられている。これまでに我々は本学会でヒト各組織のテロメア長と年齢の関係について報告してきた。

今回テロメア測定の新技術を導入したので報告する。1996 年、Lansdorp らによって培養系細胞の分裂期染色体個々のテロメア長測定ができる Q-FISH (quantitative fluorescence in situ hybridization) が確立された。その後、この手法は組織切片を用いた Tissue-FISH によるテロメア長測定法として応用発展され、2002 年に O'Sullivan らは潰瘍性大腸炎と大腸癌、正常大腸組織のテロメア長をこの方法で測定し、前癌病変である高度 dysplasia では、テロメア長が大腸癌と正常組織より短縮していることを世界で初めて報告した。我々の研究グループでは Q-FISH の先駆的研究室であるカナダ・バンクーバーのテリーフォックスの Lansdorp 研究室に、非常勤研究員である神森眞を 2002 年 5 月-2004 年 1 月の間派遣し、Tissue-FISH と FISH 一般に関する共同研究を行い、同研究室の Steven Poon 博士を 2004 年 2 月に研究所に招聘し当グループと共同研究を行った。組織切片上での個々の細胞ごとのテロメア長の測定が可能になり、精度の高い情報を得ることが可能になった。現在、高齢者の組織におけるテロメア長の解析中である。

Keywords: Telomere, Tissue FISH,

J P-19 Isolation of a new type of the mutant with long autogamy-immaturity in *Paramecium tetraurelia*

小森理絵・高木由臣
奈良女子大学理学部生物科学科

発表要旨

ヨツヒメゾウリムシ *Paramecium tetraurelia* の性成熟やクローン死などのクローン発生過程は分裂回数に依存して進行することが知られている。我々はこれまで性成熟のタイミングに関する突然変異株の分離を試みてきた。その結果、性的未熟期の一種であるオートガミー未熟期が延長した突然変異株 d4-RK を分離し、その表現型が単一の劣性遺伝子で説明できることを昨年までの大会で報告した。今回、新たな突然変異株 d4-312 を分離したので、報告する。この株では、生活史の進行に伴ってみられるオートガミー未熟期から成熟期への移行時期が野生株 51 に比べて遅くなった。このことから、d4-RK 株と同様に長いオートガミー未熟期をもつ突然変異株であると考えられる。しかし、高温 (32℃) で培養したとき、d4-RK 株は野生株に近い表現型を示したのに対し、d4-312 株ではオートガミーが更に抑制されることが分かった。逆に、低温 (19℃) ではオートガミーが誘導されやすくなった。その後世代を重ねるにつれて、通常培養条件である 25℃での表現型は次第に不安定になり、野生株に近い表現型を示すクローンも現れるようになったが、このようなクローンにおいても高温でのオートガミー能は抑制されたままであった。このことから、d4-312 株はオートガミー未熟期に関する全く新しい突然変異株であると考えられる。

Keywords

ヨツヒメゾウリムシ、オートガミー未熟期、突然変異株、温度感受性

J P-20 Regulation of Apoptosis and Ultradian Rhythm by the Mouse CLK-1

高橋真由美、中井大輔、野尻英俊、森泉栄子、清水孝彦、白沢卓二
京都老人総合研究所、分子老化研究グループ

線虫で発見された寿命関連遺伝子 *clk-1* が哺乳動物においても線虫におけるのと同様の生物学的機能を有するか調べる目的で *clk-1* 欠損マウスを作成した。*clk-1* 欠損マウスは胎生 10.5 日目で致死となるが、この時の胎児には断片化した核のヘキスト染色像と TUNEL 陽性細胞とが多数観察された。胎生 10.5 日の *clk-1* 欠損マウス由来細胞では JC1 染色により定量化したミトコンドリア膜電位が野生型に比べ有意に低下しており、また野生型マウス細胞ではミトコンドリアに局在するチトクローム C が細胞質に存在することが免疫細胞染色により示された。これらの結果から、*clk-1* 欠損マウスではユビキノンの生合成酵素である CLK-1 の欠損によりミトコンドリアの膜電位が低下し、チトクローム C が細胞質に放出された結果、全身の細胞がアポトーシスを起こし、胎生致死となることが示唆された。

次に、*clk-1* 変異線虫では生体リズムの遅れが報告されている為、マウスにおける生体リズムに対する CLK-1 の関与を調べた。*clk-1* 欠損マウスは胎生 10.5 日の段階で約 48 時間の発生遅延が認められ、胎生 10.5 日の胎児由来細胞の細胞分裂頻度も野生型に比較し低いことがわかった。また胎児の心臓を、細胞培養あるいは器官培養して拍動リズムを測定した結果、*clk-1* 欠損マウスの心臓ならびに心臓の細胞の拍動リズムは野生型に比べ有意に遅いことが明らかとなった。以上の結果は、*clk-1* 遺伝子が哺乳動物においても生体リズムの制御に関与している可能性を示唆している。

Key word: *clk-1* 欠損マウス、アポトーシス、生体リズム

J P-21 Analysis of oxidative injury in tissue-specific MnSOD knockout mice

内山 智・清水孝彦・佐々木徹・白澤卓二
都老人研・分子老化、¹都老人研・ボジトロン医学

活性酸素による酸化傷害は老化の主要な原因と考えられている。活性酸素は細胞内においてスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)やカタラーゼ等の抗酸化酵素によって処理されている。我々は組織特異的な活性酸素傷害の影響を調べるために、Cre/loxP システムを用いた MnSOD の組織特異的欠損マウスの作製を行った。本研究では、脳および肝臓特異的 MnSOD 欠損マウスについて解析し、活性酸素傷害の組織特異性について検討した。その結果、脳特異的 MnSOD 欠損マウスは神経変性を伴い生後 3 週間以内に死亡するが、肝臓特異的 MnSOD 欠損マウスは正常に発育した。組織生体スライスを用いたリアルタイムバイオラジオグラフィー法による活性酸素の発生量の測定では肝臓特異的 MnSOD 欠損マウスの肝臓と比べて脳特異的 MnSOD 欠損マウスの脳は活性酸素の発生量が約 2 倍高いことが明らかとなった。これらの結果は活性酸素の発生量、もしくは処理機構が脳と肝臓で異なり、組織によって活性酸素傷害の程度が異なることを示唆している。肝臓では細胞質に存在する Cu,Zn-SOD の活性が脳の約 3 倍高いことが、MnSOD 欠損による組織障害の違いをもたらしたと考えられた。次に Cu,Zn-SOD 欠損マウスと交配することで肝臓特異的 MnSOD および Cu,Zn-SOD 2重欠損マウスの作製を行った。その結果、2重欠損マウスの肝臓組織に脂肪の蓄積が観察され、脂肪肝を発症していることが判明した。

Keyword: 活性酸素, 組織特異的 MnSOD 欠損マウス。

J P-22 Sympathetic changes in congenic rats strain for the hypertension-related region on chromosome 1

小林裕太、川上浩平、崔宗虎*、並河徹*
島根大学・総合科学研究支援センター、*同・医学部・病態病理学

連鎖解析で、脳卒中易発高血圧ラット(SHRSP)の第1染色体上に高血圧関与遺伝子領域(DIHT 領域)の存在が示されている。この DIHT 領域(D1Wox29 から D1Arb21)を有するコンジェニック雄ラット(Cg)を作製し、その胸部大動脈及び血中ノルアドレナリン (NA) 量及び胸部大動脈の NA 代謝物 MOPEG 量を、同齢、同性の SHRSP/lzm 及び正常血圧の WKY/lzm と比較し、DIHT 領域遺伝子による昇圧機構の検討を目指した。
[方法]血圧は tail cuff 法、NA 及び MOPEG は HPLC-ECD 法で測定した。
[結果]雄 Cg の収縮期血圧は 7 週齢、11 週齢では WKY と差はなく、20 週齢では WKY より約 15mmHg 有意に高かった。SHRSP では 7 週齢で既に WKY より有意に高く、11 週齢、20 週齢では血圧上昇はより著明であった。7 週齢 Cg の血清 NA 濃度は SHRSP と同レベルで、いずれも対照の WKY より有意に高かった。7 週齢 SHRSP 胸部大動脈のたんぱく当りの NA 含量は WKY より有意に高かった。7 週齢 Cg 胸部大動脈の NA 含量も WKY より高い傾向が見られたが、有意ではなかった。7 週齢の MOPEG 量に系統差はなかった。11 週齢、20 週齢では血中 NA 量は系統差はなかったが、20 週齢 Cg 血中 NA 量は WKY より高めであった。胸部大動脈 NA 量、MOPEG 量は 20 週齢 SHRSP では逆に WKY より有意に低値であった。20 週齢 Cg 胸部大動脈 NA 量、MOPEG 量は中間的な値でいずれも他系統と有意差はなかった。
[結論]7 週齢 Cg では血中 NA 値高値で、MOPEG 量には差はないものの血管の NA 量が高い傾向があり、交感神経亢進と考えられた。以上より、DIHT 領域を有する Cg では血圧上昇に先立ち交感神経亢進が起こることが示唆された。

Keywords Hypertension /Congenic rats /Sympathetic nervous system/ Spontaneously hypertensive rats

J P-23 Reduction of transcription of haploid-specific genes in senescent SAMP1 mouse testis

姚俊深¹、千葉卓哉²、酒井潤³、広瀬国孝³、山本三毅夫⁴、羽田亮之⁵、倉本和直⁵、樋口京一¹、○森政之¹
¹信大薬・加齢生物、²長崎大・医・内臓機能病態解析、³呉羽化学工業・生物医学研、⁴防衛医大・生化学第二、⁵都老研・実験動物

