

BIOMEDICAL GERONTOLOGY

基礎老化研究

第26回日本基礎老化学会シンポジウム

プログラム・発表抄録

総説

老化とアミロイドーシス

樋口京一、付 笑影

カロリー制限による抗老化・寿命延命作用—代謝の変化から見たそのメカニズム—
樋上賀一

線虫におけるミトコンドリア代謝と老化・寿命のメカニズム

松田七美

研究報告

SMP30の抗老化作用と分子機能の検討 近藤嘉高、石神昭人、下門顕太郎、丸山直記

アルツハイマー病脳におけるアポトーシスとアミロイドβ蛋白質 武田和也

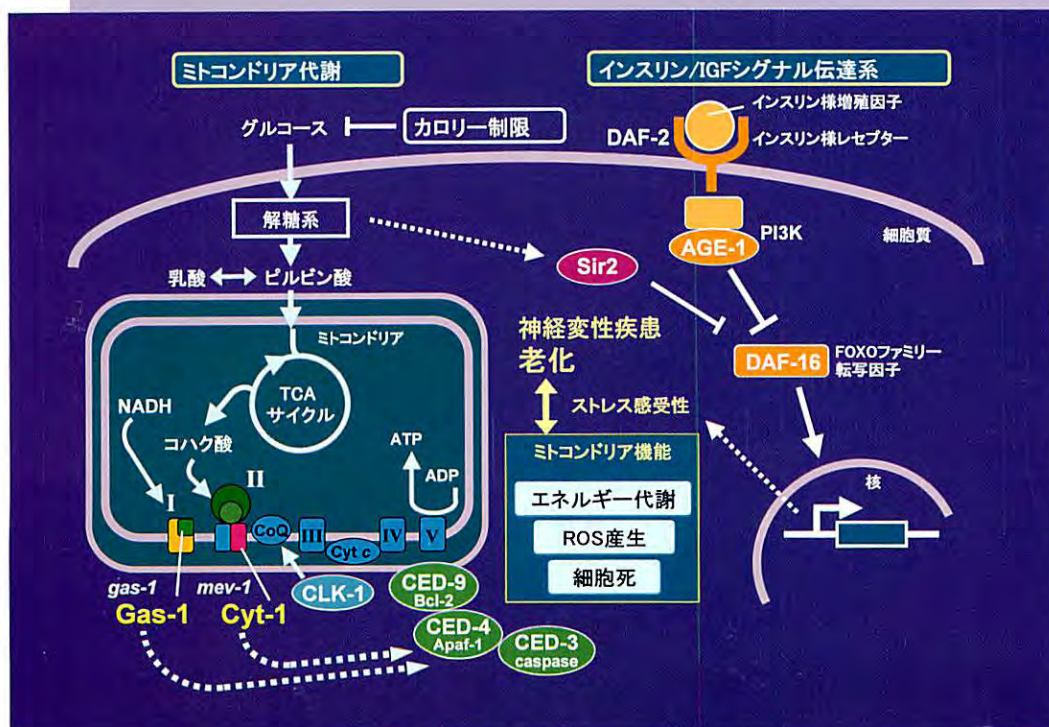
随筆

基礎老化研究あれこれ(2) あなたは何歳まで生きられる? 白澤卓二

お知らせ

国際スポーツ医科学ネットワークフォーラム長野2004

三浦家の長寿の秘密を探る—介護予防にむけて—



- 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
- 神田健郎 東京都老人総合研究所
〒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
- Kenro Kanda, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

この雑誌について（投稿される方へ）

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

1. 依頼・投稿による総説を含み全ての原稿の採用については、編集委員会で決定する。総説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る。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26回日本基礎老化学会シンポジウム	
プログラム	1
抄録	2-6
総説	
老化とアミロイドーシス	
樋口京一、付 笑影	7-13
総説	
カロリー制限による抗老化・寿命延命作用—代謝の変化から見たそのメカニズム—	
樋上賀一	15-20
総説	
線虫におけるミトコンドリア代謝と老化・寿命のメカニズム	
松田七美	21-27
研究報告	
SMP30の抗老化作用と分子機能の検討	
近藤嘉高、石神昭人、下門顕太郎、丸山直記	29-32
研究報告	
アルツハイマー病脳におけるアポトーシスとアミロイドβ蛋白質	
武田和也	33-37
随筆	
基礎老化研究あれこれ(2)	
あなたは何歳まで生きられる?	
白澤卓二	39
お知らせ	
国際スポーツ医科学ネットワークフォーラム長野2004	41-42
三浦家の長寿の秘密を探る—介護予防にむけて—	43

CONTENTS

<REVIEW>	
Aging and Amyloidosis	
Keiichi Higuchi and Xiaoying Fu	7-13
<REVIEW>	
Altered Energy Metabolism in Anti-aging and Lifespan Extension by Caloric Restriction	
Yoshikazu Higami	15-20
<REVIEW>	
Mitochondrial metabolism and mechanisms of aging and longevity in <i>C. elegans</i> .	
Nanami Senoo-Matsuda	21-27
<PROGRESS REPORT>	
Anti-aging action of SMP30	
Yoshitaka Kondo, Akihito Ishigami, Kentaro Shimokado, and Naoki Maruyama	29-32
<PROGRESS REPORT>	
Apoptosis and Amyloid beta-protein in Alzheimer's disease brain	
Kazuya Takeda	33-37

表紙：線虫の老化・寿命関連因子とミトコンドリア機能
詳しい説明は、21~27ページを参照。

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

テーマ：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

プログラム

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）

Part1 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 チオレドキシニン・チオレドキシニ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^{1,2}、吉田徹¹、岡新一¹、増谷弘¹、中村肇²（¹京都大学ウイルス研究所生体応答学研究部門・²京都大学医学部附属病院探索医療センターチオレドキシニンプロジェクト）

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

Part2 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 signaling in the aging process by calorie restriction: Chung, Hae Young (College of Pharmacy, Pusan National University)

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・糖尿病代謝内科）

16:45-16:55 まとめと展望：後藤佐多良（東邦大学薬学部）

発表抄録

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・医療科学専攻・病理学／老化学

実験動物の老化現象の発現を遅延し、寿命を延長する再現性のある方法は、近年までカロリー制限に限られていた。カロリー制限の抗老化、寿命延長効果は、実験室のマウスやラットばかりではなく、酵母や線虫からイヌまで、広範囲な動物で確かめられた。米国で進行中のサルを用いた研究では、ヒトを含めた霊長類にも効果が期待されている。これらのことは、カロリー制限に対する反応経路、つまり老化や寿命に関連し、制御可能なシステムが進化の過程で保存されてきたことを示唆している。進化生物学的には、食物不足などの外界からのストレスに対する神経内分泌系の適応を制御する経路が、結果的に老化や寿命を制御していることが予測されている。しかしながら、この分子基盤は完全には理解されていない。

一方、線虫の長寿命変異種の解析によって、2つの異なる経路、Daf-2/Age-1/Daf-16系とClk-1系が寿命を制御していることが明らかにされた。

Daf-2、Age-1、Daf-16は、それぞれほ乳類のインスリン様受容体、フォスファチジルイノシトール3リン酸キナーゼ (PI3K)、転写因子であるFoxOに相同であることが示された。通常Daf-2-Age-1はDaf-16を抑制的に制御している。Daf-2-Age-1系のシグナルが減弱するとDaf-16の転写因子としての活性が増強し、遺伝子の発現が変化し、長寿の形質となることが示唆されている。食物が豊富な環境では、Daf-2-Age-1はシグナルが強くDaf-16を抑制しているが、食物が不足する場合、Daf-2-Age-1系が減弱し、Daf-16は活性化する。つまり、Daf-2-Age-1系はエネルギー環境のセンサーとして働いていると考えることもできる。1990年代後半から、ほ乳類においても、単一の遺伝子の変異によって動物の寿命が延長することが報告され始めた。その多くは、成長ホルモン (GH)-インスリン様成長因子 (IGF)-1系が減弱する変異であった。これらの動物では、同時に血中インスリンの低下、インスリン感受性の増加が引き起こされていた。つまり、これらのマウスやラットは線虫のDaf-2経路の長寿命変異種と相同であると考えられた。

一方、clk-1はミトコンドリアの電子伝達系に重要なUbiquinone (CoQ9)の生合成に関与する酵素をコードする遺伝子で、長寿命clk-1変異種では、CoQ9が欠損するが、その前駆体や食物として与えられる大腸菌のCoQ8は増加している。つまり、この変異は細胞のエネルギー代謝とredox制御に関与していることが示唆される。ほ乳類におけるclk-1変異種と相同なモデルは未だ報告されていないが、redox制御に関与することが示唆される長寿命変異種として、チオレドキシシン (Trx) 過剰発現マウス、Catalaseをミトコンドリアで過剰発現するように遺伝子改変したマウスが報告されている。

これらの長寿命モデルのもう一つの特徴は、酸化的ストレスを含む外界からのストレスに多くが耐性であることである。

よって、エネルギー摂取の低下やそれを模倣するシグナルの変化、ミトコンドリアにおけるエネルギー代謝とredox制御の変化、これらにともなうストレス応答の変化 (多くは増強) が老化を遅延し、寿命を延長することが示唆される。この分子基盤をより明確にするために、このシンポジウムは企画された。

チオレドキシシン・チオレドキシ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^{1,2}、吉田 徹¹、岡 新一¹、増谷 弘¹、中村 肇²

¹京都大学ウイルス研究所生体応答学研究部門・²京都大学医学部附属病院探索医療センターチオレドキシシンプロジェクト

近年哺乳動物を含めた様々なモデル系生物において、寿命に影響を与える突然変異体の多くの責任遺伝子が酸化ストレスの産生メカニズムや防御機構と深く関係することが明らかになり、酸化ストレスに対する防御システムが寿命制御に関わる重要な生体機構の一つであることが示唆されている。我々は抗酸化作用を示す生体防御蛋白チオレドキシシン (TRX) 及びその阻害因子と考えられるTRX結合タンパク質 (TBP-2)の機能の解明を進めてきた。ヒトTRXは成人T細胞白血病由来因子 (ADF)として、我々が遺伝子クローニングした分子量12kDの小さなタンパク質である。TRXは大腸菌から哺乳動物までよく保存されたCys-Gly-Pro-Cysの活性部位をもち、ラジカル消去作用や抗酸化作用を示すなど細胞内外のレドックス環境を調節する機能タンパクとして働いている。また、NF- κ BやAP-1などのレドックス関連転写因子の活性を制御するほか、apoptosis signal regulating kinase-1 (ASK1)やp38MAPKの活性を制御することによって、細胞増殖やアポトーシスシグナル伝達に深く関わることが知られている。さらに、我々は β -actin promotorにより

ヒトTRXを全身に過剰発現するTRXトランスジェニック (tg) マウスを作成し、これらが虚血、感染、炎症に伴う酸化ストレスに対して強い抵抗性を示すほか、野生型に比べて個体寿命の延長が認められることを明らかにした。一方、我々がyeast two hybrid法により TRX結合蛋白として同定したTRX結合蛋白質 (TBP-2) は、ビタミンDにより誘導されるvitamin D3 up-regulated protein 1 (VDUP1) と同一分子であり、還元型TRXと結合して、TRXの還元作用を負に制御することが知られている。我々はHTLV-I 陽性IL-2非依存性T細胞でTBP-2の発現が消失しており、TBP-2のectopicな過剰発現によってp16の発現上昇及びG1 cell cycle arrest を引き起こし、細胞増殖が抑制されることを明らかにした。また、ビタミンD代謝異常や脂肪組織の減少が認められる老化モデルマウスklothoにおいてTBP-2の発現が上昇していることを確認している。一方、高脂血症自然発症マウスにおいて、TBP-2遺伝子に変異があることについても最近報告がされている。我々はTBP-2によるTRX還元作用の抑制や細胞増殖に対する抑制効果、脂質代謝などへの影響を詳細に調べるために、TBP-2のノックアウト(KO)マウス及び tg マウスの作製をこのほど行い、それぞれ安定したラインを得ることに成功した。これらのTBP-2遺伝子改変マウスの解析によって得られた知見をもとに、TBP-2遺伝子と糖代謝異常や脂質代謝異常などについても報告する。

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)

Takahito Kondo, Department of Biochemistry and Molecular Biology in Disease, Nagasaki University Graduate School of Medical Sciences.

酸化ストレスが老化を促進させるという考えは、既に1956年にDenham Harman によってThe Free Radical Theory of Agingとして提唱されたもので、近年再認識されている。この説は、酸素呼吸を行う中で発生する活性酸素による連続した組織細胞障害が老化と死を生じるとする考えであり、近年活性酸素種(reactive oxygen species, ROS)の産生とその消去機構の研究が進展し、さらにROSが細胞障害ばかりでなく、細胞内情報伝達を含めた殆どの細胞機能の制御に関連することが明らかにされるとともに、その制御機構の破綻が老化を促進するという研究も進んでいる。

ROSは種々の条件下で生体内に発生し、酸化ストレスとしてタンパク質、脂質、核酸を酸化修飾する。酸化修飾された生体構成成分が蓄積することが老化の促進につながる。例えば、種々の酸化ストレスが過剰になれば酸化ストレスで修飾されたタンパク質が増加して蓄積してくる。修飾されたタンパク質はクロスリンクしやすいために、プロテアソームでのタンパク分解を受けづらくなっているのも一因である。過酸化脂質はDNA修飾やタンパク修飾を引き起こす。細胞にとって代表的な酸化ストレスは、放射線、炎症細胞、大気汚染物質などの外因性ROSとミトコンドリア由来の内因性ROSがある。ROSが発生した細胞は、大部分を抗酸化酵素の働きで消去するように働く。

ROSは細胞内小器官を傷害し、直接アポトーシスへと向かうASK-1, JNK, p38MAPKなどのシグナルを活性化する。そこで各細胞内小器官は独自のアンチオキシダントを具備している。例えば、核のアンチオキシダントと核の酸化ストレスはアポトーシスシグナルを調節しており、小胞体も酸化ストレスによって本来のタンパク質の合成と品質管理に対するストレスとして独自の反応を示す。

グルタチオン(GSH)は分子量307のトリペプチドで細胞内の非タンパク性硫黄の90%以上を占める。あらゆる細胞内に高濃度 (1mM以上) に存在して、多彩な生理的機能を有している。GSHの代謝は合成と細胞外への輸送によってコントロールされている。

細胞内では殆どが還元型のGSHとして存在し、GSSGは数10Mと低く維持されている。即ちGSH/GSSG比は高い。例外的に小胞体ではGSH/GSSG比は低く保たれているのが特徴とされている。このことは、小胞体がタンパク質合成と品質管理を行う場所であり、糖鎖による修飾などに重要な分子シャペロンなどの働きが低い還元力の基でのみ可能となることから生理的必要性が示唆される。

一方、ROSはレドックスを働かせる起点となり、細胞内情報伝達の活性化を引き起こすことで抗アポトーシス作用を示す。レドックスは細胞機能全般の制御に関連する重要な仕組みである。転写因子による遺伝子発現は、転写因子タンパクのDNA結合を制御するレドックスが調節している。情報伝達に働く多くのキナーゼはmRNAの発現、タンパクの発現と、翻訳後の酵素活性の修飾で制御されるが、酵素活性の制御はレドックスによってなされる。具体的には、キナーゼの活性中心に存在するシステインのSH基の状態によって活性型か不活性型かに調節されている。レドックス制御に関連するのは、グルタチオン(GSH)とチオレドキシシン(TRX)などである。

TRX familyのひとつであるグルタレドキシシン (GRX)も老化と関連したシグナル伝達の制御機構に深く関わる。ROSを添加した細胞では、アポトーシスを防ぐ仕組みが働く。その一つPI3-kinase/Aktの抗アポトーシスシグナルに着目してみると、AktのThrでのリン酸化活性は脱リン酸化酵素PP2Aによって活性が制御されている。一方、活性中心に存在する2つのCys297とCys311が還元型(-SH)のときに活性型となり、ROSの酸化ストレスでCys同士が-S-S-となって酸化型となるとその活性は持続しない。その理由は、活性中心のCysは酸化型でも還元型でもリン酸化活性状態には関連

しないが、酸化型の時には、Aktに働く脱リン酸化酵素PP2AがAktと結合しやすくなる。GRXはAktのCysが還元型であるように働き、その結果リン酸化活性が高く維持される。それは還元型のときにはPP2Aが結合しにくいからである。このことから、GRXが酸化ストレスによるアポトーシスを防ぐように働くことが示された。このGRXによる抗アポトーシス作用にはGSHが重要であり、GSHを合成する酵素の発現も制御に関与している。

参考文献

1. 谷口直之、遠藤猛。SODとNOおよびグルタチオン代謝のクロストークによるレドックス制御、酸化ストレス。レドックスの生化学、谷口直之、淀井淳司編、共立出版（東京）、2000、p.1-11.
2. Salmeen, A. et al. Redox regulation of protein tyrosine phosphatase 1B involves a sulfhenyl-amide intermediate. *Nature*, 423, 769-777, 2004.
3. Murata H. et al. Glutaredoxin exerts anti-apoptotic effect by regulating redox state of Akt. *J. Biol. Chem.* 278:50226-33, 2003.

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）

齧歯目の非冬眠種であるラットやマウスの寿命はせいぜい2-3年であり、寿命延長効果が報告されているカロリー制限下でも1年ほどの延長に過ぎない。しかし、同じ目に属する冬眠動物であるジリスでは9年近い寿命が報告され、我々のシマリスの研究からは、11年を越える驚くべき長寿が明らかになった。また、翼手目の冬眠動物であるコウモリでは20年を越えるとの報告もある。従来、冬眠動物の長寿は、冬眠中の極度の体温低下による代謝抑制に起因すると考えられてきたが、実証的な研究はなされていない。これは、体温低下以外の冬眠判定法の欠如と、10年以上の研究期間を要すること、更に冬眠を制御する機構の未解明が決定的な要因であった。ここでは、これらの問題にチャレンジし、常識を越えた長寿が冬眠制御に関わる生体内の調節系を介することが明らかに成りつつあるので紹介する。

1. 寿命研究を可能にした冬眠特異的タンパク質（HP）複合体の発見

冬眠動物であるシマリス（齧歯目、リス科）は約100gの体重で、37℃の通常体温で心拍数は400-450回/分であるが、冬眠時の体温は6-7℃まで低下し、心拍数も数回/分と1/50以下にまで減少する。このような極度の低体温状態で著しく代謝が抑制されることが長寿の原因と考えられてきた。シマリスの冬眠は、低温に維持された実験室内ではほぼ1年に1回の頻度で起こり、限られた期間持続する。それ以外の期間では低体温は致命的となる。このことから、我々は、冬眠が年周期で制御された適応機構で、その時期に生体を冬眠可能な生理状態へと調整するシステムと考え、冬眠を制御する機構と寿命の研究を平行して行ってきた。寿命の研究では、生後半年以内のシマリスを2群に分け、それぞれ5℃および23℃環境下で飼育して寿命を調べた。

冬眠制御機構に関する研究から、肝臓で産生、分泌され冬眠にリンクして年周期で減少するタンパク質複合体、HP、を見出した。この調節がなされない個体は冬眠を発現することができないため、冬眠に重要な因子と推測された。冬眠できない個体では、5℃環境下での生存期間は2-3年であったが、冬眠発現個体では7年後でも80%が生存しており、最長寿命は11年余に達した。一方、23℃環境下で飼育した個体は、高い環境温度のために何れの個体も体温低下を起こさず、2-3年後には80%の生存率となった。しかし、予想外に、8年以後では5℃環境下での冬眠個体の生存曲線と重なり、最長寿命も10年を越えて冬眠個体とほぼ同じになった。この結果から、シマリスの長寿は体温低下とは無関係であることが実証され、冬眠しない個体ではラットと同様に寿命が短いことも明らかになった。

一方、HPは、23℃環境下で体温が低下しない個体でも、冬眠可能な個体では年周期で調節されることが判明し、血中HPのリズムを調べることで、冬眠可能な個体や時期の決定が可能となった。23℃飼育個体を解析した結果、明瞭なHPリズムを示さない個体の寿命は5年以内であり、リズム発現個体では、5℃環境下で冬眠した個体の生存曲線に一致することが明らかになった。即ち、シマリスの長寿は、体内で形成された年周リズムによる生理的調節によることが示された。

2. 長寿命に関与する要因

HPの発見により、冬眠に関わる種々の成分を体温低下に依存せずに調べることが可能となった。冬眠の期間や周期、血中HP量や変動特性などを調べた結果、各個体に特有の値を持つことが分かった。これらの値と寿命との相関を詳細に検討した結果、期間や周期などの冬眠時間を反映するパラメーターとの間に相関はなく、年周性のHPリズムの強度に強く相関することを見出した。即ち、冬眠時期に血中HPが抑制性の調節を強く受けている個体ほど寿命が長かった。更に最近のHP調節の研究によって、冬眠期に減少した血中HPは脳内に能動的に輸送され、活性化されて冬眠発現に関与することが見出されており、シマリスの長寿は活性化HPによる脳機能の調節を介することが示唆された。既に、肝臓でのHP産生および脳内輸送を調節する上位のホルモンも明らかになっているので、今後、実験的にHPを制御して冬眠様の変化を体内に誘導する研究も可能となるだろう。

おわりに

ここで得られた結果から、冬眠動物の長寿には、HPによる脳機能制御を介した冬眠可能な生理状態への調節が重要であると初めて明らかになった。他の哺乳類の寿命も、これに類似した機構を介して制御される可能性が考えられる。今後、哺乳類での寿命研究では、生体機能を制御する分子情報システムとしての理解が不可欠となろう。

Modulation of NF κ B Signaling Cascade in the Aging Process by Calorie Restriction

Hae Young Chung

College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Experimental evidence consistently show that increased oxidative stress causes a shift of the cellular redox balance toward to a high oxidative status in aged organisms during aging. Analogous to the acid-base imbalance, subtle changes in the redox status is expected to cause serious consequences on the cellular metabolic activity because the cell's survival depends on the proper coupling of reduction/oxidation reactions. A recent proposal of molecular inflammation hypothesis of the aging highlights this redox derangement as a plausible link between the normal aging process and age-related diseases. The hypothesis focused on the experimental observations revealing the dysregulated gene expression and transcription factors under the age-related oxidative stress. Recent works have produced clear proofs that transcription factor NF κ B and its DNA-binding in various signal transduction pathways are exquisitely sensitive to the redox changes. Research provides consistent evidence that calorie restriction (CR) reduces age-related oxidative stress and has anti-inflammatory properties. In this presentation, the biochemical and molecular bases of the inflammatory process will be delineated as the possible molecular mechanism for the aging and the age-related diseases. The key players involved in the proposed mechanism are the age-related upregulation of NF κ B, IL-1 β , IL-6, TNF α , cyclooxygenase-2(COX-2), and inducible NO synthase(iNOS), all of which are attenuated by CR. Furthermore, data will be presented to describe molecular events leading to the age-related NF κ B signaling cascade with phosphorylation by I κ B kinase/NIK and MAPKs, while CR blunted these cascade process. Furthermore, recent interest in reactive aldehydes (RA) as possible oxidative inflammatory mediators revealed their new roles. RA from lipid peroxidation induced endothelial cell apoptosis by ONOO⁻ derived from COX-2 and iNOS was elicited by NF κ B activation, which was induced by IKK/NIK pathway and/or p38 MAPK and ERK activation. This new proposal is in a full support of the current findings on the genomic, proteomic, and bioinformatic evidence about involvement of inflammation in the aging process. Further experimental substantiations for the our proposal come from the the anti-inflammatory action of the most potent anti-aging calorie restriction which maintain proper redox balance by suppressing oxidative stress during aging.

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糖尿病代謝内科

線虫*C.elegans*ではDAF-2, AGE-1, AKT, DAF-16からなるDAF-2シグナル経路が寿命の調節に重要な役割を果たしていることが知られている。一方、哺乳動物では、インスリン様成長因子(以下、IGF-1)の低下をきたす成長ホルモン欠損マウスおよび成長ホルモン受容体欠損マウスが寿命の延長を呈することが知られており、インスリンおよびIGF-1シグナル経路が哺乳動物の寿命調節に何らかの役割を担っていることが示唆されている。近年発表された脂肪組織特異的インスリン受容体欠損マウスが寿命の延長を呈することは、マウスにおける糖代謝と寿命調節の関連を提唱する点で興味深い。フォークヘッド転写因子 Foxo1は、DAF-16の哺乳動物における相同遺伝子として注目された。Foxo1は、インスリン、IGF-1刺激後、PI3-kinase依存性に主にAktによりリン酸化され、核内より細胞質へ移行し、その転写活性を失うインスリンシグナルの負の調節因子である。既に、Foxo1が、Fas ligand遺伝子を誘導し、アポトーシスを惹起し、p27, p21遺伝子を誘導し細胞周期のG1期停止を起こすことが知られている。Foxo1はマウスでは主に肝臓、膵細胞、白色および褐色脂肪組織、骨格筋、視床下部などのインスリン反応性臓器に発現している。今回、Foxo1の各インスリン反応性臓器における役割を、ノックアウトマウス、変異型Foxo1過剰発現トランスジェニックマウス、および、ア

デノウイルスを用いたデータをもとに解説する。

Foxo1のコンセンサス結合配列は、上記遺伝子のプロモーター領域以外にも、肝臓における糖代謝を調節する遺伝子であるglucose 6 phosphatase (G6pase)、phosphoenolpyruvate carboxykinase (Pepck)遺伝子のプロモーター領域にも見い出される。Foxo1のtransactivation domainを欠いたdominant negative タイプの変異体である 256をアデノウイルスを用いてマウスprimary hepatocyteにおいて過剰発現させたところ、G6pase、Pepckとも容量依存性に抑制され、両遺伝子がFoxo1依存性の調節を受けていることが示された。さらに、肝臓においてFoxo1のconstitutively active タイプの変異体であるS253Aを過剰発現させたところG6Paseの発現が増加し、肝臓における糖産生が増加し、年齢依存性に耐糖能異常を引き起こすことが示された。さらに、膵細胞および肝臓におけるS253Aの過剰発現は、Pdx-1遺伝子の発現を抑制することにより、末梢組織のインスリン抵抗性に対する代償性肥大を抑制し、若年発症型の糖尿病を惹起することが示され、Foxo1が両組織においてインスリン感受性を調節していることが明らかにされた。また、膵細胞におけるFoxo1の過剰発現がPdx-1の発現を抑制することにより結果的にインスリン分泌を抑制することは、C.elegansにおいて、DAF-2/DAF-16経路が腸管からのインスリン様リガンドの分泌調節に関わっていることに類似しており興味深い。