【目的】老齢期での精巣機能低下の分子遺伝学的解明を目的として、マウス精巣での遺伝子発現プロファイルの加齢変化を解析した。
【材料と方法】3ヶ月齢および29ヶ月齢のBDF1系マウス、促進老化のモデル動物である14ヶ月齢のSAMP1系マウスを使用した。精巣から作製したSerial Analysis of Gene Expression (SAGE)ライブラリーの比較、およびABI PRIZM 7000 と SYBR green 法を用いたリアルタイム PCR 法により mRNA 転写発現量の比較を行った。
【結果と考察】29ヶ月齢のBDF1系マウスおよび14ヶ月齢のSAMP1系マウスの精巣は顕著に萎縮し、完成精子はほとんど認められなかった。SAGE 法による解析で、14ヶ月齢のSAMP1においては特異的に半数体特異的遺伝子である protamine 2 の mRNA 量が BDF1 と比較して約 50% に低下していることが判明した。またリアルタイム PCR 法による解析で、14ヶ月齢のSAMP1においては他の9個の半数体特異的遺伝子の転写量が約 21-51% に低下していることも明らかとなった。さらに半数体特異的遺伝子の転写因子である ACT, CREM, TF2A α , TF2A γ , TF2B, TBP, TAF10 の発現も約 44-70% に低下しており、このことが半数体特異的遺伝子の転写量低下の原因である可能性が示唆された。これら半数体特異的遺伝子、およびその転写因子の転写量の低下は SAMP1 にも認められ、このことが SAMP1 における半数体特異的遺伝子の低下の分子機構の解明は、ヒトの雌性不妊や老化にともなう繁殖能の低下等の研究にも有用と考えられる。

Keywords: haploid-specific gene, transcription, SAM

J P-24 Age-related change in the gene expression profile of liver from senescence accelerated mouse (SAM) P8 and R1 strains: cDNA array analysis

Takahashi R, Fukunaga S and Goto S
Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

Senescence accelerated mouse strain SAMP8 has much shorter life-span (approx. 50%) than control strain, accelerated senescence resistant strain SAMR1 and exhibits early onset of learning and memory deficit. We previously found that gene expression of cyclophilin and hsc70 in the brain of P8 and R1 strains during aging were up- and down-regulated in parallel with the change in survival of each strain despite a twofold difference in life span. To examine whether such an accelerated gene expression can occur in other genes and other tissue of P8 strain, we carried out cDNA array analysis using liver poly(A)⁺ mRNA. Among the 1176 genes in the array, about 150 were designated "significantly expressed" in both strains. Of 150 genes, about 130 genes showed no significant change in the expression in both strains with age. Limited number of genes of metabolic enzymes, mitochondrial proteins, acute phase response proteins displayed significant up- or down-regulation. For example, the expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene decreased in both strains with age. However, most of genes tended to show strain-specific changes in expression with age. We are currently analyzing the expression of selected genes by Northern blot to confirm our findings observed by the array analysis.

Keywords: DNA array, SAM, gene expression, liver

J P -25 **SMP30 is a unique enzyme that hydrolyzes DFP in the liver**

近藤嘉高¹⁾²⁾、石神昭人¹⁾、下門顕太郎²⁾、丸山直記¹⁾
¹⁾東京都老人総合研究所・加齢臓器障害研究グループ
²⁾東京医科歯科大学大学院・血流制御内科学

加齢指標蛋白質 30 (SMP30)は、性ホルモンによる制御を受けず雌雄共に加齢に伴い肝臓や腎臓で減少する。1999年、肝臓において猛毒サリンや diisopropyl phosphorofluoridate (DFP) を分解する酵素が、SMP30 である可能性が報告された。本研究では、SMP30 の持つ DFPase 活性を詳細に検討した。

ラット肝臓より、SMP30 を精製した。SMP30 は、Mg²⁺ 存在下で、用量依存的に DFP を分解した。機能ドメイン検索の結果、SMP30 のアミノ酸配列の一部は、血清中 paraoxonase (PON)1 と同一性があることが分かった。PON1 は血清中の酸化 LDL や細菌性毒素を抑制する。基質分解能の解析から、SMP30 は、PON1 とは全く異なる基質特異性を示した。従って、SMP30 は、PON1 とは全く異なる酵素である。また、SMP30 ノックアウトマウスの肝臓は、DFPase 活性が全く検出されなかった。肝臓において DFP を分解できる酵素は唯一 SMP30 だけである。

次に、初代培養肝細胞を用いて、DFP による細胞傷害活性を調べた。野生型マウス由来肝細胞には毒性を発揮しない低濃度の DFP を細胞に添加した時、SMP30 ノックアウトマウス肝細胞では、細胞生存率が有意に低下した。これは、SMP30 ノックアウトマウス肝細胞が DFP に対して高感受性であることを示している。このように、SMP30 は、DFP やサリンなどの有害物質から生体を守るはたらきがある。

Keywords: SMP30, DFPase, detoxification

J P -27 **Mammalian D-aspartyl endopeptidase: a scavenger for noxious racemized proteins in aging**

木野内忠稔¹⁾、香川靖雄²⁾、浜本敏郎¹⁾
¹⁾自治医科大学・生化学講座・機能生化学部門、
²⁾女子栄養大学・医化学教室

従来、哺乳類の構成アミノ酸は、すべて L 型であると考えられていた。しかしながら、加齢と共に活性酸素などのエイジングストレスによって、非酵素的に D 型アスパラギン酸 (D-Asp) 含有蛋白質が、体内で生じることが明らかになり、種々の疾病との関連が指摘されている。我々は、こうした有害な D-Asp 含有蛋白質に対する排除機構として、D-Asp 含有蛋白質を特異的に分解する酵素を同定し、D-aspartyl endopeptidase (DAEP) と名付けた。DAEP は、ミトコンドリア内膜に結合している高分子複合体であり、その局在は肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、脳などであった。また、68-93 歳の正常脳と AD 脳における DAEP 活性について調査した結果、頭頂葉では AD 脳のほうが正常脳に比べ 20% 程度 DAEP 活性が減少しており、後頭葉では正常脳のほうが AD 脳より 15% 減少していた。さらに、個体間の最大の活性差が 2 倍以上あることも判明した (最大値: 正常脳、最小値: AD 脳、共に側頭葉)。次に、大腸菌、酵母、線虫における DAEP 活性について検討したところ、検出限界以下であった。以上のことから、DAEP は哺乳類などの長寿命生物において獲得された抗老化機構であると考えられた。

参考文献: Kinouchi, T. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 314: 730-736, 2004.

Keywords: D-aspartic acid, D-amino acid, aging, mitochondria, reactive oxygen species, protease, racemization

J P -26 **Age-related increase in the incidence of albuminuria and changes of cubilin and megalin the kidney of F344 rats**

Odera K, Takahashi R and Goto S
Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

Cubilin (460kDa) and megalin (600kDa) are endocytic receptors located in the renal proximal tubule. Both receptors play an important role in albumin reabsorption in proximal tubule. We previously found that the amount of urinary protein, mostly albumin, increased with age in rats (F344/DuCrj). The age-related increase in the incidence of albuminuria may partly be due to decreased reabsorption of albumin by cubilin and/or megalin with age. In order to better understand the mechanism of age-related albuminuria, we examined whether cubilin and megalin alter with age by Western blot using antibodies raised against synthetic oligo-peptides. In this study, we used the kidney extracts from normal young (10 month-old) and old (31 month-old) rats that exhibited albuminuria. Although no difference in the relative amount of cubilin with molecular weight 460kDa between young and old rats, aggregates and fragments of cubilin appear to increase in old rats. On the other hand, no apparent difference in the relative amount and molecular weight of megalin was observed between young and old rats. These results suggest that the age-related increase in the incidence of albuminuria in the rats might partly be due to the accumulation of altered molecules of cubilin with age.

Keywords: albuminuria, cubilin, megalin, F344, kidney

J P -28 **Analysis of signaling pathway mediated by superoxide anion from mitochondria.**

宮沢 正樹、石井 恭正、安田 佳代、石井 直明
東海大・医・分生 2

昨年度、我々はミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生させる *mev-1* 細胞株の樹立と、その表現型について報告した。この細胞株はミトコンドリアからの活性酸素発生に伴い、アポトーシスを誘導していることが確認された。さらに、これらの環境下で生存した細胞は高頻度に癌細胞へと形質転換し、造腫瘍性を示すことが確認された。そこで、酸化ストレス、アポトーシス、癌化といった一連の分子メカニズムを解明するために、これらに関与すると考えられたシグナル伝達経路の解析を試みた。その結果、活性酸素により癌化した細胞株 (*mev-1:3m*) では、活性型 p53 が細胞内に多く蓄積しており、caspase3 の強い活性が確認された。この結果に反して、活性酸素によりアポトーシスが誘導された細胞株 (*mev-1:1m*) では、caspase3 の活性化は見られるものの p53 の蓄積は認められなかった。そこで、この caspase3 活性の分子メカニズムの相違を見出すために caspase9 の阻害実験を行った。その結果、*mev-1:3m* ではアポトーシス抑制による生存率の増加が確認されたが、*mev-1:1m* ではアポトーシス誘導による生存率の低下をさらに促進させる結果となった。これらの結果から、酸化ストレス下にある *mev-1* 細胞株は癌の細胞増殖を抑制するアポトーシスと、ストレス応答性のアポトーシスを実行することが示唆され、それぞれ異なるシグナル経路の存在が示唆される結果となった。さらに、*mev-1:3m* では caspase3 が強く活性化されアポトーシスが実行されているにも関わらず、*mev-1:1m* で認められたような細胞増殖の遅延が確認されなかった。このことから Ras 遺伝子、そしてその下流の細胞増殖に関わる MAPK カスケードが活性化されている可能性が示唆されたので更なる解析を行っている。以上の解析結果から、過剰に発生した活性酸素により誘導されるアポトーシス、および癌細胞への形質転換の分子メカニズムについて考察をおこなう。

Keywords: mitochondria, oxidative stress, apoptosis, carcinogenesis

J P-29 Characterization of paraquat-resistant mutants in nematode *Caenorhabditis elegans*

藤井道彦(横浜市大・木原研)、三木健輔(横浜市大・木原研)
石井直明(東海大学・医)、鮎沢大(横浜市大・木原研)

我々は活性酸素と寿命の関係を遺伝学的に明らかにするために、モデル生物として *C. elegans* を用いて解析を行っている。その試みの一つとして、我々は生体内で活性酸素を生ずるパラコート(methyl viologen)に対する耐性変異体を単離し解析を行ってきた。今回は、そのうちの一つ *mev-1* の原因遺伝子の同定に成功したので、その結果について報告する。

mev-1 は野生型 N2 よりも長寿命を示し、高温ストレスに対しても耐性であった。*mev-1* 遺伝子のマッピングを行ったところ、LG V 上の *lon-3* の近くにマップされた。その近傍には長寿命を示す *che-11* が存在したことから、*mev-1* と *che-11* の関係について調べたところ、同一の遺伝子に変異を起こしているのを見いだした。そこで、他の様々な chemotaxis 変異体のパラコート感受性を調べたところ、Dyf 表現型(defective in dye filling)を示す chemosensory cilia の変異体の多くがパラコート耐性を示した。*mev-1* の寿命の延長には *daf-16* 遺伝子の活性が必要であったが、パラコート耐性は *daf-16* 遺伝子の影響を受けなかった。また、SOD やカタラーゼの発現をノーザン解析により調べたが、野生型と差がなかった。

以上のことより、パラコート耐性・長寿命変異体 *mev-1* は *che-11* (C27A7.4) 遺伝子に変異を持ち、パラコートの線虫におけるターゲットの一つは chemosensory neuron であることが示された。

J P-31 Mechanism of oxidative stress-induced GADD153 expression in Jurkat cells

大橋憲太郎^{1,2)}、木内一壽¹⁾、磯部健二²⁾
¹⁾岐阜大学工学部生命工学科生命情報工学講座1,
²⁾国立長寿医療センター老化機構研究部

【目的】 Growth arrest and DNA damage-inducible gene 153 (GADD153) は、C/EBP ファミリーの転写因子の一つであり、DNA 障害、UV 照射など種々のストレスによって誘導されることが知られている。既に我々は、ヒト neuroblastoma SH-SY5Y 細胞への酸化ストレスが p38MAPK を介して GADD153 を誘導することを明らかにしている。今回我々は、ヒト Jurkat 細胞を用い酸化ストレスによる GADD153 を誘導およびその細胞内シグナルを検討した。

【材料と方法】 酸化ストレスとして過酸化水素(H₂O₂)を用い、無血清培地で Jurkat 細胞を刺激した。細胞の生存率は、WST-1 を用いた比色法で測定した。p38MAPK の活性化は、ウエスタンブロッティング法によって検出した。GADD153 遺伝子の発現は、全 RNA 抽出の後 RT-PCR 法によって、また AP-1 binding activity はゲルシフトアッセイによって検出した。

【結果及び考察】 H₂O₂ は濃度依存的に Jurkat 細胞に細胞毒性を示し、50μM 以上の H₂O₂ では添加 18h 後の生存率は 25% 以下だった。そこで、75μM H₂O₂ による GADD153 発現を見たところ、刺激後 30min で速やかに誘導され 4h 後まで維持されていた。GADD153 誘導に関わる細胞内シグナルを調べるために種々の MAPK、PKC 阻害剤を用いて検討した。その結果、PKC 阻害剤、特に PKCδ 選択的阻害剤(rotlerin)で濃度依存的に H₂O₂ による GADD153 誘導を抑制することが明らかとなった。また、Rotlerin は、GADD153 promoter 上の AP-1 site への binding activity 有意に抑制した。以上より H₂O₂ による Jurkat 細胞への GADD153 mRNA 誘導は、PKCδ - AP-1 活性化を介することが明らかとなった。

本研究は長寿科学総合研究の援助による。

J P-30 Effect of Chinese prescription Kanggen-karyu on human fibroblast cells

○佐藤亜希子^{*}、趙恩珠^{*,b)}、横澤隆子^{*}
^{*}富山医科薬科大学和漢薬研究所, ^{b)} Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

【目的】正常ヒト線維芽細胞を、過酸化水素などの活性酸素で処理すると、数日のうちに細胞老化と同じ表現型を誘導する(stress-induced premature senescence, SIPS)。本報では、冠元顆粒による老化抑制機構を解明するために、ヒト線維芽細胞の SIPS に及ぼす効果を検討した。

【方法】ヒト線維芽細胞に、過酸化水素を一過性に処理し、その前後に冠元顆粒を添加し、活性酸素量、過酸化脂質量並びにグルタチオン量を蛍光法で測定した。細胞生存率は MTT 法で、細胞寿命は細胞分裂能の変化(PDL)で検討した。また、低濃度の過酸化水素反復処理によって誘導される細胞老化に及ぼす効果も検討した。

【結果】過酸化水素添加群では非添加群に比べ、細胞内の活性酸素量と培地中の過酸化脂質量が増加し、細胞老化と類似した形態学的変化を呈していた。これに対し、冠元顆粒を前処理した細胞では、活性酸素量が添加量に依存して低下し、過酸化脂質による傷害も改善していた。過酸化水素添加によって生じた細胞周期 G₀/G₁ 期の停止も冠元顆粒前処理によって有意に改善していた。一方、過酸化水素は細胞生存率の低下をきたしたが、冠元顆粒添加群では濃度依存的に生存率が上昇し、分裂寿命の有意な延長も認められた。冠元顆粒を後処理した細胞も同様に生存率が上昇し、過酸化水素反復処理の場合も分裂寿命を改善した。

【考察】過酸化水素を添加したヒト線維芽細胞では、酸化ストレスによって細胞老化をひき起こしていたが、冠元顆粒はこのような細胞老化に対し、予防効果と治療効果を有していた。

Keywords Kanggen-karyu, human fibroblast, hydrogen peroxide

J P-32 Evaluation of the reactive oxygen formation in living brain slices using real-time radiography

佐々木徹¹⁾、磯千恵子^{1,2)}、清水孝彦³⁾、内山智³⁾、白澤卓二³⁾、小島周二²⁾ ¹⁾都老人研ポジトロン医学、²⁾東京理科大薬放射薬品、³⁾都老人研分子老化

ポジトロン放出核種の放射能と化学発光の二次元分布をリアルタイムに収集、解析して、生組織スライスの機能、代謝を評価する方法を開発した。本装置は組織培養槽、鏡面化シンチレータ、超高感度フォトンカウンティングカメラ、温度制御の可能な暗箱と画像処理部から構成される。本研究では、脳虚血-再灌流時における酸化ストレスの分子機構の解明を目的として、脳スライスの無酸素-再酸素過程における O₂⁻ の発生と糖代謝について検討した。ラットの脳スライスを入れた培養液に [¹⁸F]fluoro-deoxy-glucose (FDG)、Lucigenin 試薬を添加して、無酸素-再酸素処理過程でスライス上の放射能および化学発光分布を画像化、解析することで、糖代謝、O₂⁻ 生成を各々評価した。同様の検討を Cu,ZnSOD 欠損および脳特異的 MnSOD 欠損マウスの脳スライスについても行った。その結果、無酸素下において糖代謝の亢進と O₂⁻ 生成の抑制、再酸素下において O₂⁻ 生成の亢進が認められた。高 K⁺ による脱分極刺激により糖代謝は亢進したが、O₂⁻ 生成は亢進しなかった。SOD 欠損マウス脳の化学発光は野生型に比べ著しく増加した。以上の結果から、無酸素-再酸素化の過程で O₂⁻ 生成の亢進することが明らかになった。この時に生成した O₂⁻ の殆どが処理系(SOD)によって消去されていることが示された。O₂⁻ 生成は代謝率と単純に相関せず、酸化/還元バランスが律する現象であると推察される。Keywords: Oxidative stress, Ischemia, Superoxide, Real-time bioradiography

J P-33 Stress response in the reduced GH-IGF1 axis rat: relation to calorie restriction

小松 利光, 後田 洋子, 山座 治義, 黨 和夫, 遠山 啓亮, 林田 隆広, 樋上 賀一, 下川 功
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻(病理学・老化学)

【背景】カロリー制限(CR)ラットは自由摂食(AL)ラットに比べ寿命が長く, ストレスに対して耐性がある。いくつかの長寿命変異種でも, ストレス耐性が増強することが報告されている。我々は GH-IGF1 抑制長寿命ラットのストレス耐性について, CR との相違を検討した。【方法】Wistar(-/-)と antisense GH 遺伝子(tg)のヘテロ接合体 F1(tg/-)に, 生後6週より自由摂食とカロリー制限(ALの摂取カロリーの70%)を行った。16週齢で24時間絶食後 LPS(E.coli O55:B5, 1.6mg/kg BW)を静注し, 0, 1, 4, 8時間ごとに屠殺し肝臓と血清を採取した。血清 AST, サイトカイン(IL6, IL10, TNF α)を測定し, 肝臓を HE 染色及び PCNA 抗体で免疫染色し細胞増殖の評価を行った。また, 肝臓のストレス応答に対する遺伝子発現レベル(PPAR α , CYP4A1, CYP4A3, ACO)の変化をリアルタイム PCR によって検索した。【結果】血清 AST, IL6, IL10, TNF α 濃度は時間経過に伴い上昇したが, F1 では殆ど上昇しなかった。しかし CR の影響は小さかった。病理組織学的検索では, F1 及び CR において傷害が减弱し, 増殖過程にある細胞がより多く観察された。遺伝子発現変化ではどの遺伝子も時間経過に伴い発現量が減少したが, CR 及び GH 抑制による発現量の差は小さかった。【考察】GH-IGF1 系の抑制は LPS 投与によるストレスに対して耐性を持つこと, カロリー制限の効果とは異なる部分が存在することが示唆された。また, 遺伝子発現レベルでは PPAR α 及び PPAR α に転写制御される遺伝子が CR 及び GH 抑制におけるストレス応答に関与している可能性は低いことが示唆された。

Keywords: カロリー制限, ストレス

J P-34 Anti-oxidant enzyme activities in tissues of spontaneous dwarf rats

近藤 昊¹, 新海 正¹, 田原正一¹, 倉本和直², 服部明徳³, 金子孝夫¹(¹都老人研・老化レドックス制御, ²都老人研・動物施設, ³都老人医療センター)

成長ホルモン, プロラクチン, 甲状腺刺激ホルモンの欠失による小さなエイムスマウスが長寿であり, その原因が抗酸化酵素活性の増加であることが示唆された。そこで, 成長ホルモン mRNA に異常を持ち成長ホルモンの欠除した自然発症矮小ラット(SDR)(T.Takeuchi, et al., 1990)が, 老化・寿命と酸化ストレスの関係の研究に良いラットモデルであるかを調べるためまず抗酸化酵素活性について検討した。SDR 雄の体重は, 4週齢で対照の SD ラットの 50%, 9週齢で 24%と小型であった(対照のほぼ3分の1であると報告されている)。9週齢雄の肝臓, 心臓, 腎臓の抗酸化酵素活性を測定した。これら3組織で GPx 活性が有意に増加した。カタラーゼと SOD(全 SOD, MnSOD, CuZnSOD)活性では違いが見られなかった。肝臓で再現性を調べると, GPx の増加は再現性が見られた。次に酸化ストレス(85%酸素 24時間)を与えた時の肝臓の抗酸化酵素活性の挙動を調べた。この処理により対照ラット及び SDR で全 SOD, MnSOD, CuZnSOD の活性は増加傾向が見られた。また, SDR の方が対照ラットより多少高い傾向が見られた。一方, GPx とカタラーゼ活性は変化しなかった。これらの実験により, SDR の方が対照ラットより抗酸化酵素の GPx 活性が顕著に, SOD 活性が僅かに高いことが観察され, SDR の方が酸化ストレスに多少強いことが示唆された。また, 成長ホルモンは GPx 活性制御と強く関係していることが明らかになり, SDR は老化・寿命と酸化ストレスの関係の研究の良いモデルであると考えられるのでさらに詳細な検討を計画している。