さらに脂肪組織におけるFoxo1の機能を解析するために、脂肪細胞前駆細胞株である3T3-F442A細胞を用いて、constitutively active タイプの変異体であるT24A/S253D/S316A (ADA)を分化誘導時に感染させたところ、p21、Retinoblastoma遺伝子発現が早期に誘導され、clonal expansionが抑制され、成熟脂肪細胞への分化が抑制された。さらに、Foxo1ヘテロノックアウトマウスに高脂肪食負荷を行ったところ、高脂肪食負荷による脂肪細胞特異的遺伝子発現の変化が低下し、野生型マウスに比べ、インスリン抵抗性が軽減された。このように、脂肪組織において、Foxo1は、その分化を抑制することにより、インスリン感受性を低下させていると考えられた。

以上よりフォークヘッド転写因子Foxo1はインスリン反応性臓器において、そのインスリン感受性を調節しており、マウス個体における糖代謝調節に重要な役割を担っていると考えられる。

【総 説】

老化とアミロイドーシス

樋口京一、付 笑影

信州大学大学院医学研究科加齢適応医科学系加齢生物学分野

要約

アミロイドーシスという疾患が初めて記載されたのは1854年である。細胞外に沈着する無構造様物質とされた「アミロイド」は反応性に乏しい老廃物の様な物質であるとして、それ以降はあまり注目を浴びてこなかった。しかし、近年ようやく様々な蛋白質が微細な線維構造（アミロイド線維）を形成・沈着し、細胞に障害を与えると言う「アミロイド」の実体が明らかになり、最近では「蛋白質構造異常病」として多くの研究者の関心を集め急速に研究が進んでいる。現在20以上のアミロイドーシスが報告されているが、アルツハイマー病、プリオン病、あるいは家族性アミロイドーシスでも、ほとんどが人生の中・後期で発症し、「老化」が重要な発症要因の一つであることは明らかである。アミロイドーシスの発症機構はまだ充分には解明されていないが、アミロイド蛋白質が正常（機能的）構造から β シートに富んだ立体構造（病的構造）へと変換してアミロイド線維を形成することが最も重要なステップであることは間違いない。ここでは年齢が重要な要因となっているアミロイドーシス（老化アミロイドーシス）について概説するとともに、既存のアミロイド線維が核(nucleus)あるいは種(seed)となって、線維の形成を加速してアミロイドーシスの発症を促進する機構についても紹介する。

1. アミロイド蛋白とアミロイドーシス

アミロイドーシスとは本来生理的機能を持つ蛋白質が重合して不溶性のアミロイド線維（幅10nm程度、図1）を形成し、主として細胞間に沈着する病態の総称である。アミロイドーシスの確定診断は電子顕微鏡で特徴的な線維が観察されることと、コンゴ赤という色素に染まり、偏光顕微鏡で鮮やかな緑色偏光が観察されることである。アミロイド線維はX線解析により、基本構造としてアンチパラレル β シート構造を持つことが示唆されている。現在一次構造が決定されているアミロイド蛋白質は25種類以上におよび、国際的に決定されたガイドラインに従い分類・命名されている[1]。表1に厚生労働省「アミロイドーシスに関する研究班」がまとめたアミロイドーシスの分類と沈着蛋白との関係を示す。アミロイド蛋白質の種類は年々増加し、疾患とは関連しない酵母プリオンや大腸菌のアミロイド線維も発見されている。さらに本来アミロイド線維を形成しない蛋白質（ミオグロビンや合成ペプチドなど）からもアミロイド線維が形成され、アミロイド線維構造はどのような蛋白質も取りうる共通した基本的構造であることが示唆されている[2]。アミロイドーシスが発症する条件としては、1) 炎症（AAアミロイドーシス）、腫瘍(ALやACalアミロイドーシス)、透析(A β 2アミロイドーシス)などによるアミ

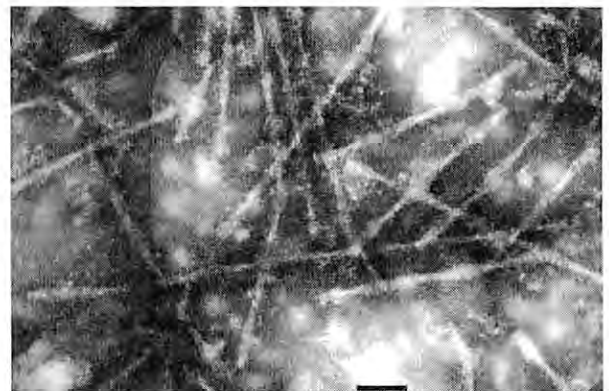


図1. ヒト反応性(AA)アミロイド線維の電子顕微鏡像。幅約10 nmの2本の線維をねじった様なアミロイド線維が観察される。撮影倍率は100,000倍、バーは50nm

ロイド蛋白質濃度の異常な上昇、2)アミロイド蛋白質の突然変異（FAPなど多くの家族性アミロイドーシス）による線維形成能の高いアミロイド蛋白質の出現、などの直接的原因が重要であるが、ほとんどのアミロイドーシスは人生の中・後期に発症してくることから、老化に伴う個体の生理的環境の変化が重要な役割を果たしていると考えられる。

2. 老化アミロイドーシス

アミロイド沈着を引き起こす原因となる疾患がなく、年齢（老化）のみが主要な発症要因であるアミロイドーシスを老化アミロイドーシスと呼んでいる（表2）[3]。老化アミロイドーシスには、全身臓器に沈着する全身性

連絡先：〒390-8621 松本市旭3-1-1
Tel:81-263-37-2691
Fax:81-263-37-3428
E-mail:khiguchi@sch.md.shinshu-u.ac.jp

表1 アミロイドーシスの分類とアミロイド線維 (沈着蛋白質が確定しているもの)

アミロイドーシス	アミロイド線維*	アミロイド蛋白質
I 全身性アミロイドーシス		
1. 免疫グロブリン性アミロイドーシス		
1) AL アミロイドーシス	AL	Immunoglobulin light chain
2) AH アミロイドーシス	AH	Immunoglobulin heavy chain
2. 反応性 AA アミロイドーシス	AA	apoSAA
3. 家族制アミロイドーシス		
1) FAPI **	ATTR	Transthyretin
2) FAPII	ATTR	Transthyretin
3) FAPIII	AApoAI	Apolipoprotein A-I
4) FAPVI	AGel	Gelsolin
5) 家族性地中海熱(FMF)	AA	apoSAA
6) Muckle-Wells 症候群	AA	apoSAA
7) 家族性アミロイドーシス	ALys	Lysozyme
8) 家族性腎アミロイドーシス	AFib	Fibrinogen α chain
9) 家族性アミロイドーシス***	AApoAII	Apolipoprotein A-II
4 透析アミロイドーシス	A β 2M	β 2-microglobulin
5. 老人性 TTR アミロイドーシス	ATTR	Transthyretin
II 限局性アミロイドーシス		
1. 脳アミロイドーシス		
1) アルツハイマー型痴呆 (ダウン症候群を含む)	A β	A β protein precursor (A β PP)
2) 脳血管アミロイドーシス	A β	A β protein precursor
3) 遺伝性アミロイド性脳出血 (オランダ型)	A β	A β protein precursor
4) 遺伝性アミロイド性脳出血 (アイスランド型)	ACys	Cystatin C
5) クロイツフェルト・ヤコブ病 (GSS 症候群**を含む)	APrP (PrP ^{Sc})	Prion protein (PrP ^C)
2. 内分泌アミロイドーシス		
1) 甲状腺髄様癌	ACal	(Pro)calcitonin
2) II 型糖尿病・インスリノーマ	AIAPP	Islet amyloid polypeptide (Amylin)
3) 限局性心房性アミロイド	AANF	Atrial natriuretic factor
4) 脳下垂体アミロイド***	APro	Prolactin
3. 皮膚アミロイドーシス	AKer *** (AD)	Kerato-epithelin***
4. 限局性結節性アミロイドーシス	AL	Immunoglobulin light chain
5. その他***		
1) 大動脈 (中膜) アミロイドーシス	AMed	Lactadherin (Medin)
2) 角膜アミロイドーシス	ALac	Lactoferrin
3) British 型痴呆	ABri	ABriPP
4) マウス老化アミロイドーシス	AApoAII	Apolipoprotein A-II
5) イヌ老化アミロイドーシス (肺)	AApoAI	Apolipoprotein A-I
6) 酵母プリオン (遺伝因子)		Ure2p Sup35p
7) かびプリオン		Het-S
8) 大腸菌アミロイド		CsgA
9) ハンチントン病	?	Huntingtin (polyQ 鎖の伸長)

*沈着蛋白質 (アミロイド線維) は国際命名委員会で命名されている。アミロイド線維であることを表すために先頭に A が付く。 **FAP:家族制アミロイドポリニューロパチー, GSS:ゲルストマン・ストロイスラー・シェインカー症候群。 ***基本的に厚生労働省の「アミロイドーシスに関する調査研究班」の分類表に基づいているが、著者が追加した部分 (疾患と関連のないアミロイド線維も含む)。

(systemic)アミロイドーシスと特定の臓器にのみ沈着する限局性(localized)アミロイドーシスに大別される。近年、アルツハイマー病に伴うA β 蛋白に注目が集まっているが、A β 蛋白以外にも多種類の老化アミロイドーシスが報告されており、高齢化社会を迎え、今後その種類や発症頻度は増大すると考えられる。さらに、加齢によって頻度が増大する疾患が原因となっているアミロイドーシス(リウマチに伴うAA、長期透析によるA β 2Mなど)や多くの家族性アミロイドーシス、頻度は低いが発症性のクロイツフェルトヤコブ病(CJD)なども年齢が重要な危険因子である。しかし、残念ながら個体の老化が果たす役割についての詳細は不明である。

2-1. 全身性老化アミロイドーシス

全身性老化アミロイドーシス(senile systemic amyloidosis :SSA)は80才以上の約25%に観察される最も頻度の高い全身性老化アミロイドーシスである[4]。アミロイド沈着は心室、心房の心筋細胞間に多発性に浸潤するか、血管壁への沈着が主であるが、肺胞壁、肺血管などの全身臓器にも沈着する。発症に伴う障害は軽度で、心臓の機能異常や心肥大を伴うことはあまりないが、超高齢者や個人によっては重篤な障害を与える場合がある。沈着蛋白質はトランスサイレチン(TTR)であり、家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)と同様であるが、FAP患者の様な突然変異は検出されず、正常TTRが沈着する[5]。TTRは生体内では甲状腺ホルモンやレチノール結合蛋白質の運搬に関与しているアミノ酸127個からなる蛋白質で、血液中では安定した4量体として存在するが、全長か、N-末端が欠けたペプチドがアミロイド線維を形成し沈着する。現在80種以上の突然変異が見つかっており、ほとんどがアミロイド沈着を引き起こす。Val30Metの様に壮年から発症する場合もあるが、ほとんどは高齢発症で心臓への沈着が主であり、SSAの促進形態と言える。これらのFAPの研究から、アミロイドーシス発症には4量体の安定性の減少が最も重要とされているが、個体の老化がどのように寄与しているのかはま

だ明らかになっていない。

2-2. アルツハイマー病のアミロイド線維沈着

アルツハイマー病は中年期以降に進行性の記憶認知障害をきたす中枢神経系の変性疾患である。アルツハイマー病脳の病理学的特徴はアミロイド線維核を変性神経突起が取り巻く老人斑(senile plaque)とタウ(tau)蛋白質からなる神経原線維変化が大脳皮質に広範に認められることがあげられる。アミロイド線維は、695のアミノ酸を持つ(スプライシングの相異により751、770アミノ酸の場合もある)アミロイド前駆蛋白質(A β PP)からC末端近くの細胞膜貫通部分と細胞外部分の一部からなるA β ペプチド(39-43アミノ酸)が切り出されて線維構造に重合したものである。A β PPがA β ペプチド中で切断される(α 切断)とアミロイド線維は形成されない。これに対しA β PPがA β 蛋白質のN末端で切断(β 切断)された後、C末端で切断され(γ 切断)、A β ペプチドが切り出されるとアミロイド沈着が引き起こされると考えられている。これらの切断を担う酵素は α 、 β 、 γ セクレターゼと仮称されていたが、最近 α セクレターゼとして2つのメチルプロテアーゼADAM、TACE [6]、 β セクレターゼとしてBACEが同定され [7]、presenilin-1、-2が γ セクレターゼ活性を持つことが示唆されている [8]。A β アミロイド線維の沈着がアルツハイマー病の本質的原因となりうるかについては多くの議論がなされてきたが、A β PP遺伝子やpresenilinの変異によって家族性アルツハイマー病が引き起こされる事実や、A β を過剰発現するトランスジェニックマウスでアルツハイマー病様病変が出現することなどからA β の沈着が引き金になりシナプスの減少や神経細胞死がもたらされると考えられている(A β カスケード理論)。アミロイド線維の神経細胞に対する直接的な毒性が報告されているが、現在は成熟した線維以前のプロトフィブリル(protofibril)や可溶性オリゴマーなどの中間構造物が毒性を持つと考えられている [9]。