【Key words】自然発症矮小ラット, 抗酸化酵素活性

J P-35 Estrogen and Insulin signaling regulate resistance to oxidative stress in mice

清水孝彦, 馬場智規, 桑原宏明, 小河原緑, 白澤卓二
東京都老人総合研究所・分子老化研究グループ

線虫やショウジョウバエではインスリン様シグナル伝達の異常により, MnSOD 等の発現が増大し, 酸化ストレス耐性を獲得し寿命が延長することが示唆されている。我々はインスリンシグナルの伝達異常が哺乳類においても酸化ストレス耐性を獲得するのかを検討するために, 線虫の *daf-2(e1391)*長寿命変異と相同の変異を持つインスリン受容体ノックインマウスを作製した。酸化ストレス耐性を調べるために高酸素負荷およびバラコート投与実験を行った。80%酸素下で変異雌マウスは野生型雌マウスに比べて生存が 33%延長し, 変異雄マウスは生存が 19%延長した。バラコート投与でも, 変異雌マウスの生存が顕著に延長した。また, 肝臓の MnSOD 活性測定と RT-PCR を行った結果, 変異雌マウスでは活性が 40%上昇し, 発現も亢進していた。変異雄マウスでも増加傾向を示した。次に, 酸化ストレス耐性と MnSOD の発現増強に性差が認められたことから, 性ホルモンの影響を解析した。卵巣摘出を施した変異雌マウスは高酸素下生存日が 19%短縮し, MnSOD 活性も 20%低下した。野生型マウスも同様に短縮したが, 減少率は小さかった。逆にエストロゲンを投与した変異雌マウスは高酸素下生存日が 31%, MnSOD 活性が 21%増加した。野生型マウスの増加率は少ないが, 生存日数および MnSOD 活性ともに亢進した。卵巣摘出とエストロゲン処理による増減幅が, 野生型マウスよりインスリン変異マウスで大きいことから, エストロゲンシグナルがインスリンシグナルを調節することで個体の酸化ストレス耐性と MnSOD の発現をコントロールしていることが示唆された。

J P-36 Effects of Aging on Proteins Responsive to Oxidative

三浦ゆり¹, 加納まゆみ¹, 戸田年穂², 浦野四郎³, 鈴木捷三¹

¹東京都老人総合研究所・老化レドックス, ²東京都老人総合研究所・プロテオーム, ³芝浦工業大学

【目的】演者らは今まで, 培養グリア細胞を用いて低レベル酸化ストレスによる適応応答とそれに及ぼす加齢の影響について検討を行ってきた。その結果, 加齢に伴って適応応答能が低下することが明らかになった。そこで, このような加齢によるストレス応答能の低下の機構をタンパクレベルで明らかにするため, 種々の酸化ストレスを負荷したときの細胞内のタンパク発現変化を, プロテオーム解析を用いて網羅的に検討した。また, 加齢動物から培養した細胞でも同様の解析を行い, 老化の影響についても検討した。

【方法】細胞は, 1ヶ月齢及び24ヶ月齢のラット脳から, アストロサイトを培養した。過酸化水素(100 μ M)負荷した細胞とX線を5Gy及び0.1Gy照射した細胞について, ストレス負荷後, 経時的に細胞を採取した。細胞内タンパクを抽出後, 二次元電気泳動を行い, 画像解析ソフト(IPDQuest)を用いてゲルのディファレンシャルディスプレイを行った。スポットタンパクは, MALDI-TOF 質量分析装置を用いてペプチドマスフィンガープリンティングを行い, データベースと照合することにより同定した。

【結果】過酸化水素の負荷及び5Gy照射により peroxiredoxin II などのタンパクの発現が変化することが明らかになった。また, 0.1Gy照射によっては, 一過性にヒポキサンチンジアニンフォスフォルボシルトランスフェラーゼ(HPR1)の発現が増加することが明らかになった。HPR1の一過性の増加は, 老齢ラットの細胞では認められなかったことから, 低線量放射線応答に HPR1 が関与している可能性が示唆された。

Key words: oxidative stress, proteomics, radiation, glial cells

J P-37 Age-Dependent Changes In Cortical Serotonergic And Noradrenergic Axon Terminals In F344 Rats

中井 定、城川 哲也、磯部 健一
国立長寿医療センター 老化機構研究部

【目的】加齢に伴う不安やうつ状態が、どのような脳の変化によって引き起こされるか十分には解明されていないが、脳幹からの汎性投射系であるノルアドレナリン系およびセロトニン系の異常による可能性が高いと考えられている。また、ラットノルアドレナリン系の加齢変化について我々の最近の研究から、前頭葉および海馬に投射するノルアドレナリン終末は17月齢以降発芽(sprouting)を起こし、それによって加齢に伴って低下するノルアドレナリン機能を代償していることが示唆されている。一方、セロトニン系の加齢変化については不明な点が多い。よって本研究ではセロトニン系とノルアドレナリン系の加齢変化を電気生理学的に解明することを目的とした。

【方法】ラット背側縫線核から単一セロトニンニューロンを電気生理学的に記録し、前頭葉の微小電気刺激に対する逆行性応答の解析から、前頭葉に投射する単一セロトニンニューロンの神経終末の層分布を解析する。また同様の手法を用い同一ラットの青斑核由来ノルアドレナリン神経終末の解析も行う。

【結果】セロトニン終末は加齢による減少は見られなかった。17月齢に有意な増加が認められた。一方、ノルアドレナリン終末は15月齢で減少がみられ、その後17月齢で増加が見られた。

【結論】両神経終末の加齢変化が17月齢で同時に見られることから両神経系の間での加齢に伴う相互作用が予測された。

【Keywords】Serotonin, Noradrenaline, Electrophysiology

J P-39 Improvement of brain monoamines and immunity of aged mice by Japanese herbal medicine

常深 あきさ¹⁾、宇津山 正典¹⁾、小林 悟²⁾、廣川 勝晃¹⁾
¹⁾東京医科歯科大学大学院・歯学総合研究科・包括病理学
²⁾東京都老人総合研究所・脳機能改善グループ

加齢に伴い免疫機能、生理機能の低下が認められ、高齢者では病気にかかりやすくなり、行動の変化や様々な障害が現れる。我々は臨床的に生理学的機能改善の目的で使用されている漢方補剤が、免疫機能回復効果を示すことを報告してきた。本大会では、免疫系が神経系と極めて近い関係にあることから、脳機能に対しても漢方補剤が影響を及ぼす事が考えられ、老齢マウスを用い漢方補剤の脳神経系に与える影響について検討した。

【対象と方法】老齢(18m)、若齢(3m)C57BL/6 オスに通常飼料、漢方補剤(TJ-41、TJ-48)配合飼料を5ヶ月間自由摂取させた。検索項目として、①行動観察 ②皮質、海馬、視床下部の組織について Dopamine(DA)、Serotonin(5-HT)及びその代謝物など脳内モノアミンの定量を EDC-HPLC 解析 ③サイトカイン産生能など免疫系機能

【結果および考察】①行動観察:加齢変化としての全活動量、立ち上がり回数に老齢・若齢マウス間で有意差を認め、漢方補剤の効果はみられなかった。②脳内モノアミン量:皮質、海馬、視床下部共に加齢変化として、Norepinephrine(NE)とその代謝物、5-HT とその代謝物、DA とその代謝物量が老齢群における有意な減少、あるいは、減少傾向がみられた。漢方補剤の影響は、特に TJ-48 投与群で効果が現れ、皮質部位で NE とその代謝物量、5-HT 量、DA とその代謝物量で対照群に比べ有意に高値を示した。海馬と視床下部では、NE とその代謝物量、5-HT 量で有意に高値を示したが、DA とその代謝物量には影響がみられなかった。③免疫機能:加齢に伴いサイトカイン産生が Th1 型から Th2 型に移行するが、漢方補剤投与群共に、老齢群では Th2 型サイトカインの抑制がみられた。

漢方補剤 TJ-48 投与により老齢マウスの脳内モノアミン量の増加を認めたことから、漢方補剤が免疫系のみならず神経系についても回復効果をもたらす事が明らかになった。

【Keywords】Japanese herbal medicine, Brain monoamines, Immunity

J P-38 Different age-dependent changes of noradrenergic innervations

Wataru Matsunaga, Tetsuya Shirokawa, Kenichi Isobe
Basic Gerontology, National Center for Geriatrics and Gerontology

The locus coeruleus (LC) is the largest nucleus of noradrenergic neurons in the brain stem, and its neurons project to many brain regions such as the frontal cortex and hippocampus. Our previous electrophysiological studies suggested that the projection from LC to the frontal cortex and hippocampus is gradually decreased, but axonal branching in frontal cortex and hippocampus was increased dramatically between 15- to 17-month-old. Therefore, we investigated age dependent changes of LC noradrenergic innervations in the frontal cortex and hippocampus by immunohistochemistry and western blotting analysis of tyrosine hydroxylase, noradrenaline transporter and Glial cell line derived neurotrophic factor(GDNF) expression.

In this study, we used 6-, 13- and 25-month-old male F344/N rats. The density of noradrenergic fibers in the hippocampus reached maximum level at 13-month-old, but not altered by aging in the frontal cortex. Moreover, western blot analysis also showed some difference of aging pattern between the hippocampus and frontal cortex.

Key Words: Locus Coeruleus, noradrenalin, hippocampus, frontal cortex

J P-40 Diameter of the cerebral cortical parenchymal microvessels increases during stimulating the nucleus basalis of Meynert in adult rats.