アルツハイマー病は遺伝性のはっきりした家族性と、

表2 老化が発症の主要な要因と考えられるアミロイドーシス

沈着臓器	発症頻度(% \geq 年齢)	アミロイド線維	文献
全身性(SSC)	25% \geq 80	ATTR	Cornwell GG3rd, 1983
大動脈 (中膜)	\sim 100% \geq 90	AMed	Haggqvist B, 1999
(内膜)	16% \geq 48	AApoAI	Mucchiano GI, 2001
精囊	21% \geq 76	未知 (14 KDa)	Pitkanen P, 1983
膵ランゲルハンス島	50% \geq 60	AIAPP	Westermarck P, 1994
心房	78% \geq 80	AANF	Johansson, B, 1987
副腎	68% \geq 70	未知	Eriksson L, 1990 ³¹⁾
消化管	35-42% \geq 80	未知	Matsutani H, 2001
脈絡叢	\sim 100% \geq 60	未知	Eriksson L, 1986
脳下垂体	80% \geq 90	APro	Westermarck P, 1997
脳	46% \geq 85	A β	Nussbaum RL, 2003
マウス全身性	\sim 100% \geq 2	AApoAII	Higuchi K, 1999
イヌ肺	10% \geq 10	AApoAI	Roertgen KE, 1995
イヌ脳	70% \geq 10	A β	Ishihara T, 1991 ³²⁾

大多数をしめる遺伝性のはっきりしない孤発性に分けられ、さらに65歳を境に早発型と遅発型に大別される。少なくとも4つのアルツハイマー病の遺伝子座が明らかになっている。家族性遅発型アルツハイマー病患者で、APOE遺伝子多型の一つAPOE4 (ϵ 4)の関与が発見され、孤発性アルツハイマー病でもAPOE4がリスクファクターとして働いていることが示唆されている [10]。apoE は血漿リポ蛋白質のアポ蛋白質としてコレステロールなど脂質の運搬、分配に重要な役割を果たす蛋白質であり、加齢に伴う脂質代謝の異常とアルツハイマー病との関連が示唆されている。

2-3. 老化大動脈アミロイドーシス

大動脈アミロイドは50才以上のほとんどすべてのヒトで観察される最も頻度の高い限局性アミロイドである。中膜、内膜、外膜という沈着部位の違いにより3タイプが存在し、それぞれ沈着蛋白も異なっているようである。最も頻度が高いのは中膜に沈着するタイプで、エラスチン線維の近傍に塊状、あるいは線状に沈着するが、臨床的意義、特に高血圧や解離性動脈瘤などとの関連は明らかでない。分子量5.5kDaの蛋白質(medin)が中膜アミロイドの沈着蛋白質として分離され、一次構造の決定により、中膜平滑筋細胞より分泌されるラクトアドヘリン(lactoadherin)の一部が線維を形成している事が示された [11]。アテローム性動脈瘤に伴い内膜に沈着するアミロイド線維は高密度リポ蛋白質(HDL)のアポ蛋白質であるアポリポプロテインA-I (apoA-I) 由来であるとされている [12]。

2-4. ホルモン由来のアミロイド線維

膵臓ランゲルハンス島に限局したアミロイド沈着は加齢に伴い増大し、60才以上では半数以上に沈着が観察されるが、II型糖尿病の患者ではその頻度は95%に達する。沈着蛋白質はIAPPあるいはアミリン(amylin)と呼ばれる β 細胞から分泌される89アミノ酸からなるホルモンで、切断された39アミノ酸のペプチドが沈着する。IAPP線維の β 細胞に対する細胞毒性やアポトーシス誘発が示唆されている [13]。アミロイド線維形成には20-29のアミノ酸配列が重要で、ヒト、霊長類、ネコ以外の動物ではこの配列が欠失しているためIAPP沈着は起こらない [14]。

限局性心房性アミロイドは80才以上の約80%に沈着が観察され、沈着蛋白質は心房ナトリウム利尿ペプチド(ANF)である。ANFは151アミノ酸からなるプレプロペプチドとして合成され、最終的にC-末端部分の28アミノ酸がホルモンとして分泌されるが、これがアミロイド線維として沈着する [15]。高齢者の脳下垂体にはプロラクチン(prolactin)由来のアミロイド線維沈着が、副甲状腺には由来未同定だがアミロイド線維の沈着が高頻度で観察される [16]。

2-5. その他の老化アミロイドーシス

精嚢アミロイドーシスは60才以下では5%、76才以上

では21%に観察される限局性アミロイドーシスであり、精嚢の粘膜上皮の粘膜固有層に塊状に沈着する。アミロイド蛋白質はまだ完全には同定されていないが、分子量14 kDaの蛋白質が分離され、免疫組織化学的に、精嚢上皮細胞から分泌されるラクトフェリン(lactoferrin)との関連が示唆されている [17]。

高齢者の脈絡叢の上皮細胞内や副腎皮質細胞内にはアミロイド沈着が観察される。原則的にアミロイド線維は細胞外に沈着するのでこれらは例外的である。特に脈絡叢アミロイド沈着は35才以下では全く観察されず、逆に65才以上では全員に沈着が認められる [18]。高齢者の消化管には結節性のALアミロイド沈着や、血管壁に未同定のアミロイド蛋白質の高頻度沈着が報告されている [19]。

2-6. 動物の老化アミロイドーシス

マウスでは加齢に伴いHDLのアポ蛋白質であるapoA-IIがアミロイド線維として全身に沈着する [20]。1940年にマウスの腎臓のアミロイドーシスが報告されて以来、多くのマウス系統で老化アミロイドーシスの報告がなされている。SJL/J, LLC, SAMP1などのマウスでアミロイド蛋白質が分離され、1986年にその全一次構造が決定された。HDLのアポ蛋白質であるapoA-IIがアミロイド線維として沈着していることが明らかになり、アミロイド線維はAApoAIIと命名された [21]。AApoAIIは舌や小腸の粘膜下から沈着が始まり、加齢とともに脳を除く全身の臓器に沈着が拡大する。AApoAIIは系統に関わらず老齢のマウスで広く沈着が観察されるが、系統間には沈着開始時期と沈着程度に非常に大きな差が存在する。SAMP1, SJL/J, A/J などの高発症系では生後一年で50-100%のマウスにAApoAII沈着を観察するが、低発症系のCD-1では生後80-104週で16%の沈着であった [20,22]。マウスapoA-IIには系統間にアミノ酸配列が4ヶ所異なっている3種の多型(A, B, C型、対立遺伝子はApoa2^a, Apoa2^b, Apoa2^c)が存在する。アミロイドーシス高発症系のマウスはC型(Pro5Gln)、低発症系はB型のapoA-IIを持ち、A型(Val26Met)のapoA-IIを持つ系統は中程度の沈着を示す。ただしアミロイドーシスの発症は飼育条件によって大きく異なり、SPF条件下で飼育されたマウスではアミロイドーシスの発症頻度は減少する。

その他、A β 蛋白質の沈着したアミロイド斑は老齢のサル、イヌ、クマなどで報告されている。また10才以上のイヌの22%には肺血管にApoA-IのN-末端ペプチド(1-71)がアミロイド線維として沈着する [23]。

3. アミロイドーシス発症の分子機構と老化

様々なアミロイド蛋白質が一次構造が異なるにも関わらず、共通の立体構造を持つアミロイド線維を形成するが、その過程を説明できる一般的メカニズムは存在するのだろうか？ 各アミロイドーシスの臨床像は多様であるが、ほとんどのアミロイドーシスで個体の年齢が重要な危険因子である。個体の老化はどのようにアミロイ

ドーシス発症に関与するのだろうか？ 線維形成はアミロイド蛋白質の生理的機能を担っている立体構造から β -シート構造に富むアミロイド線維への構造変換を伴う重合反応である。アミロイドドーシス発症の機構をアミロイド線維形成反応の観点から考えてみたい。

JarrettとLansbury [24]は $A\beta$ アミロイドやCJDなどのプリオン病でのアミロイド線維形成を説明するモデルとしてnuclear dependent polymerization (核依存性重合)を提唱している。図2にその概略を示すがアミロイド線維形成は核形成 (nucleation)と線維伸張 (elongation)の2段階で起こり、核形成は熱力学的に非常に起こり難い反応で、これがin vitroでの線維形成の長い潜伏時間(lag time)と、生体での中・高齢での発症を説明するとされる。しかし一旦核が形成されるとあたかも結晶が成長するごとく、アミロイド蛋白質モノマーの結合による伸張反応は急速に進行する [25]。従って外部から核 (アミロイド線維)を反応系に投入するとこの潜伏時間をなくすことができ、プリオンの伝播も説明できるとされている。核形成、伸張反応ともアミロイド蛋白質の濃度に依存するが特に核形成は敏感に反応する。核依存性重合モデルによるとアミロイド線維の沈着を引き起こす要因としては、1)アミロイド蛋白質濃度の増加、2)アミロイド核形成を起こしやすいアミロイド蛋白質の分子種の存在、3)アミロイド核形成を助ける補助因子、4)アミロイド線維核の導入、5)伸張反応の促進因子、6)完成したアミロイド線維の安定性の増大、などが考えられる。加齢にともなう産生増加や分解系の障害で、アミロイド蛋白質濃度が局所的に増大する可能性が考えられる。例えば、加齢に伴う γ シクレターゼ (presenilin)の活性変化による $A\beta$ の増大や、アミロイド線維形成能の高い $A\beta$ 蛋白質の分子種 $A\beta$ 1-42が増加する可能性が考えられる。FAPにおけるTTRの突然変異や加齢にともなう酸化などの修飾は血液中での4量体の安定性の減少と、遊離のTTRの増大を招き、線維形成を促進すると考えられる。アミロイド蛋白質の一部が沈着するアミロイドドーシスでは、加齢にともなう不完全な

分解の寄与が考えられる。蛋白質の産生、代謝には分子シャペロンを中心とした正常な構造(folding)の保持やプロテオソーム系による分解などによる複雑な品質管理機構が関与している。これらが個体や細胞の老化にともない機能不全に陥るとアミロイド蛋白質は病的構造を取り、アミロイド線維へと重合する可能性が考えられる。シャペロン蛋白の代表であるHSP蛋白群の過剰発現が異常ハンチンチン蛋白質やプリオン等の凝集を阻害するという報告も多い[26]。アミロイド核の外部からの侵入による感染がプリオンの場合で主張されている。AApoAIIやAAアミロイドドーシスのモデルマウスでも、微量のアミロイド線維核の投与によるアミロイドドーシスの発症促進が報告され、病的構造蛋白質による伝播がアミロイドドーシス発症に重要な役割を果たす可能性が指摘されている[27, 28]。

逆に、アミロイドドーシスの発症は個体の老化にはどのような影響を及ぼすのだろうか？ 促進老化・短寿命と老化アミロイドドーシスのモデル動物であるSAMP1[29]を用いた研究を紹介する。SAMP1の*Apoa2*遺伝子を正常老化を示すSAMR1に導入したコンジェニックマウス；R1.P1-*Apoa2*では若齢より重篤なAApoAIIアミロイド沈着が認められる。R1.P1-*Apoa2*マウスではSAMR1と比較すると寿命が約20%短縮され、老化度評点やリポ蛋白質代謝などの老化指標も老化が促進されたことを示唆した [30]。このことから、重篤な老化アミロイド沈着は各臓器の機能を減退させ、寿命を短縮することが明らかになった。

アミロイド線維は多くの蛋白質が取りうる基本的で安定な立体構造であることが解ってきた。様々な要因でこのような病的構造への移行が起こると考えられるが、個体での時間経過 (老化) が大きな要因の一つである。様々なアミロイド線維の蓄積は老化の原因にもなり、結果あるいは指標でもありうる。このようにアミロイドドーシスは個体と蛋白質の老化を考える上で非常に興味深い。最近、百歳以上で無くなった著名な双生児女性の主要な病理所見が心臓 (ATTR)と脳($A\beta$)へのアミロイド沈着であったとする報告がある。高齢化社会の中で、今後重要となる疾患の一つはアミロイドドーシスの様な「蛋白質の変性・構造変化」が原因となり、生涯の後半に出現する疾患であることは明らかである。これらに共通する機構を明らかにすることによって、効果的な予防、治療法を開発することが健康的な長寿社会を構築するために必須であると考えられる。

文献

- 樋口京一。アミロイド線維蛋白質。分子シャペロンによる細胞機能制御、永田和宏、森正敬、吉田賢右編、シェフリンガーフェアラーク東京、東京、2001、164-174
- Fandrich M, Forge V, Buder K, Kittler M, Dobson CM and Diekmann S. Myoglobin forms amyloid fibrils by association of unfolded