金井千恵子、堀田晴美、内田さえ、神田健郎
東京都老人総合研究所 運動・自律機能相関研究グループ

【目的】マイネルト核(NBM)刺激が大脳皮質実質内血管の拡張を引き起こすとの仮説を検証する目的で、ラット頭頂葉皮質の実質内血管の直径がNBM刺激中に増加するかどうかを組織学的手法により調べた。

【方法】成熟雄Wistar系ラット(5ヶ月齢)を用いた。urothane 麻酔し人工呼吸下で頭頂葉皮質血流を Laser Doppler 血流計で測定し、NBM 電気刺激中に血流の増加している頭頂葉皮質を固定液で覆い *in situ* で10分間浸漬固定した。皮質表面に水平に薄切した深さ約60μmの頭頂葉皮質組織切片中、冠状断された100個の血管(長径/短径<3)の電子顕微鏡写真を形態計測した。予備実験として脳血流増加作用のある高炭酸ガス刺激を行い、実質内血管の平均内径増加を確認した。

【結果】NBM刺激中、頭頂葉皮質血流は刺激前血流の139±17%に増加した。安静時(対照群)及びNBM刺激中に固定した血管の内径は1.9~26.2μm、最頻値4.5μmの一相性分布を示した。微小血管(内径<12μm)の平均内径は、NBM刺激群(5.51±0.33μm)の方が対照群(4.93±0.23μm)より有意に(~12%)大きかった。

【考察】以上の結果は、NBM刺激中の大脳皮質実質内での血流増加反応が、組織学的に観察された大脳皮質実質内血管の拡張と相関することを示唆する。NBM刺激中の微小血管内腔の拡大は、赤血球の流れを容易にし、大脳皮質実質内血流と拡散表面積の増加をもたらす。脳虚血防御(Hotta *et al.* Jpn. J. Physiol. 52: 383-393, 2002)に寄与すると考えられる。

Keywords: cerebral cortex, parenchymal microvessels, diameter, nucleus basalis of Meynert, stimulation, blood flow, vasodilation.

J P-41 Age-related changes in growth hormone (GH) cells in the pituitary gland of male mice are mediated by GH-releasing hormone but not by somatostatin in the hypothalamus.

Sachi Kuwahara^{1,2)}, Yasuhiro Tsukamoto¹⁾, Shin Tanaka²⁾ and Fumihiko Sasaki¹⁾ (¹⁾Laboratory of Veterinary Anatomy, Osaka Prefecture University, ²⁾National Center for Geriatrics and Gerontology)

It is widely acknowledged that secretion of growth hormone (GH) declines with age in animals, but the neuroregulation in age-related GH decrease remains controversial. Using immunocytochemical and morphometric methods, we examine changes with age of growth hormone-releasing hormone (GHRH) in the arcuate nucleus, changes of somatostatin (SS) in the periventricular nucleus of the hypothalamus, and changes of GH cells in the anterior pituitary in male C57BL/6J mice at 2 months old (2 M), 4 M, 12 M and 24 M. The number of GHRH immunoreactive (-ir) neurons decreased significantly with age. The number of SS-ir neurons did not differ significantly between these all age groups. The volume of the anterior pituitary and the number of adenohipophysial parenchymal cells fell dramatically from 4 to 12 M. The proportion of GH-ir cells decreased significantly with age, and in absolute number from 4 to 12 M and in size from 2 to 4 M and from 4 to 12 M. These results suggest that the reduction in GH-ir cells in male mice is modulated by the reduction in GHRH-ir neurons, but not by SS-ir neurons.

[Key words] C57BL/6J, GH, GHRH, somatostatin, immunocytochemistry

J P-42 Comparative study of hippocampal synaptosome proteins between young-adult and aged rats with 2D-PAGE

佐藤雄治¹⁾, 山中秀徳²⁾, 鈴木祐典³⁾, 鈴木實³⁾, 戸田年総⁴⁾, 鈴木明身¹⁾, 篠原誠郎²⁾, 遠藤圭夫¹⁾ (1 都老人研 糖蛋白質, 2 アマニヤム バイオサイエンス, 3 理研-フロンティア, 4 都老人研-プロテオーム)

我々はこれまでに糖鎖構造特異的レクチンを用いた組織化学的解析から、ラット海馬においてシアロ糖蛋白質のシアル酸の発現量が老化に伴い変化すること、それはシナプス前後膜上の分子の変化であることを見出して来た。そこで今回ラット海馬よりシナプトソーム画分を調製し、若齢(9週齢)と老齢(30月齢)とで総蛋白質の発現にどのような変化を生じているのか、2D-DIGEにより比較検討し、変化した蛋白質について peptide mass finger printing(PMF)により同定を試みた。

若齢及び老齢ラット海馬よりシナプトソーム膜画分を調製し、それぞれをCy3, Cy5にて蛍光標識した。これらを同量ずつ混合し同一ゲル内で2次元電気泳動を行った。分離後 Master Imagerにより分離パターンを取り込み、若齢と老齢とを比較検討したところ、24スポットにおいて発現量の有意な変化が見られた。そこでゲル1枚で500 μ gの蛋白質を2次元電気泳動し、老若で変化したスポットを回収してAXIMA-CFRを用いたPMFにより解析し、19スポットの同定に成功した。更に、2つのスポットについては post source decay modeによるアミノ酸配列の解析も行った。

同定した蛋白質には actin 及び T-complex1 といった actin の折り畳みなどに関わる因子が含まれていた。老齢ラットでは actin の発現が上昇し、折り畳みなどに関わる因子の発現が低下していたことから、老化の過程でシナプスの細胞骨格がダイナミックに変化している可能性が示唆された。

Keywords: aging, synaptosome, 2D-DIGE, MALDI-TOF/MS, PMF

J P-43 Age-related brain pathology in SAM mice: Cytoplasmic ubiquitinated inclusions and nuclear DNA damage

島田厚良、佐藤衛、千葉陽一、齋藤優子、慶野裕美、河村則子、細川昌則
愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部

老化促進モデルマウスのひとつである SAMP10 は、加齢に伴い、大脳皮質・辺縁系・嗅脳系の萎縮と情動行動異常を伴う学習障害を自然発症する。SAMP10の脳内病変として、細胞質内ユビキチン化封入体と核内DNA傷害の病理学的検討を行った。SAMP10と、正常老化対照として、SAMR1とC57BL/6の各月齢を用いた。封入体の検討には、マウスをブアン液で灌流固定し、パラフィン切片にて各種古典的染色とユビキチン他各種免疫染色を行った。DNA傷害検出には、10%ホルマリンにて灌流固定し、パラフィン切片上でTUNEL染色を行った。その結果、老齢SAMP10では、細胞質内にユビキチン化封入体を有するニューロンが多数見られ、その数は加齢に伴って増加した。封入体は2から7ミクロン、卵円形あるいは不整形で、PAS染色に部分的陽性である以外は各種染色には陰性、ニューロフィラメント、タウ、A β も陰性であった。封入体は、嗅内野、海馬、扁桃体、視床下部、中隔、梨状野、嗅球、前頭前野に頻繁に見られた。電顕的には融合して巨大化したリポフスチンとの関連を示唆した。一方、SAMP10では、前頭前野、嗅結節、側坐核、中隔、扁桃体、視床下部のニューロンの核にTUNEL陽性像が加齢に伴って増加した。しかし、核形態はほぼ正常で、アポトーシスは起こしていなかった。以上の病変は大脳辺縁系、視床下部、前頭前野に分布することから、老齢SAMP10の情動行動異常と関連すると考える。また、大脳辺縁系に始まり、連合野皮質へと拡散するほどの老化やアルツハイマー病の病変分布と類似性があって興味深い。

Keywords: brain, limbic system, prefrontal cortex, neurodegeneration

J P-44 Accumulation of mtDNA A3243G mutation in brain tissues

針原伸二(東京大・理・生物), 仲村賢一, 田久保海善(東京都老人研・高齢者組織G), 竹内二士夫(東京大・病院・内科)

ミトコンドリアDNA(mtDNA)では、加齢による塩基置換や欠失の蓄積が報告されており、遺伝子の加齢現象の実態解明が期待されている。我々は3243番の塩基がAからGになる変異(A3243G)に着目し、病理解剖で得られた臓器試料を用いて加齢変化について検討してきたが、心室心筋における変異が加齢とともに蓄積する傾向が明らかになった。今回は脳組織について解析し、白質と灰白質の差異などについて検討した。

男性36例、女性27例の脳・左後頭葉から灰白質と白質を採取し、DNAを抽出した。mtDNAの塩基位置3243を含む200bpの断片をPCRにて増幅し、制限酵素HaeIIIにて切断する。新たな切断部位による小さな断片の比率を定量して変異率とした。

女性においてのみ、白質におけるA3243Gの平均値は灰白質における変異率の平均よりも有意に高かった。加齢変化については、白質・灰白質ともに認められなかった。白質における変異率と脳重量との関連を調べたところ、有意に負の相関傾向を示した。

女性における灰白質と白質の値の差には何らかの組織特異的な背景があるのか、男女での相違は確定的としてよいのか、などは今後、例数を増し、mtDNAの他の変異にも着目して検討していきたい。アルツハイマー型痴呆症患者では脳重量が減少することが知られており、それが白質におけるmtDNA A3243Gの変異率が脳重量との負の相関関係の原因となっている可能性もある。各個体の生前における臨床症状および病理解剖の所見なども総合して考察したい。

Keywords mtDNA A3243G 脳 白質 灰白質 加齢変化 脳重量

J P-45 The mechanism of neuroprotection by propargylamines

丸山和佳子 国立長寿医療センター 老化機構研究部 代謝研究室
永井雅代 国立長寿医療センター 老化機構研究部 代謝研究室
磯部健一 国立長寿医療センター 老化機構研究部

発表要旨

(目的) propargylamine 化合物は、当初 B 型モノアミン酸化酵素 (MAO-B) の阻害剤として開発されたが、酵素阻害作用とは独立した神経保護作用や寿命延長作用をもつことがインビトロおよびインビボの実験で証明されてきた。Propargylamine 化合物による神経保護作用の機序を明らかにすることを目的として研究を行った。

(方法) ヒト神経芽細胞腫である SH-SY5Y 細胞を N-propargylamine-1(R)-aminoindane (rasagiline) の存在下に培養し、神経保護にはたらくタンパク、mRNA の変化を Western blotting, ELISA 法、RT-PCR, gene array にて検討した。また、転写因子の活性化については Western blotting と ELISA 法を用いて解析を行った。

(結果) rasagiline はストレス防御にはたらく遺伝子群の発現を増加させた。これらの遺伝子の中でも特に、抗アポトーシスタンパクである bcl-2、bcl-xL や神経栄養因子である glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) は転写因子である NFκB の活性化を介していることが明らかとなった。

(考察) propargylamine 化合物は細胞内の転写因子を活性化させ、ストレス応答を増強させることにより神経細胞の防御と寿命延長作用を示した可能性がある。

Keywords: 神経保護, 転写因子, propargylamine 化合物, ミトコンドリア

J P-47 Distinct expression patterns of calyntenin family in cerebral cortical neurons treated with β-amyloid

内田洋子、中野俊一郎、五味不二也
東京都老人総合研究所・老年病ゲノムグループ

β-アミロイド(AB)はアルツハイマー病の病因と考えられているが、痴呆のない老人の約半数に AB の沈着が認められている。このことは、AB に神経毒性が有るだけでなく、脳内に AB に対する防御機構が存在することを示唆する。そこで、AB が神経細胞にどのような分子を発現させ、神経細胞死をどのように制御するかを解明するために、初代培養神経細胞に AB1-42 を添加し、AB によって誘導される遺伝子群を PCR-subtraction 法で探索した。そして、さらに、Northern blot や QRT-PCR によってそれらの発現誘導を確認したところ、3種類以上の遺伝子が AB によって誘導されることがわかった。その一つが calyntenin-3 であり、残る 2 つは翻訳開始点等が不明な未知遺伝子であった。

Calyntenin (Cst) family は Gln 作動性ニューロンや GABA 作動性ニューロンの後シナプス膜に存在する蛋白で、Cst-1、Cst-2、Cst-3 が同定されているが、その機能は不明である。Cst family のなかで、AB によって誘導されるのは Cst-3 のみで、Cst-1 は誘導されなかった。また、Cst-2 は AB によって発現が抑制されていた。

そこで、Cst-3 の expression construct を作製し、培養神経細胞へ導入した。現在、Cst-3 の過剰発現が神経細胞死を促進するのか、それとも抑制するのかを検討中である。

Keywords: β-amyloid, PCR-subtraction, neurotoxicity, neuroprotection, Calyntenin family

J P-46 Appearance of β-amyloid-like substances in rats caused by oxidative stress and aging

新井秀和¹⁾、福井浩二²⁾、高津博勝¹⁾、高橋武幸¹⁾、新海 正²⁾、阿部皓一³⁾、浦野四郎¹⁾
¹⁾芝浦工大・生物化学、²⁾都・老人研、³⁾エーザイ

[目的]従来より、認識機能障害が加齢に伴う慢性的な酸化ストレスによる可能性を明らかにするため、種々検討を行ってきた。既に酸化ストレスを負荷した若齢ラットでは、正常飼育した老齢ラットやビタミン E 欠乏ラットと同様に、神経末端の過酸化傷害を認め、学習能・記憶能の低下、海馬領で遅延型アポトーシスが発現することなどを報告してきた。今回、酸化ストレスおよび老化による β-アミロイドタンパク質発現の可能性について検討を試みた。

[方法]Wistar オスラット(3,12,27 月齢)を用い、酸化ストレスは、100%酸素を 3,12 月齢にそれぞれ室温で 48 時間負荷し、ビタミン E 欠乏ラットと 27 月齢ラットは大気中で飼育した。海馬領の CA1~CA3, DG 部位を用い、β-アミロイドプロテイン(1-42)キット(和光純薬)を用いて免疫組織染色を行った。

[結果]若齢ラットへの酸化ストレス負荷直後は染色される部位は認められなかったが、負荷 10 日後に CA1 および DG 部位に β-アミロイド(1-42)に特異的に呈色する物質が発現した。この時期は先に報告した記憶能低下、遅延型アポトーシス発現の時期と一致した。12 月齢ではストレスへの感受性の高さから発現時期が早かった。またストレスを負荷しない老齢ラット、若齢ビタミン E 欠乏ラットでも同じ部位に発現を認めた。以上のことから、ラットにおいて加齢に伴う慢性的な酸化ストレスで発生した活性酸素により海馬領が過酸化傷害を受け、神経細胞死、β-アミロイド様物質の蓄積を伴って認識機能障害が発生するものと推察される。

[Keywords] Cognitive impairment, Oxidative stress, β-Amyloid

J P-48 Alzheimer's disease and deiminated proteins

○石神昭人¹⁾、田口ひろみ¹⁾、小林沙織¹⁾、大澤多加子²⁾、齊藤裕子³⁾、村山繁雄³⁾、丸山直配¹⁾ (東京都老人総合研究所¹⁾加齢臓器障害研究 G、²⁾遺伝子情報研究 G、³⁾老化臨床神経科学研究 G)

[目的] 蛋白質脱イミノ化酵素 (PAD) は、蛋白質中のアルギニン残基をシトルリン残基に変換する酵素である。シトルリン残基を含む蛋白質を脱イミノ化蛋白質と総称する。本研究では、アルツハイマー病 (AD) の発症に脱イミノ化蛋白質や PAD が関与しているかを詳細に検討した。

[方法] AD 脳 (海馬領域) および同年齢コントロール (CT) 脳は、東京都老人総合研究所ブレインバンクより提供して頂いた。脱イミノ化タンパク質、PAD の検出と同定は、ウエスタン法、質量分析計を用いたプロテオーム解析により行った。免疫組織染色はジアミノベンチジンで呈色し、ヘマトキシリンで対比染色した。

[結果と考察] ウエスタン法による解析から、AD 脳では、多くの脱イミノ化蛋白質が検出された。しかし、CT 脳では脱イミノ化蛋白質がほとんど認められなかった。一方、PAD2 は AD 脳、CT 脳ともに検出された。しかし、その発現量は AD の方が多かった。免疫組織染色の結果、AD 海馬領域では、脱イミノ化蛋白質が強染された。細胞の形態からグリア細胞の一つ、アストロサイトが陽性であることがわかった。また、PAD2 の染色でもアストロサイトが強染された。PAD2 はアストロサイトに存在し、外的・内的要因により活性化され、脱イミノ化蛋白質が出現すると考えられる。

[Keywords] Alzheimer's disease, deiminated protein, peptidylarginine deiminase

第 二 部

【総 説】

抗老化遺伝子—ショウジョウバエの研究から—

相垣 敏郎

東京都立大学大学院理学研究科 生物科学専攻

要約

遺伝学は複雑な生命現象を分子レベルで解明するための優れた方法論である。突然変異体を用いることにより、生体内で単一の遺伝子機能を操作し、その表現型に基づいて問題の遺伝子の生物学的機能を明らかにすることができる。ショウジョウバエは先進的な遺伝学的技法が発達したモデル生物である。機能破壊、および機能獲得変異体を用いて、寿命延長作用を有する抗老化遺伝子が特定されている。それらの遺伝子は機能的に以下の5つのカテゴリーに分類される。1) 抗酸化酵素遺伝子、2) インスリン/インスリン様成長因子経路関連遺伝子、3) Gタンパク質共役受容体遺伝子、4) エネルギー代謝関連遺伝子、5) JNK/SAPKストレス応答経路関連遺伝子。これらの遺伝子およびそれらが関係する情報伝達経路は、いずれも脊椎動物と無脊椎動物の間で進化的に保存されており、ほ乳類を含めた他の生物の寿命決定機構においても同様な役割を果たしている可能性を示唆する。

はじめに

生物の種に固有の寿命があることは、寿命の決定に遺伝的基盤あることを示す最もわかりやすい根拠になっている。しかし、そのことは、老化過程において発生過程のような時間軸にそった遺伝的プログラムの展開があることを意味するものではない。生物が積極的に老化して寿命を規定することが自然選択上有利になるとは一般的には考えにくい。仮に、そのような遺伝子があるとすれば、その突然変異によって不老長寿変異体が出現するはずである。経時的な変化が起こる点では発生過程と共通しているものの、老化に伴って生ずる形質は長い時間をかけて発現される微妙な変化の蓄積であり、多分に確率的要素を含んでいる。遺伝的要因によって規定されているのは基本的には寿命であろう。寿命を決定する機構とは、生存期間を保証する機構である。抗老化機構と称する方がより正確かもしれない。生存保証機構の性能が保証期間を過ぎて低下して死に至るまでの過程をわれわれは老化と呼んでいる。老化による形質の変化が顕著にあらわれるのは比較的老化が進んだ段階である。生命維持機構が破綻しはじめた後に起こる変化は、個体のもつ遺伝的背景や環境に依存して多様性を示す。ここで起こる個々の現象の変化を研究することが医学的に意味をもつ場合もあるが、多様な現象に翻弄されると老化機構の本質が見えてこない可能性がある。老化の過程が寿命決定機構の破綻の一幕に過ぎないとすれば、生存保証機構の解明によって、老化機構もまた浮き彫りになるであろう。このような見方は単純化しすぎとの批判もあろうが、寿命は明確な表現型であり、遺伝学的解析において最も信頼できる指標となる。本稿では、ショウジョウバエにおいて、生存保証期間を延長する作用をもつ抗老化遺伝子

について、著者らの研究を含めて最近の成果を概観し、解説する。

抗老化遺伝子探索モデル系としてのショウジョウバエ

ショウジョウバエが遺伝学の研究材料として登場してからほぼ1世紀になる。遺伝現象そのものを扱う学問であった遺伝学は、いまや、広範な生命現象を対象として、その分子メカニズムを解明するための強力な方法論として位置づけられている。突然変異体を用いることにより、生体という複雑な環境の中で、単一の遺伝子機能を操作し、その表現型への影響から原因遺伝子の生物学的機能を明らかにすることができる。モデル生物における研究成果が多く、研究者の関心を集めるようになったのは、生物の種を超えた遺伝子機能の保存性が広く認識されたことによる。ヒトを含めて、さまざまな生物のゲノム配列が決定されたことにより、その認識は一段と深まっている。原理的な機構を解明するには、解析に適したモデル生物の実験系を用いるのが有利である。老化や寿命の制御機構を探るためのモデル系としては、短命であること、実験室で飼育しやすく、突然変異体を解析するための遺伝学や分子生物学が使えるものが適している。長寿命変異体の有用性については異論のないところであろうが、実は、短寿命変異体も等しく重要である。単一遺伝子機能の異常によって抗老化機構の性能が低下したとすれば、その遺伝子は正常な生命機能維持に必要な分子をコードしていることを意味する。変異体は正常な老化過程とは異なる表現型を示す可能性が高いが、その特徴は変異遺伝子本来の役割を知る手がかりとなる。また、短寿命変異体の原因遺伝子は変異のモードを転換することによって、長寿命の表現型を示す可能性もある。すなわち、短寿命の原因が遺伝子機能の低下によるものであれば、発現レベルを増大させることによって、逆に機能亢進が原因となっていれば、発現レベルを低下させる操作によって寿命延長効果を示す場合もありうる。

連絡先：〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1

Tel:0426-77-1111.