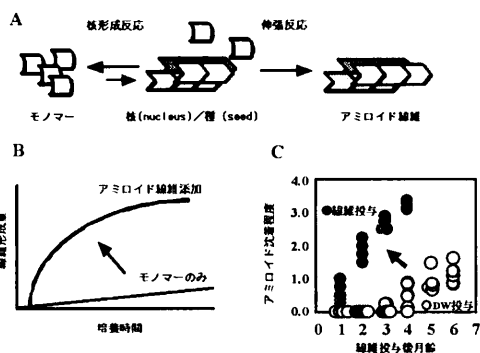


図2. 核依存性重合モデルによるアミロイド線維形成機構 A. 核依存性重合は長期間を要する核形成反応と迅速な伸張反応とから成る。B.アミロイド線維核を添加すると試験管内でのアミロイド線維形成が促進され、潜伏期間が消失する。C. AApoAII線維を投与をマウスに投与するとアミロイド沈着が促進される³⁵⁾

- polypeptide segments. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 15463-15468, 2003.
3. Xing Y and Higuchi K. Amyloid fibril proteins. *Mech Ageing Dev* 123: 1625-1636, 2002.
 4. Cornwell GG 3rd, Murdoch WL, Kyle RA, Westermark P and Pitkanen P. Frequency and distribution of senile cardiovascular amyloid. A clinicopathologic correlation. *Am J Med* 75: 618-623, 1983.
 5. Westermark P, Sletten K, Johansson B, and Cornwell GG 3rd. Fibril in senile systemic amyloidosis is derived from normal transthyretin. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 2843-2845, 1990.
 6. Kojro E, Gimpl G, Lammich S, Marz W and Fahrenholz F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha -secretase ADAM 10. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 5815-5820, 2001.
 7. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G and Citron M. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286: 735-741, 1999.
 8. Seiffert D, Bradley JD, Rominger CM, Rominger DH, Yang F, Meredith JE Jr, Wang Q, Roach AH, Thompson LA, Spitz SM, Higaki JN, Prakash SR, Combs AP, Copeland RA, Arneric SP, Hartig PR, Robertson DW, Cordell B, Stern AM, Olson RE and Zaczek R. Presenilin-1 and -2 are molecular targets for gamma-secretase inhibitors. *J Biol Chem* 275: 34086-34091, 2000.
 9. Kaye R, Head E, Thompson JL, McIntire TM, Milton SC, Cotman CW and Glabe CG. Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science* 300: 486-489, 2003.
 10. Nussbaum RL and Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 348: 1356-1364, 2003.
 11. Haggqvist B, Naslund J, Sletten K, Westermark GT, Mucchiano G, Tjernberg LO, Nordstedt C, Engstrom U and Westermark P. Medin: an integral fragment of aortic smooth muscle cell-produced lactadherin forms the most common human amyloid. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 8669-8674, 1999.
 12. Mucchiano GI, Haggqvist B, Sletten K and Westermark P. Apolipoprotein A-1-derived amyloid in atherosclerotic plaques of the human aorta. *J Pathol* 193: 270-275, 2001.
 13. Lorenzo A, Razzaboni B, Weir GC and Yanker BA. Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type-2 diabetes mellitus. *Nature* 368: 756-760, 1994.
 14. Westermark P. Amyloid and polypeptide hormones: what is their interrelationship? *Amyloid* 1: 47-60, 1994.
 15. Johansson B, Wernstedt C and Westermark P. Atrial natriuretic peptide deposited as atrial amyloid fibrils. *Biochem Biophys Res Commun* 148: 1087-1092, 1987.
 16. Westermark P, Eriksson L, Engstrom U, Engstrom S and Sletten K. Prolactin-derived amyloid in the aging pituitary gland. *Am J Pathol* 150: 67-73, 1997.
 17. Tsutsumi Y, Serizawa A and Hori S. Localized amyloidosis of the seminal vesicle: identification of lactoferrin immunoreactivity in the amyloid material. *Pathol Int* 46: 491-497, 1996.
 18. Eriksson L and Westermark P. Intracellular neurofibrillary tangle-like aggregations. A constantly present amyloid alteration in the aging choroids plexus. *Am J Pathol* 125:124-129, 1986.
 19. Matsutani H, Hoshii Y, Setoguchi M, Kawano H, Gondo T, Takahashi M, Yokota T and Ishihara T. Vascular amyloid of unknown origin and senile transthyretin amyloid in the lung and gastrointestinal tract of old age: histological and immuno-histochemical studies. *Pathol Int* 51: 326-332, 2001.
 20. Higuchi K, Hosokawa M and Takeda T. Senescence-accelerated mouse. *Methods Enzymol* 309: 674-686, 1999.
 21. Higuchi K, Yonezu T, Kogishi K, Matsumura A, Takeshita S, Higuchi K, Kohno A, Matsushita M, Hosokawa M and Takeda T. Purification and characterization of a senile amyloid-related antigenic substance (apoSASSAM) from mouse serum. apoSASSAM is an apoA-II apolipoprotein of mouse high density lipoproteins. *J Biol Chem* 261: 12834-12840, 1986.
 22. Majeed SK. Survey on spontaneous systemic amyloidosis in aging mice. *Arzneimittelforschung*. 43: 170-178, 1993
 23. Roertgen KE, Lund EM, O'Brien TD, Westermark P, Hayden DW and Johnson KH. Apolipoprotein AI-derived pulmonary vascular

- amyloid in aged dogs. *Am J Pathol* 147:1311-1317, 1995.
24. Jarrett JT and Lansbury PT Jr. Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 73:1055-1058, 1993.
 25. Naiki H and Nakakuki K. First-order kinetic model of Alzheimer's beta-amyloid fibril extension in vitro. *Lab Invest* 74: 374-383. 1996.
 26. Muchowski PJ, Schaffar G, Sittler A, Wanker EE, Hayer-Hartl MK and Hartl FU. Hsp70 and hsp40 chaperones can inhibit self-assembly of polyglutamine proteins into amyloid-like fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 7841-7846. 2000.
 27. Lundmark K, Westermarck GT, Nystrom S, Murphy CL, Solomon A and Westermarck P. Transmissibility of systemic amyloidosis by a prion-like mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6979-6984. 2002.
 28. Xing Y, Nakamura A, Korenaga T, Guo Z, Yao J, Fu X, Matsushita T, Kogishi K, Hosokawa M, Kametani F, Mori M and Higuchi K. Induction of protein conformational change in mouse senile amyloidosis. *J Biol Chem* 277: 33164-33169, 2002.
 29. Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research. *Neurobiol Aging* 20: 105-110, 1999.
 30. Higuchi K, Wang J, Kitagawa K, Kogishi K, Naiki H, Kitado H and Hosokawa M. Accelerated senile amyloidosis induced by amyloidogenic ApoA-II gene shortens the life span of mice but does not accelerate the rate of senescence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 51: B295-302. 1996.
 31. Eriksson L, and Westermarck P. Age-related accumulation of amyloid inclusions in adrenal cortical cells. *Am J Pathol* 136: 461-466, 1990.
 32. Ishihara T, Gondo T, Takahashi M, Uchino F, Ikeda S, Allsop D and Imai K. Immunohistochemical and immunoelectron microscopical characterization of cerebrovascular and senile plaque amyloid in aged dogs' brains. *Brain Res* 548:196-205, 1991.
 33. Higuchi K, Kogishi K, Wang J, Chen X, Chiba T, Matsushita T, Hoshii Y, Kawano H, Ishihara T, Yokota T and Hosokawa M. Fibrilization in mouse senile amyloidosis is fibril conformation-dependent. *Lab Invest* 78:1535-1542, 1998.

Aging and Amyloidosis

Keiichi Higuchi and Xiaoying Fu

Department of Aging Biology, Institute on Aging and Adaptation,

Shinshu University Graduate School of Medicine

Summary

Amyloidosis refers to a group of protein folding diseases. Various innocuous and soluble proteins in physiological conditions polymerize to insoluble amyloid fibrils in several serious diseases, including Alzheimer's disease (AD), type II diabetes, and prion diseases. In addition, senile amyloidosis is a form of amyloidosis in which the incidence and severity of amyloid deposition increases with age without any apparent predisposing conditions and it was thought that the amyloidosis was related to some physiological changes which accompany ageing. Although the etiology and pathogenesis of amyloid disease are not fully understood, drastic structural changes of the amyloid proteins from the normal forms to the unique β -sheet fibrils is the most important event in amyloid diseases. The present article introduces the major senile amyloidosis including systemic senile amyloidosis, AD, mouse senile amyloidosis and so on. We discuss the nucleation dependent polymerization model as a model that explains the kinetics of fibrillization of these amyloid proteins. Exogenous amyloid fibrils may act as templates (nuclei) and change the conformation of endogenous amyloid protein to polymerize into amyloid fibrils.

Key Words

Amyloidosis, Aging, Fibril formation, Alzheimer Disease, Apolipoprotein, Transthyretin, β 2-microglobulin, A β

【総 説】

カロリー制限による抗老化・寿命延長作用 —代謝の変化から見たそのメカニズム—

樋上賀一

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
医療科学専攻病態解析・制御学講座内臓機能病態病理学

要約

カロリー制限 (caloric restriction, CR) は、老化過程を抑制、加齢に伴う疾患の発生を遅延し、平均および最大寿命を延長する唯一の簡便な再現性の高い方法として、老化研究に広く応用されている。しかし、そのメカニズムは未だ解明されていない。一般にCRは、成長を抑制し、身体を小さく低体温に保ち、脂肪組織量を減少させ、高血糖および高インシュリン血症を抑制、脂質やエネルギー代謝を修飾し、内因性および外因性ストレスに対する抵抗性を増強する事が知られている。食餌不足に対する適応反応としての代謝の変化とそれに伴う非脂肪組織へのトリグリセリド蓄積の阻害が、CRのメカニズムとして重要である可能性を考察する。

1. はじめに

1935年、McCayらは初めて、離乳直後からのカロリー制限 (caloric restriction, CR) により、ラットの寿命が延長する事を報告した。それ以来70年にわたり、CRは、食餌制限 (dietary restriction, food restriction)、エネルギー制限 (energy restriction) とも呼ばれ、唯一の簡便で再現性の高い寿命延長法として広く老化研究に応用されてきた。そして、CRは様々なパラメーターの加齢変化を抑制し、寿命を延長することが、げっ歯類を中心に明らかとなってきた [1,2]。一般的に、高血糖や高インシュリン血症の抑制、エネルギー代謝の変化、酸化ストレスを含む内因性ストレスおよび外因性環境ストレスに対する抵抗性の増強等が、CRによる抗老化・寿命延長効果に重要であろうと考えられている。しかし、その詳細なメカニズムはいまだ解明されていない。

1989年Holliday [3] は、CRによる抗老化・寿命延長作用のメカニズムとして、以下のように適応反応仮説を提唱し、食餌不足に対する神経内分泌および代謝の変化の重要性を進化論的観点から説明した。食餌が豊富な時期には、個体は大きく成長し、強い大きな個体で積極的に生殖することで子孫を増やし、さらに過剰なエネルギーは脂肪組織に貯蔵される。一方、食餌が不足する時期には、個体の成長や生殖を抑制し、脂肪組織に貯えたエネルギーを使いながら、寿命を延長し、食餌が十分に得られる時期を待つ。このような食餌不足に対する適応能力の発達した動物が、進化の過程で選択されてきた。CRは、この食餌不足に対する適応反応を活性化し、抗老化・寿命延長をもたらす。

この総説では、今まで明らかとなったCRによる代謝の

変化を中心に概説し、適応反応仮説をもとに、CRの作用メカニズムを考察する。

2. CRによるラットやマウスの変化

1) 小さな個体と成長、成熟の遅延、繁殖の抑制

CRは個体の成長を抑制し、成熟後の個体のサイズ、体重を減少させる [1,2]。これには、成長ホルモンやその標的ホルモンであるIGF-1の関与が考えられる。実際、自由摂食 (fed ad libitum, AL) 群では、下垂体前葉から成長ホルモンがパルス状に分泌されるが、CR群では、このパルス状分泌パターンは失われ [4]、さらに血中IGF-1レベルは約30%減少する [5]。

またCRは、オス、メスともに性成熟を抑制するが、その影響はメスにおいてより強いようである。CRにより、血中LHレベルは低下するが、FSHレベルは保たれる。また生殖器は小さいものの、生殖能力は維持される [1,6,7]。これらは、血中LH、FSHレベルとも抑制される絶食と異なる点である [8]。

メスでは、CRにより発情周期が高齢まで維持される [1]。7、8カ月間CRを行なった後ALに戻すと、CRしていないコントロールに比べ、発情周期の頻度や産仔数は増加する [1]。しかし、オスでは、CRによる生殖器での老化の遅延は見られない [1]。