E-mail:aigaki-toshiro@c.metro-u.ac.jp

これまでに実験的に検証されたショウジョウバエの抗老化遺伝子は、以下の5つの機能的なカテゴリーに分類される：1) 抗酸化酵素遺伝子、2) インスリン/インスリン様成長因子経路関連遺伝子、3) Gタンパク質共役受容体遺伝子、4) 代謝関連遺伝子、5) JNK/SAPK ストレス応答経路関連遺伝子。以下、順番に解説する。

1) 抗酸化酵素遺伝子

Cu/Znスーパーオキシドデスムターゼ(SOD)はスーパーオキシドラジカルを除去し、細胞を酸化ストレスから防御する重要な酵素である。この酵素をコードする遺伝子sod1を破壊したショウジョウバエ変異体はパラコートに対して高感受性を示し、寿命は短縮される[1]。ショウジョウバエのsod1遺伝子を1コピー増やしても、寿命の延長はみられなかったが[2,3]、ヒトsod1遺伝子を運動神経で強制発現させたところ、約40%寿命の延長が認められた[4]。sod1変異体の酸化ストレス高感受性はこの導入遺伝子によって回復することから、ショウジョウバエsod1遺伝子はヒトsod1と機能的にも相同である[4]。過剰発現による寿命延長効果に関して異なる結果となった原因は不明である。発現させる細胞や発現レベル、あるいは遺伝学的背景の差異などが考えられる。遺伝学的背景の差による影響を排除する手段として、成虫期に一過性の熱ショック処理によって恒常的な導入遺伝子の発現を誘導できる方法が開発されている。この方法を用いて、sod1の過剰発現を行ったところ、対照群に比べて48%の寿命延長が認められた[5]。なお、sod1の過剰発現による寿命の延長は対照群の寿命が短いときに顕著であることも報告されている[6]。

Mn SODはROS(活性酸素種)の主要な発生源であるミトコンドリアに局在する。RNA干渉法を用いてMnSODをコードするsod2遺伝子の発現を低下させた場合、発生過程には顕著な異常はみられないが、成虫のパラコート耐性が低下し、寿命も短縮される[7]。一方、過剰発現させた場合には、平均寿命で16%、最長寿命で15%の延長が認められた[8]。

カタラーゼ活性が寿命に及ぼす影響は少ないようである。酵素活性が野生型の14%に低下した変異体でも寿命は野生型と同程度であり[9]、cat遺伝子を導入して過剰発現させた系統(80%増)においても寿命の延長は起こらなかった[10]。

グルタチオン還元酵素(GR)およびグルタチオンは老化したショウジョウバエで減少することが報告されている[11]。GRを過剰発現する個体(100%増)は、高酸素条件下で野生型よりも長寿命であったが、通常の飼育条件では野生型との差は認められなかった[12]。

メチオニンスルフォキシド還元酵素(MSRA)はタンパク質中の酸化メチオニン残基を還元してメチオニンに戻す反応を触媒する酵素である。酵母やヒトTリンパ球においてMSRAを過剰発現すると、細胞内酸化メチオニンの含量が減少し、酸化ストレスに対して生存率が高くなる[13]。ショウジョウバエの神経系でMsrA遺伝子を過剰発現させると、70%を超える大幅な寿命の延長がみられた[14]。過剰発現個体は、パラコート耐性を示すほか、

活動性は高く、生殖能力も野生型に比べて優れており、高いクオリティ・オブ・ライフを維持していた。

2) インスリン/インスリン様成長因子(IGF)経路関連遺伝子

線虫の長寿命関連遺伝子として同定されたage-1やdaf-2はインスリン/IGF情報伝達経路に関わるものであり、ストレス耐性にも密接に関連している[15,16]。この経路はほ乳類を含めて進化的に保存されており、ショウジョウバエにも相同遺伝子が存在する。

インスリン受容体キナーゼの基質のひとつであるchico遺伝子の機能破壊変異体では、雌の寿命が中央値で48%、最長で41%延長された[17]。雄は野生型よりやや短寿命になったが、ヘテロ接合体では雌雄ともに長寿命となった。変異体は飢餓ストレスに対して抵抗性を示すと共に、SOD活性が上昇していた[17]。

インスリン様成長因子受容体の機能破壊変異体は致死であるが、アレルを適切に組み合わせることにより、キナーゼ活性が低下した変異体を作成することができる[18]。変異体は体のサイズが小さく、不妊であるが、対照群に比べて長寿命であった。内分泌系の機能が低下しており、休眠するショウジョウバエやchico変異体にみられる体液中のトリグリセリド濃度の上昇が認められた。また、SOD活性も野生型の2倍に上昇していた。これらの表現型は幼若ホルモン処理によって回復する[18]。

線虫のage-1やdaf-2変異体が長寿命になるためには、FOXOファミリー転写因子をコードするdaf-16の機能を必要とする[19]。ショウジョウバエのゲノムには唯一のFOXOファミリー遺伝子としてdFOXOが存在する。dFOXO遺伝子はインスリン/IGFシグナルの下流で機能すること、およびその機能破壊変異体は酸化ストレスに対して高感受性になることが示されている[20]。

3) Gタンパク質共役受容体遺伝子

mth (methuselah) は野生型に比べて35%長寿命になる変異体である[21]。トランスポゾン挿入によって生じた機能低下変異体であり、その原因遺伝子は迅速にクローニングされた。mth遺伝子はGタンパク質共役受容体の構造をもつタンパク質をコードしており、外部からのシグナル伝達に関与していると考えられるが、具体的な機能は不明である。変異体は各種のストレス(乾燥、高温、パラコート)に対して抵抗性を示す。完全に機能を欠失するとホモ接合体で致死となることから発生に不可欠な遺伝子である。

4) エネルギー代謝関連遺伝子

Indy (I'm not dead yet)変異体は野生型に比べて平均寿命が約2倍になる[22]。研究室で維持されていたトランスポゾン挿入系統の中から偶然発見されたものであり、原因遺伝子はクレブス回路の中間産物であるジカルボン酸やトリカルボン酸の膜輸送に関わるトランスポータータンパク質をコードしている。Indy変異はエネルギー代謝に影響を与えるものと考えられるが、成長速度や生殖能力は野生型に劣らない。変異体では遺伝子の発現レベルが低下しており、ヘテロ接合体で長寿命となるが、さらに低下させると短寿命になる。正確な機

構は不明であるが、カロリー制限による効果と同様のことが起こっている可能性がある。

5) JNK/SAPKストレス応答経路関連遺伝子

筆者らは、酵母の転写活性化因子GAL4の標的配列(UAS)を含むベクターをショウジョウバエのゲノムにランダムに挿入して、隣接する遺伝子を強制発現することによって機能獲得変異体を効率良く作成する方法を開発した[23]。ベクターが遺伝子の転写方向と逆向きに挿入された場合には、アンチセンス鎖が強制発現され、結果として遺伝子機能が低下した変異体も生じる。強制発現を誘導する組織や時期を制御できることも、老化がおこる過程を遺伝学的に解析するのに適している。このスクリーニングによって、強制発現によって寿命延長効果を示す複数の候補遺伝子を同定した[24]。その中で、ほ乳類のPOSH (Plenty of SH3s) のショウジョウバエ相同遺伝子について、独立に作成した遺伝子導入システムを用いて詳細な解析を行い、成虫神経系で強制発現することによって長寿命になること、強制発現によってJNK/SAPKストレス応答経路を活性化すること、発生過程でPOSHを強制発現すると、細胞死や細胞分化異常を引き起こすことを明らかにした[25]。その後、JNK経路の活性化が寿命に及ぼす効果に関して体系的な解析がおこなわれた。その結果、bsk(JNK)やhep(JNKK)の活性化は寿命を延長し、逆にJNK脱リン酸化酵素であるpucを発現させてJNK経路の活性化を抑制すると短寿命になることが示された[26]。一方、ショウジョウバエTNF α スーパーファミリー遺伝子eigerを発生過程で強制的に発現させるとJNK経路を活性化してアポトーシスを引き起こす[27]。従って、JNKシグナル経路は、生存または死のどちらの方向にも導きうるものであり、その寿命に及ぼす効果は単純ではない。生と死のバランスを制御する機構が興味深い。

おわりに

ショウジョウバエの寿命を延長する作用をもつ抗老化遺伝子について概観した。ここに紹介した抗老化遺伝子、およびそれらが関係する情報伝達経路は、いずれも脊椎動物と無脊椎動物の間で進化的に保存されており、ほ乳類を含めた他の生物の寿命決定機構においても同様な役割を果たしている可能性がある。生体内においては、酸素呼吸にともなって発生するフリーラジカルをはじめ、サイトカインやホルモンによる刺激、あるいは細菌による感染など、さまざまな外的・内的要因によるストレスが恒常的に発生しているものと考えられる。抗老化遺伝子の作用は単純ではないものもあり、個々の遺伝子が具体的にどのように関与しているのかを解明するのが今後の課題である。そのためには、周辺分子を含めた制御ネットワークを解明する必要がある。また、生体防御機構は、分子、細胞、器官、個体の異なる階層で機能する。抗老化機構の全体像をとらえるためには、さらに多くの抗老化遺伝子が見出すことも必要である。モデル生物を使った抗老化遺伝子のゲノムスケールの探索とその制御ネットワークの解明は、ヒト加齢性疾患の予防、診断や

治療の戦略に貴重な示唆を与えるものと期待される。

老化研究に関心を示す大学院生や研究者は増えているが、実際に研究対象として選択する研究者の数はまだそれほど多くない。具体的な研究目標設定の難しさが一因であろう。寿命を指標とした生命維持機構の遺伝学的アプローチによる解明は、漠然とした老化形質を対象とするより具体的で十分面白いテーマである。

文献

1. Phillips JP, Campbell SD, Michaud D, Charbonneau M and Hilliker AJ. Null mutation of copper/zinc superoxide dismutase in *Drosophila* confers hypersensitivity to paraquat and reduced longevity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2761-2765, 1989.
2. Seto NO, Hayashi S and Tener GM. Overexpression of Cu-Zn superoxide dismutase in *Drosophila* does not affect life-span. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4270-4274, 1990.
3. Orr WC and Sohal RS. Effects of Cu-Zn superoxide dismutase overexpression of life span and resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch Biochem Biophys* 301:34-40, 1993.
4. Parkes TL, Elia AJ, Dickinson D, Hilliker AJ, Phillips JP and Boulianne GL. Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motorneurons. *Nat Genet* 19:171-174, 1998.
5. 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.
6. Orr WC and Sohal RS. Does overexpression of Cu,Zn-SOD extend life span in *Drosophila melanogaster*? *Exp Gerontol* 38:227-230, 2003.
7. Mockett RJ, Orr WC, Rahmandar JJ, Benes JJ, Radyuk SN, Klichko VI and Sohal RS. Overexpression of Mn-containing superoxide dismutase in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch Biochem Biophys* 371:260-269, 1999.
8. Sun J, Folk D, Bradley TJ and Tower J. Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the lifespan of adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 161:661-672, 2002.
9. Orr WC, Arnold LA and Sohal RS. Relationship between catalase activity, life span and some parameters associated with antioxidant defenses in *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev* 63:287-296, 1992.