2) 高コルチコステロン血症

副腎皮質の主要ホルモンである血中コルチコステロンレベルは、ALおよびCRラットとも、同様な日内変動を示し、明期の後半に上昇する。そのピーク時では、CR群がやや高値を示す。より活性の高いフリーコルチコステロンレベルは、AL群に比べCR群で、2-8倍高値を示す時間帯が明期を中心に存在する [9]。コルチコステロンは、ストレス応答ホルモンともいわれており、CRは長期の軽度なストレス状態 (hormesis) と考えられる。CRによる抗老化・寿命延長作用において、このhormesis状態

連絡先：〒852-8523 長崎市坂本1-12-4

Tel:095-849-7050 or 849-7051

Fax:095-849-7052

E-mail:higami@net.nagasaki-u.ac.jp

の重要性が指摘されている [10]。

3) 低体温

CRは低体温を誘導する。マウスを30℃で飼育すると、CRによる低体温は阻害され、CRの作用の一部は失われる事が明らかとなった。このような研究から、低体温が、CRによる抗老化・寿命延長作用に重要である可能性が示唆されている [11]。

4) 高血糖、高インシュリン血症の修飾

CRは空腹時の血糖値およびインシュリンレベルを抑制する [12]。グルコース負荷試験において、CR群では、血中インシュリンの有意な上昇を示さないにも関わらず、より高い耐糖能を示した。すなわち、血糖値の制御において、インシュリン依存性および非依存性シグナルとも、CRにより活性化されているようである [13]。さらにインシュリン負荷試験においても、CRによるインシュリン感受性の増強が示唆される [13]。

5) 代謝率の変化

古くから老化過程における代謝率の重要性が指摘されてきた。生後6週からのCRにより、unit lean body mass当たりの代謝率は一時的に減少するものの、生後12週には有意差は無くなり、それ以降18ヶ月齢まで大差は見られない [14,15]。それゆえ、CRによる抗老化・寿命延長作用に、代謝率が重要であるとは考えにくい。

6) 脂質代謝の変化

6カ月齢オスラットの血清総脂質、トリグリセリド、総コレステロール、遊離コレステロール、リン脂質レベルは、AL群において、食餌摂取前および摂取後のCR群より高値を示した。血清遊離脂肪酸レベルは、AL群と食餌摂取前のCR群において、食餌摂取後のCR群より高値を示した。一方、血清総ケトン体およびその分画は、食餌摂取前のCR群において、AL群と食餌摂取後のCR群より高値を示した [表-1, unpublished data]。

7) 脂肪組織の減少とその表現型の変化

CRによる個体のサイズや体重の減少は、脂肪組織量の減少を伴う。CRは体重に比べ脂肪組織量、さらには内臓脂肪量により強い影響を与える [16]。一般に加齢は、脂肪組織量の増加を伴うが、CRはこの加齢変化も抑制する [14-16]。またCRにより内臓脂肪組織中の脂肪細胞のサイズは著明に減少する [17]。

我々は、10-11ヶ月齢マウスのCR群および対照群の精巢上体周囲白色脂肪組織での網羅的遺伝子発現解析を行ない、CRが多くの糖、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の発現を増強する事 [表-1]、一方、多くの炎症、血管新生、細胞外器質および細胞骨格関連遺伝子の発現を抑制する事を明らかにした [17]。このような遺伝子発現の変化は、食餌摂取パターンに影響を受けなかった。また、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り、一方、既に報告されている肥満動物の脂肪組織での遺伝子発現とは、逆相関する傾向を示した [17]。さらに、代謝関連遺伝子発現の変化は、部分的に β 3アドレナリン作動性受容体の活性化とレプチンの減少およびそれに引き続く転写因子であるSREBP1/ADD1発現の増加により説明可能であった [17]。

脂肪細胞由来のサイトカインやホルモンは、アディポカインと呼ばれている。レプチンは主要なアディポカインの一つであり、食欲やエネルギー消費を制御し、その制御機構の破綻により多食や肥満となる [18]。血中レプチンレベルは脂肪組織量に依存し、また食餌摂取に伴って増加し、日内変動が見られる [19]。CRは、白色脂肪組織でのレプチンmRNAの発現を著明に抑制する [17]。AL群およびCR群とも、血中レプチン量は摂食行動が盛んな暗期に増加するという同様の日内変動を示すが、CRは血中レプチンレベルを約50%に減少させる [19]。

アディポネクチンは、特に小型の脂肪細胞から分泌されるレプチンと並ぶ主要なアディポカインであり、エネルギーの恒常性や糖および脂質代謝を制御している [20]。血中アディポネクチンレベルは、肥満や2型糖尿病患者で減少しており、その減少は骨格筋や肝臓でのトリグリセリド沈着の増加に関連している [21,22]。またアディポネクチンは、5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性化を介して、肝臓での糖新生を抑制し、糖利用や脂肪酸酸化を活性化させる事が知られている [23]。CRは空腹時血中アディポネクチンレベルを約2倍から3倍に増加する [24]。このように、CRは脂肪組織量を減少させるだけでなく、アディポカインの分泌パターンや遺伝子発現パターンを含め脂肪細胞の形質変化を強く誘導する。

3. 適応反応仮説からみたCRによる代謝の変化

様々なパラメーターから考えると、CRは絶食状態 (fasting, starvation) とは異なるが、血中レプチン、インシュリン、成長ホルモンおよびLHレベルはともに低値を示し、コルチコステロンレベルは高値を示すという変化は共通している [25,26]。また絶食状態では、呼吸商 (respiratory quotient) は低値を示し、エネルギー源が糖質から脂質へシフトし [27,28]、白色脂肪組織由来の脂質が、ミトコンドリア β -酸化の燃料として使われ、主に脳における燃料源であるケトン体が作られる [28]。また肝臓では、絶食により転写因子であるperoxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) が活性化され、多くのミトコンドリア β -酸化、ペルオキシゾーム β -酸化、マイクロゾーム ω -酸化に関わる遺伝子発現を誘導することにより、これら酸化過程を活性化し、結果として脂肪肝の発症を予防する [29-31]。

CRラットの呼吸商は、食餌摂取後では高値、摂取前では低値を示し、その日内変動は食餌摂取に依存し大きく変動する。一方、ALラットの呼吸商の日内変動は、CRラットに比べて小さい [表-1, 15]。この違いから、AL

表-1. CRに伴う代謝の変化

	compared with AL	
	after feeding	prior to feeding
Respiratory quotient	↑	↓
Hepatic gene expression		
fatty acid synthesis	↑	↓
mitochondrial beta-oxidation	⇒	↑
White adipose tissue gene expression		
glucose metabolism	↑	↑
amino acid metabolism	↑	↑
lipid metabolism	↑	↑
mitochondria energy metabolism	↑	↑
Serum biochemical measures		
total lipids	↓	↓
triacylglycerols	↓	↓
total cholesterols	↓	↓
free cholesterols	↓	↓
phospholipid	↓	↓
free fatty acids	↓	⇒
Ketone bodies	⇒	↑

↑: increase, ↓: decrease, ⇒: no change

ラットは、エネルギー源として比較的一定の割合で糖と脂質を利用しているのに対し、CRラットでは、食餌摂取後ではより糖質を中心に、摂取前ではグリコーゲンが枯渇し、より脂質を中心とした代謝が行なわれていると考えられる [15]。食餌摂取前のCRラットでは、ミトコンドリア-酸化に使われる食餌性の燃料は減少している。しかし、肝臓ではPPAR α やミトコンドリア β -酸化関連遺伝子発現は増加し、血中の遊離脂肪酸、ケトン体は少なくとも食餌摂取後より増加する [表-1, unpublished data]。一方、食餌摂取後のCRラットでは、血中総脂質、トリグリセリド、総コレステロールおよび遊離コレステロール、リン脂質、遊離脂肪酸は低値を示すものの、肝臓での脂肪酸合成に関わる遺伝子であるADD1/SREBP1, fatty acid synthaseやacyl-CoA carboxylaseの発現は増加する [表-1, unpublished data]。さらにCRは食餌摂取の有無に関わらず、白色脂肪組織での糖質、アミノ酸、脂質、エネルギー代謝に関わる遺伝子発現を活性化する [17]。それゆえ、呼吸商が低値を示す食餌摂取前のCRラットでは、白色脂肪組織由来の内因性脂肪酸がミトコンドリア β -酸化酵素の基質として使われ、ケトン体を生成する。一方、呼吸商が高値を示す食餌摂取後のCRラットでは、食餌由来の糖質が燃料として優先的に使われ、余剰の燃料は肝臓での脂肪酸合成を経て、白色脂肪組織にトリグリセリドとして貯蔵されると考えられる。このように、CRは食餌摂取後では肝臓での脂肪酸合成を活性化し、また摂取前では肝臓でのPPAR α を介したミトコンドリア β -酸化を活性化し、脂質をより効率的に利用する事により、非脂肪組織での脂質の蓄積を阻害しているように思われる。

4. CRに伴う代謝の変化の神経内分泌系による制御機構

PPAR α ノックアウトマウスは、絶食時、肝臓での代謝適応の欠如により強い低血糖、低ケトン血症、低体温、高遊離脂肪酸血症を示す [30]。PPAR α の発現は副腎皮質ホルモンにより制御されており、肝臓でのPPAR α 発現の日内変動は、血中コルチコステロンレベルに相関する [32]。絶食状態のラットに、レプチンを投与する事により、血中ホルモンレベルが、コントロール状態に回復する [26,27]。それゆえ、絶食に伴う（おそらく食餌摂取前のCR動物でも同様と考えるが）血中ホルモンレベルの変化は、血中レプチンレベルの低下に依存する事が示唆される。アディポネクチンはAMPKの活性化を介して、肝臓での糖新生を抑制し、糖利用や脂肪酸酸化を刺激する [23]。レプチンを欠損したob/obマウスの脳室内にアディポネクチンを投与すると、体脂肪量、呼吸商、血糖値、血中インシュリン、トリグリセリドレベルが低下する。さらに頸静脈へのアディポネクチン投与でも同様の傾向が見られる。またこのようなアディポネクチンに対する反応性は、野生型に比べob/obマウスにおいて強いようである [33]。それゆえ、CRにおける食餌不足に対する代謝の適応反応には、レプチンシグナルの抑制とコルチコステロンおよびアディポネクチンシグナルの増強が強く関連している事が示唆される [34]。

5. 適応反応仮説から考察するCRに伴う代謝の変化と細胞傷害、抗老化・寿命延長作用のメカニズム

肥満だけでなく非脂肪組織での過剰なトリグリセリドの蓄積 (steatosis) とインシュリン感受性低下の関連性が報告されている [35]。またsteatosisは、セラミドを介したlipotoxicityの原因となり、最終的にはlipoapoptosisを引き起こす [36]。このようなlipotoxicityは、膵 β 細胞、心筋および骨格筋で観察され、2型糖尿病やインシュリン抵抗性に関連する。加えて、過剰なトリグリセリドの蓄積は、lipid peroxidationを促進する [36]。また、フリーラジカルや高血糖に伴うメイラード反応が、相乗的に細胞を傷害し、結果として老化を促進するという仮説が提唱されている [37]。さらに肝臓のような非脂肪組織でのsteatosisは、非実質細胞からTNF α 等のサイトカイン産生を誘導し、炎症を促進する [38]。またNF- κ B, TNF α やiNOS等の活性化を含む炎症反応は、加齢に伴って増強し、CRにより抑制される [39]。このようなインシュリン感受性の低下、lipotoxicityやフリーラジカル、メイラード反応さらには炎症反応による細胞傷害の連鎖は、非脂肪組織での過剰なトリグリセリドの蓄積を抑制する事で、少なくともある程度抑制可能と思われる。一般的にレプチンやアディポネクチン、さらに非脂肪組織でのPPAR α の活性化が、過剰なトリグリセリド蓄積の阻害に、重要な役割を担っているといわれている [20,31,34]。しかし、CRにより血中レプチンレベルは減少しているため、レプチンではなく、アディポネクチンやコルチコステロンを介したPPAR α の活性化に引き続く β -酸化が、非脂肪組織での過剰なトリグリセリドの蓄積を阻害する主要なメカニ

ズムではないかと考える。以上のようにエネルギーの効率的な利用は、実質臓器でのトリグリセリド蓄積 (steatosis) の阻害、細胞傷害の抑制、ひいては個体寿命の延長と密接に関連している可能性が示唆される。

6. おわりに

CRの作用メカニズムに関して、私見を述べたが、最近のCRに関する研究は、“CRの作用メカニズムの解明”に加え、“ヒトにおけるCRの有効性”という2つの主要テーマに集約されている。後者に関しては、米国においてサルを用いた研究が進行しており、げっ歯類で観察されるCRの抗老化・寿命延長作用は、サルさらにヒトにおいても有効であろう事が示唆されている。最近の遺伝子工学の進歩に伴い、Amesマウスや我々が現在研究を行っているミニラット等、単一遺伝子の修飾により寿命延長が誘導される遺伝子改変マウスやラットが、現在まで10種以上報告されている。その多くが成長ホルモン/インシュリン/インシュリン様成長因子シグナルに関連しており、CRにおけるこのシグナルに関する研究は重要なテーマである。また酵母等を用いた研究により、CRのメカニズムに重要な役割を担うであろうサーチュインに関する研究も進んできた。さらにCRにより発現が変化する遺伝子群やシグナルは、長寿の新規遺伝子改変動物を作成するための標的として主要な候補である。それゆえ、上記の2つの主要テーマに加え、CRは、老化研究のツールとしても今後も広く利用されるであろう。

最後にこの総説を執筆する機会を与えて下さった樋口京一先生ならびに白澤卓二先生に感謝致します。

文献

1. Yu BP. Modulation of Aging Processes by Dietary Restriction. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994
2. Weindruch R and Walford RL. The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas, 1988.
3. Holliday R. Food reproduction and longevity: Is the extended lifespan of calorie-restricted animals an evolutionary adaptation? *Bioessays* 10:125-127, 1989.
4. Breese CR, Ingram RL and Sonntag WE. Influence of age and long-term dietary restriction on plasma insulin-like growth factor-1 (IGF-1), IGF-1 gene expression, and IGF-1 binding proteins. *J. Gerontol.* 46:B180-187, 1991.
5. Sonntag WE, Xu X, Ingram RL and D'Costa A. Moderate caloric restriction alters the subcellular distribution of somatostatin mRNA and increases growth hormone pulse amplitude in aged animals. *Neuroendocrinol.* 61:601-608, 1995.
6. Bronson FH. Food-restricted, prepubertal, female rats: rapid recovery of luteinizing hormone pulsing with excess food, and full recovery of pubertal development with gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology* 118:2483-2487, 1986.
7. Hamilton GD and Bronson FH. Food restriction and reproductive development: male and female mice and male rats. *Am. J. Physiol.* 250:R370-R376, 1986.
8. Campbell GA, Kurcz M, Marshall S and Meites J. Effects of starvation in rats on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone and prolactin: response to LH-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Endocrinology.* 100:580-587, 1977.
9. Sabatino F, Masoro EJ, McMahan CA and Kuhn RW. Assessment of the role of the glucocorticoid system in aging processes and in the action of food restriction. *J. Gerontol.* 46:B171-179, 1991.
10. Masoro EJ. Caloric restriction and aging: an update. *Exp. Gerontol.* 35:299-305, 2000.
11. Koizumi A, Wada Y, Tuskada M, Kayo T, Naruse M, Horiuchi K, Mogi T, Yoshioka M, Sasaki M, Miyamaura Y, Abe T, Ohtomo K and Walford RL. A tumor preventive effect of dietary restriction is antagonized by a high housing temperature through deprivation of torpor. *Mech. Ageing Dev.* 92:67-82, 1996.
12. Masoro EJ, Compton C, Yu BP and Bertrand H. Temporal and compositional dietary restrictions modulate age-related changes in serum lipids. *J. Nutr.* 113:880-892, 1983.
13. Yamaza H, Komatsu T, Chiba T, Toyama H, To K, Higami Y and Shimokawa I. A transgenic dwarf rat model as a tool for the study of calorie restriction and aging. *Exp. Gerontol.* 39:269-272, 2004.
14. McCarter RJ and McGee JR. Transient reduction of metabolic rate by food restriction. *Am. J. Physiol.* 257:E175-179, 1989.
15. McCarter RJ and Palmer J. Energy metabolism and aging: a lifelong study of Fischer 344 rats. *Am. J. Physiol.* 263:E448-452, 1992.
16. Barzilai N, Banerjee S, Hawkins M, Chen W and Rossetti L. Caloric restriction reverses hepatic insulin resistance in aging rats by decreasing visceral fat. *J. Clin. Invest.* 101:1353-1361, 1998.
17. Higami Y, Pugh TD, Page GP, Allison DB, Prolla TA and Weindruch R. Adipose tissue en-

- ergy metabolism: altered gene expression profile of mice subjected to long-term caloric restriction. *FASEB J.* 18:415-417, 2004.
18. Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ and Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-671, 2000.
 19. Shimokawa I and Higami Y. A role for leptin in the antiaging action of dietary restriction: a hypothesis. *Aging Clin. Exp. Med.* 11:380-382, 1999.
 20. Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp. Biol. Med.* 228:1111-1117, 2003.
 21. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE and Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 98:2005-2010, 2001.
 22. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman M L, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P and Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat. Med.* 7:941-946, 2001.
 23. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB and Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.* 8:1288-1295, 2002.
 24. Zhu M, Miura J, Lu LX, Bernier M, DeCabo R, Lane MA, Roth GS and Ingram DK. Circulating adiponectin levels increase in rats on caloric restriction: the potential for insulin sensitization. *Exp. Gerontol.* 39:1049-1059, 2004.
 25. Nelson JF. Neuroendocrine involvement in the retardation of aging by dietary restriction: A hypothesis. In: *Modulation of Aging Processes by Dietary Restriction*. edited by Yu BP, Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994. p. 37-55.
 26. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E and Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting *Nature* 382:250-252, 1996.
 27. Overton JM, Williams TD, Chambers JB and Rashotte ME. Central leptin infusion attenuates the cardiovascular and metabolic effects of fasting in rats. *Hypertension* 37:663-669, 2001.
 28. Salway JG. *Metabolism at a Glance*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 1999.
 29. Hashimoto T, Cook W S, Qi C, Yeldandi AV, Reddy JK and Rao MS. Defect in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-inducible fatty acid oxidation determines the severity of hepatic steatosis in response to fasting. *J. Biol. Chem.* 275:28918-28928, 2000.
 30. Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B and Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J. Clin. Invest.* 103:1489-1498, 1999.
 31. Rao MS and Reddy JK. Peroxisomal beta-oxidation and steatohepatitis. *Semin. Liver Dis.* 21:43-55, 2001.
 32. Lemberger T, Saladin R, Vazquez M, Assimacopoulos F, Staels B, Desvergne B, Wahli W and Auwerx J. Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene is stimulated by stress and follows a diurnal rhythm. *J. Biol. Chem.* 271:1764-1769, 1996.
 33. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE and Ahima RS. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat. Med.* 10:524-529, 2004.
 34. Shimokawa I and Higami Y. Leptin signaling and aging: insight from caloric restriction. *Mech. Ageing Dev.* 122:1511-1519, 2001.
 35. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*. 2002 Feb;35(2):373-9.
 36. Unger RH and Orci L. Lipoapoptosis: its mechanism and its diseases. *Biochim. Biophys. Acta* 1585:202-212, 2002.
 37. Kristal BS and Yu BP. An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions. *J. Gerontol.* 47:B107-114, 1992.
 38. Czaja MJ. Liver injury in the setting of steatosis: crosstalk between adipokine and cytokine. *Hepatology* 40:19-22, 2004

39. Chung HY, Kim HJ, Kim KW, Choi JS and
Yu BP. Molecular inflammation hypothesis of
aging based on the anti-aging mechanism of

calorie restriction. *Microsc. Res. Tech.* 59:264-
272, 2002

Altered Energy Metabolism in Anti-aging and Lifespan Extension by Caloric Restriction

Yoshikazu Higami

Department of Pathology & Gerontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical
Sciences, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, JAPAN

For nearly 70 years, caloric restriction has been applied as a powerful tool in aging research. Caloric restriction is accepted as a robust, reproducible and simple experimental manipulation known to extend median and maximum lifespans, and to retard and suppress a broad spectrum of pathophysiological changes in a variety of short-lived mammals, mostly rodents. In general, caloric restriction delays skeletal and sexual maturation, reduces body size with less adiposity, modulates hyperglycemia and insulinemia, alters lipid and energy metabolisms, lowers body temperature and protects against internal oxidative and environmental stresses. Based on the adaptive response hypothesis, I propose that metabolic alterations against food shortage and protection against steatosis might play an important role in the anti-aging and lifespan extension by caloric restriction.

Key words: caloric restriction, aging, lipid metabolism, steatosis, adipokine

【総 説】

線虫におけるミトコンドリア代謝と老化・寿命のメカニズム

松田七美

東京大学大学院・薬学系研究科・遺伝学教室

要約

ミトコンドリア機能の特徴として、エネルギー代謝、ROS産生、細胞死の制御の3つが挙げられ、これらの機能異常が老化の過程や様々な神経変性疾患の病態に関与すると考えられている。しかしながら、老化の過程や疾患の発症機序に関わるこれらの機能異常の相互関係については、ほとんど理解されていない。そこで我々は、線虫*C. elegans*のミトコンドリア電子伝達系複合体II、及び複合体Iの機能欠損変異体*mev-1*、及び*gas-1*を用いて、ミトコンドリア機能不全の分子機構を解析した。*mev-1*、及び*gas-1*において、それぞれ複合体II、及び複合体I活性の低下により、酸素ストレス依存的に顕著に寿命が短縮し、ミトコンドリアからの活性酸素種(ROS)の産生量が増大し、異常な細胞死がみられることを明らかにした。このことから両変異体がミトコンドリア機能不全による有用な老化モデルになりうることを示された。さらに*mev-1*変異体においては、CoQ₁₀の投与実験を行い、CoQ₁₀が機能不全を伴うミトコンドリアを賦活化することを明らかにした。これらの解析結果から、神経変性疾患や老化における3つのミトコンドリア機能の相互関係について考えたい。

キーワード： mitochondria, energy metabolism, reactive oxygen species, apoptosis, aging

はじめに

ミトコンドリアは、生体内酸素の90%以上を消費して生命活動に必要なエネルギー(ATP)を供給する細胞小器官であるが、その一方で消費酸素のうちの数%をROSとして漏出する生体内における主要なROS産生源でもある。また近年、ミトコンドリアが細胞死の制御にも積極的に関与することが明らかになってきている。これらのことから、ミトコンドリア機能に異常が生じた場合には、エネルギー代謝が大きく影響を受けてATPの供給が低下するばかりではなく、細胞内に産生されるROSが増大すること、また細胞死に異常が認められることが考えられる。

本稿では、我々が見いだした線虫のミトコンドリア機能欠損変異体の解析について概説し、線虫を用いた最近の老化研究を踏まえながら、ミトコンドリア代謝と老化・寿命のメカニズムの関係について考察する。

1. 線虫を用いた老化、及びミトコンドリア機能不全のモデル

老化に伴うミトコンドリア機能の低下が細胞機能に様々な影響を及ぼすことが分かってきている¹⁾。また、ミトコンドリア機能の低下によりヒトでは脳神経系、筋肉系などに障害を受けやすく、パーキンソン病やハンチントン病などの神経変性疾患の発症へのミトコンドリア

機能不全の関与が指摘されている。

線虫*C. elegans*では、受精卵から成虫になるまでに1090個の細胞が生まだされ、そのうち131個の細胞が正常な発生過程においてプログラム細胞死により失われる。20°Cで飼育した場合に1世代期間が3日半、最大寿命が約25日間と短く、体長1mmで959個の細胞からなる成虫は、生物として必要最低限の体制(表皮、筋肉、神経、消化器官、及び生殖器官)をもつ。また線虫では、ヒトの老化に伴ってみられる表現型(酸化蛋白質、リポフスチンの蓄積など)を一致して観察することができる。線虫の特徴の一つは、成虫になった時点で生殖細胞以外の体細胞(表皮、筋肉、神経、消化器官、及び子宮の細胞)の分裂が終了していることである。すなわち、成虫の体細胞は、非分裂系細胞であるヒトの神経細胞や筋肉細胞のモデル系として考えることができる。さらに、線虫の全ゲノム配列は多細胞生物ではじめて決定され、約19,000の遺伝子が存在し、免疫系に関連する遺伝子を除いてヒトの相同遺伝子がほぼ存在することが明らかになった²⁾。このことから、線虫のモデルは、発生、行動、老化など、あらゆる生物学の分野で注目されており、ヒトの老化や脳神経系・筋肉系の変性疾患におけるミトコンドリア機能不全の分子メカニズムを探るために適した系であるといえる。

以下に、線虫モデルを用いた老化研究へのアプローチについて述べる。

2. 線虫の酸素感受性短寿命変異体

2.1 *mev-1*変異体

我々は、酸素ストレスに対して高感受性を示し、寿命

連絡先：〒113-0033 文京区本郷7-3-1

Tel:03-5841-4863

Fax:03-5841-4867

E-mail: nanami@mol.f.u-tokyo.ac.jp

が顕著に短縮する突然変異体*mev-1*を分離し³⁾、その原因遺伝子産物がミトコンドリア電子伝達系の複合体IIのシトクロム*b*大サブユニット(Cyt-1)であることを見だし