10. Orr WC and Sohal RS. The effects of catalase gene overexpression on life span and resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch Biochem Biophys* 297:35-41, 1992.
11. Sohal RS, Arnold L and Orr WC. Effect of age on superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides, TBA-reactive material, GSH/GSSG, NADPH/NADP+ and NADH/NAD+ in *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev* 56:223-235, 1990.
12. Mockett RJ, Sohal RS and Orr WC. Overexpression of glutathione reductase extends survival in transgenic *Drosophila melanogaster* under hyperoxia but not normoxia. *FASEB J* 13:1733-1742, 1999.
13. Moskovitz J, Flescher E, Berlett BS, Azare J, Poston JM and Stadtman ER. Overexpression of peptide-methionine sulfoxide reductase in *Saccharomyces cerevisiae* and human T cells provides them with high resistance to oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:14071-14075, 1998.
14. Ruan H, Tang XD, Chen ML, Joiner ML, Sun G, Brot N, Weissbach H, Heinemann SH, Iversen L, Wu CF and Hoshi T. High-quality life extension by the enzyme peptide methionine sulfoxide reductase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:2748-2753, 2002.
15. Kimura KD, Tissenbaum HA, Liu Y and Ruvkun G. *daf-2*, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277:942-946, 1997.
16. Paradis S and Ruvkun G. *Caenorhabditis elegans* Akt/PKB transduces insulin receptor-like signals from AGE-1 PI3 kinase to the DAF-16 transcription factor. *Genes Dev* 12:2488-2498, 1998.
17. Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, Oldham S, Stocker H, Hafen E, Leivers SJ and Partridge L. Extension of life-span by loss of *CHI-CO*, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science* 292:104-106, 2001.
18. Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM and Garofalo RS. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 292:107-110, 2001.
19. Lin K, Hsin H, Libina N and Kenyon C. Regulation of the *Caenorhabditis elegans* longevity protein DAF-16 by insulin/IGF-1 and germline signaling. *Nat Genet* 28:139-145, 2001.
20. Junger MA, Rintelen F, Stocker H, Wasserman JD, Vegh M, Radimerski T, Greenberg ME and Hafen E. The *Drosophila* Forkhead transcription factor FOXO mediates the reduction in cell number associated with reduced insulin signaling. *J Biol* 2:20.1-17, 2003.
21. Lin YJ, Seroude L and Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science* 282:943-946, 1998.
22. Rogina B, Reenan RA, Nilsen SP and Helf SL. Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*. *Science* 290:2137-2140, 2000.
23. Toba G, Ohsako T, Miyata N, Ohtsuka T, Seong KH and Aigaki T. The gene search system: A method for efficient detection and rapid molecular identification of genes in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 151:725-737, 1999.
24. Seong KH, Ogashiwa T, Matsuo T, Fuyama Y and Aigaki T. Application of the gene search system to a screen for longevity genes in *Drosophila*. *Biogerontology* 2:209-217, 2001.
25. Seong KH, Matsuo T, Fuyama Y and Aigaki T. Neural-specific overexpression of *Drosophila* plenty of SH3s (*DPOSH*) extends the longevity of adult flies. *Biogerontology* 2:271-281, 2001.
26. Wang MC, Bohmann D and Jasper H. JNK signaling confers tolerance to oxidative stress and extends lifespan in *Drosophila*. *Dev Cell* 5:811-816, 2003.
27. Igaki T, Kanda H, Yamamoto-Goto Y, Kanuka H, Kuranaga E, Aigaki T and Miura M. Eiger, a TNF superfamily ligand that triggers the *Drosophila* JNK pathway. *EMBO J* 21:3009-3018, 2002.

Anti-aging genes in *Drosophila*

Toshiro Aigaki

Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University
Minami-osawa, Hachioji-shi, Tokyo 192-0397 Japan

Summary

Genetics is a powerful approach to dissect complex biological processes, such as aging. It allows alteration of a single gene function *in vivo*, and provides definitive functional assignments. *Drosophila melanogaster* is an excellent model organism in which advanced molecular and genetic techniques are available. Here, I review recent studies on genes critical for longevity determination in this species. Genes belonging to five functional categories have been successfully demonstrated to be capable of extending longevity either in reduction- or gain-of-function mutations. Among these are, 1) Antioxidant enzymes: Cu/Zn superoxide dismutase (*sod1*) and Methionine sulfoxide reductase A (*MsrA*), 2) Insulin/insulin-like growth factor (IGF) signaling pathway related genes: Insulin-like receptor (*InR*), or a null mutation of a insulin receptor substrate (*chico*). 3) G-protein-coupled-receptor: *methuselah* (*meth*), 4) Energy metabolism-related gene: *I'm not dead yet* (*Indy*) encoding a tricarboxylic acid transporter, and 5) JNK/SAPK stress response pathway related genes: *POSH*, *bsk* (Jun N-terminal kinase, *JNK*), *hep* (*JNK* kinase) and *puc* (*JNK* phosphatase). These genes and signal transduction pathways are evolutionarily conserved between vertebrates and invertebrates, suggesting that their roles in longevity determination may also be conserved.

Key words: *Drosophila melanogaster*, longevity, antioxidant enzymes, insulin/insulin-like growth factor pathway, JNK/SAPK stress response pathway

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28巻 第2号

平成16年（2004）5月31日

発行者 日本基礎老化学会
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
東京都老人総合研究所内
電話 03-3964-3241

編集 編集委員会

印刷所 三陽工業株式会社

基礎老化学会サーキュラー 第64号

日本基礎老化学会 Japan Society for Biomedical Gerontology

2004年5月31日 発行

第26回日本基礎老化学会シンポジウム……………	1
E-mail登録のお願い……………	2
事務局より……………	2

【第26回日本基礎老化学会シンポジウム】

日時：平成16年11月6日（土）午後1時より5時

会場：養育院記念講堂

（〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2 東京都老人総合研究所）

http://www.tmig.or.jp/J_TMIG/about/map.html

「老化を制御するシグナル：エネルギー代謝とストレス応答の交差点」

13:00～13:10

オーバービュー：下川 功（長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科）

Part 1 座長：石井直明（東海大学医学部）／磯部健一（国立長寿医療研究センター、研究所）

13:10～13:50 チオレドキシン・チオレドキシン結合タンパク質によるストレス応答・寿命制御：淀井淳司（京都大学ウイルス研究所・生体応答学研究部門）

13:50～14:30 酸化ストレス性細胞障害を防御するシグナル伝達と細胞内アンチオキシダントによる制御：近藤宇史（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・原爆後障害医療研究施設・分子情報制御研究分野）

14:30～14:45 休憩

Part 2 座長：本田修二（東京都老人総合研究所）／本山 昇（国立長寿医療研究センター、研究所）

14:45～15:25 体内年周リズムが制御する冬眠動物の長寿：近藤宣昭（三菱化学生命科学研究所）

15:25～16:05 Modulation of NF- κ B signalling in the aging process by calorie restriction：Chung, Hae Young (Pusan National University, College of Pharmacy)

16:05～16:45 糖代謝におけるフォークヘッド転写因子Foxo1の役割：中江 淳（神戸大学大学院医学系研究科・応用分子医学講座）

16:45～16:55 まとめと展望：後藤佐多良（東邦大学薬学部）

【E-mail登録のお願い】

メールアドレスをお持ちの皆様は、アドレスを下記宛にE-mailでお送りくださいますよう、ご協力よろしくお願ひ申し上げます。

E-mail宛先：jsbg@tmig.or.jp

日本基礎老化学会事務局

庶務幹事 新海 正

【事務局より】

基礎老化学会サーキュラー第63号の理事会報告の中の、出・欠者を「出席者：後藤会長、石井、小泉、下川、田平、樋口、廣川、細川、三井、森（以上理事）、神田（以上監事）、金子、白澤、新海（以上幹事）計14名 欠席者：丸山、加治（以上理事）、浦野（以上監事）計3名」に、国際交流についての中の「第3回日韓基礎老化学会は第7回アジア/オセアニア国際老年学会議」を「第3回日韓基礎老化学会は第26回日本基礎老化学会大会」に、編集委員会よりの中の「編集委員長を細川理事から石井理事に変更した」を「編集委員長を神田理事から樋口理事に変更した」に訂正いたします。ご迷惑をおかけいたしましたこととお詫びいたします。

日本基礎老化学会ホームページは更新しています。是非ご覧ください。

<http://www.tmig.or.jp/jsbg>

入退会、住所変更、会費等についての手続きは、日本学会事務センターにて取り扱っています。

〒113-8622 東京都文京区本駒込5-16-9 学会センター C21

Tel：03-5814-5810 Fax：03-5814-5825

日本学会事務センター 担当：金子恵久

また、入会申し込みにつきましては、日本基礎老化学会ホームページにも申し込み方法を掲載してありますので、ご利用ください。

学会事務局へのお問い合わせ等は、メール、郵便、Faxでお願いします。

〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2 東京都老人総合研究所内

E-mail：jsbg@tmig.or.jp Fax：03-3579-4776

庶務幹事 新海 正

基礎老化学会サーキュラー 第64号

2004年5月31日 発行

日本基礎老化学会

編集委員 白澤 卓二（幹事）

事務局 〒173-0015

東京都板橋区栄町35-2

東京都老人総合研究所

印刷所 三陽工業株式会社