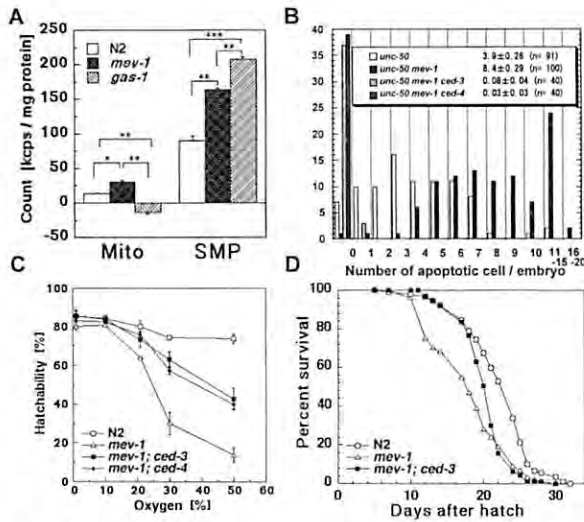


図1 ミトコンドリア複合体II Cyt-1サブユニット機能欠損に起因する*mev-1*変異体の表現型

A, *mev-1*、及び*gas-1*のミトコンドリアからのスーパーオキシド(O₂⁻)産生量の上昇(論文7より改変);大気中において発生初期から72時間培養した野生株(N2)、*mev-1*、及び*gas-1*変異体の若い成虫から、インタクトなミトコンドリア(Mito)、またはミトコンドリア亜粒子(submitochondrial particles; SMP)を調製し、MCLAを用いた発光法によりO₂⁻産生量を測定した。*mev-1*では、インタクトなミトコンドリアから産生されるO₂⁻量が野生株の約2倍に上昇した。*mev-1*、及び*gas-1*では、SMPから産生されるO₂⁻量が野生株のそれぞれ約1.8倍、約2.3倍に上昇した。一方、*gas-1*ではインタクトなミトコンドリアから産生されるO₂⁻量はベースラインを割り込む低値となった。*gas-1*に関するデータの詳細な解析結果に関しては現在投稿準備中である。*, P < 0.05, **, P < 0.0005, ***, P < 0.0001。

B, *mev-1*の胚における異常な細胞死の増加はCED-3、及びCED-4を介する(論文10より改変);野生株(*unc-50*)、及び*mev-1* (*unc-50; mev-1*)、*mev-1; ced-3* (*unc-50; mev-1; ced-3*)、及び*mev-1; ced-4* (*unc-50; mev-1; ced-4*)変異体のコンマ期胚において、1個の胚あたりの死細胞数を測定した。

C, *mev-1*の酸素ストレス依存的な孵化率の低下は*ced-3*、あるいは*ced-4*機能欠損変異により部分的に回復する(論文10より改変);野生株(N2)、及び*mev-1*、*mev-1; ced-3*、及び*mev-1; ced-4*変異体をL1幼虫期から成虫まで1、10、21、及び50%酸素濃度条件下で96時間培養し、成虫から胚を調製し、孵化率を測定した。

D, *mev-1*の短寿命は*ced-3*、あるいは*ced-4*機能欠損変異により部分的に回復する(論文10より改変);野生株(N2)、及び*mev-1*、*mev-1; ced-3*、及び*mev-1; ced-4*変異体の寿命を測定した。

た⁴⁾。*mev-1*では、老化マーカーとされるリポフスチンや酸化蛋白質の蓄積速度が野生株よりも高く、高酸素濃度条件下で培養した場合には、その増加率は顕著に高くなる^{5), 6)}。*mev-1*では、Cyt-1サブユニットの点変異(Gly71Glu)により、コハク酸-シトクロム*c*酸化還元酵素(複合体II+III)活性が野生株の10%以下に低下し、ミトコンドリア脳筋症の特徴的な病態の一つである代謝性乳酸アシドーシスを伴うエネルギー代謝異常がみられる⁷⁾。一方、*mev-1*における電子伝達系のNADH-シトクロム*c*酸化還元酵素(複合体I+III)活性は、複合体II酵素活性の顕著な低下による影響を受けず正常であり、ATP産生量には変化が認められなかった。

*mev-1*における酸素ストレス感受性の原因を調べる目的で、ミトコンドリアから最初に産生されるROSであるスーパーオキシド(O₂⁻)について解析した。その結果、*mev-1*のミトコンドリアからのO₂⁻産生量は、野生株に比べて大気中で培養した場合に約2倍(図1)、40%酸素条件下で培養した場合に3倍以上に上昇することが明らかとなった⁷⁾。このことから、*mev-1*の酸素ストレス感受性は、大気中酸素に由来するミトコンドリアROS産生の上昇によるものであることが示された。また、従来からミトコンドリアからのO₂⁻産生部位は複合体I、及び複合体IIIと考えられてきた⁸⁾が、生理的な条件下において複合体IIからもO₂⁻が産生されており、*mev-1*のミトコンドリアではCyt-1変異(G71E)により複合体IIからのO₂⁻産生が上昇することが証明された。

興味深いことに、*cyt-1*遺伝子とアポトーシス抑制遺伝子である*ced-9*(哺乳類の*bcl-2*遺伝子のホモログ)は同一遺伝子上の約180bp離れたところに隣接して位置し、共通のプロモーターにより制御されていると考えられており、Cyt-1とCED-9の相互作用が示唆されている⁹⁾。そこで我々は、細胞死についても解析を行い、*mev-1*の胚において酸素ストレス依存的にアポトーシスに特徴的な形態(核質の分断、及び凝集)を持つ死細胞が多く認められ、胚の孵化率が顕著に減少することを明らかにした(図1)¹⁰⁾。さらに、CED-9によって抑制制御されているアポトーシス実行因子CED-3、及びCED-4(それぞれ哺乳類のカスパー、及びApaf-1の線虫ホモログ)について遺伝学的解析を行った。その結果、CED-3、あるいはCED-4の機能欠損変異により、*mev-1*における異常な細胞死は完全に抑制され、さらに、*mev-1*の短寿命の表現型が部分的に回復することが明らかとなった(図1)。このことから、ミトコンドリア機能不全によるCED-9/CED-3/CED-4カスケードを介する細胞死が個体の死にも関わることが示唆された¹⁰⁾。

これらの解析から、*mev-1*が酸素ストレス依存的に早期老化症状を呈し、寿命が短縮する変異株であり、老化ばかりでなく、ミトコンドリア病をはじめとしたミトコンドリア機能不全に起因する様々な疾患と酸素ストレス、細胞死との関わりを探るための有用なモデル動物になりえることが示された。

2.2 *gas-1*変異体

*gas-1*は、揮発性麻酔薬感受性突然変異体として分離され、その原因遺伝子産物が電子伝達系複合体IのGas-1サブユニット(49kDa Ipサブユニット)であることが明らかにされた¹¹⁾。我々は、この*gas-1*において*mev-1*と同様の酸素感受性短寿命の表現型が認められること、またNADH・シトクロームc酸化還元酵素活性が野生株の約50%に低下していることを明らかにした¹²⁾。また、*gas-1*において、Gas-1/49kDa Ipサブユニットの機能欠損により、酸素ストレス依存的にミトコンドリアからのO₂⁻産生が上昇することや老化マーカーである酸化蛋白質の蓄積が促進することを見いだしている(図1;石井、松田:未発表)。このように*gas-1*は、*mev-1*と同様の酸素ストレス感受性を示す老化のモデル動物として捉えることができるが、細胞死に関連する表現型は*mev-1*とは異なる。我々は、*gas-1*においてもCED-9/CED-3/CED-4カスケードを介する異常なアポトーシスが認められるが、細胞死実行カスケードを抑制した場合に短寿命の表現型は回復せず、成虫においてネクローシス様の細胞死が顕著に観察されることを明らかにしている(石井、松田:未発表)。

2.3 CoQによる機能不全ミトコンドリアの賦活効果

コエンザイムQ/ユビキノン(CoQ/UQ)は、ミトコンドリア電子伝達系において電子の受容体として重要な役割を果たしている。すなわち、電子伝達系の2つの経路、NADHを基質とする複合体Iからの経路(I→CoQ→III→シトクロームc→IV→酸素)とコハク酸を基質とする複合体IIからの経路(II→CoQ→III→シトクロームc→IV→酸素)において、CoQは複合体I、あるいは複合体IIから基質の酸化還元反応に伴い生じる電子を受けとって複合体IIIに渡す。CoQは生物種によりイソプレン側鎖の長さが異なり、ヒトでは側鎖のイソプレン単位が10であるCoQ₁₀(CoQ₁₀)、線虫やマウスでは9、大腸菌では8、出芽酵母では6単位のイソプレン側鎖を持つCoQを有する。わが国において、CoQ₁₀は1974年より抗心疾患剤として認可され、心疾患以外にミトコンドリア病などの根源的治療法が見いだされていない重篤な脳神経系・筋肉系変性疾患においても対処療法剤として使用されてきたが、2001年からは健康補助食品としても認可された。CoQ₁₀の生理作用としては、還元型CoQの抗酸化作用、及びミトコンドリアにおけるエネルギー代謝の活性化作用が挙げられる¹³⁾が、外因的に投与された場合のCoQ₁₀の作用機序には不明な点が多い。

我々は、CoQ₁₀の*in vivo*効果を調べる目的で、CoQ₁₀添加培地において胚発生期から培養した線虫において解析を行い、ビタミンEによる効果との比較を行った。野生株では、CoQ₁₀、またはビタミンEの投与により、ともに有意な寿命の延長が認められたが、*mev-1*では、CoQ₁₀投与群においてのみ寿命延長効果が認められ、ビタミンE投与による効果は全くみられなかった¹⁴⁾。これまでに線虫では、抗酸化物質としてビタミンEやスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)/カタラーゼ様物質を投与した場

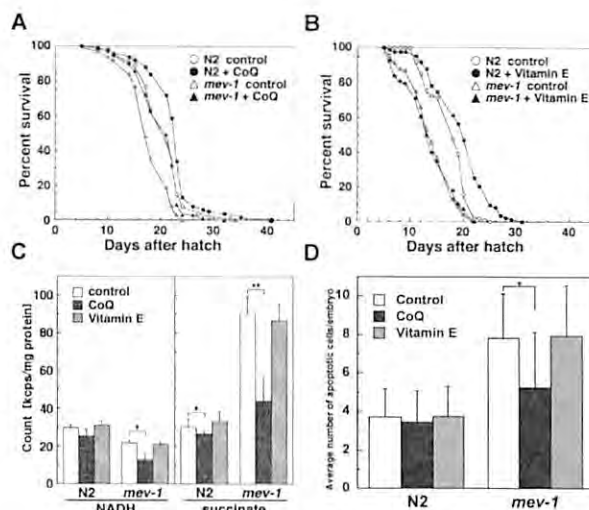


図2

*mev-1*変異体の表現型に対するCoQ₁₀及びビタミンEの投与効果(論文14より改変)

A, B, *mev-1*の短寿命の表現型に対する効果:野生株、及び*mev-1*変異体は胚発生期からCoQ₁₀(A)、またはビタミンE(B)添加培地において培養し、寿命を測定した。CoQ₁₀は、野生株(N2)、及び*mev-1*の両者に対し、寿命延長効果を示した。ビタミンEは、野生株のみの寿命を延長させ、*mev-1*の寿命には効果を示さなかった。

C, *mev-1*ミトコンドリアからのO₂⁻産生量に対する効果:野生株(N2)、及び*mev-1*変異体は胚発生期から96時間CoQ₁₀、またはビタミンE添加培地において培養し、成虫からインタクトなミトコンドリアを調製した。ミトコンドリアに基質としてNADH、またはコハク酸を添加した条件下において、図1Aと同様の方法によりO₂⁻産生量を測定した。CoQ₁₀は、*mev-1*のミトコンドリアからのO₂⁻産生量を減少させた(*, P < 0.05, **, P < 0.01)。

D, *mev-1*の胚における異常なアポトーシスに対する効果:CoQ₁₀、またはビタミンE添加培地において96時間培養した野生株(N2)、及び*mev-1*変異体の成虫から胚を調製し、コンマ期の胚における死細胞数を測定した(*, P < 0.05)。

合に寿命が延長することが報告されている。^{15), 16)}、これらの知見は、生体内で産生されたROSを末梢部において消去する防御機構が老化・寿命に関連しているという通説を支持している。我々が得たCoQ₁₀の解析結果は、外因的に投与したCoQ₁₀が抗酸化作用により野生株の寿命を延ばしている可能性を否定しないが、ビタミンEが有するような抗酸化作用とは異なるミトコンドリア賦活化作用をもつ可能性を示唆するものであった。そこで次に、*mev-1*におけるミトコンドリア機能(O₂⁻産生、及び細胞死)にCoQ₁₀が与える影響について解析した。その結果、CoQ₁₀の投与により、*mev-1*のミトコンドリアにおいて増大したO₂⁻産生、及び*mev-1*の胚における異常な細胞死が有意に抑制されることが明らかとなった¹⁴⁾(図2)。一方、CoQ₁₀は、野生株におけるミトコンドリアO₂⁻産生と胚における正常なプログラム細胞死にはほとんど影響を与え

なかった。これらの結果から、CoQ₁₀が機能低下を伴うミトコンドリアを賦活化させる生理作用を有し、その結果として*mev-1*の短寿命の表現型を回復させることが明らかとなった。

3. ミトコンドリア代謝と老化

1950年代にHarmanは、酸素分子を使用する酵素反応では反応に伴い酸素フリーラジカルを生じ、代謝速度が下がり酵素反応速度が低下した場合には酸素フリーラジカル量が減少し、寿命が延長するという『老化の酸素フリーラジカル仮説』を提唱した¹⁷⁾。以来、ROSを最も多く産生すると考えられる細胞小器官であるミトコンドリアが老化の過程に深く関わるとされてきた。しかしながら、ミトコンドリア代謝の低下→ROS産生の低下という考え方には多くの矛盾が存在する。まず、上述した*mev-1*、及び*gas-1*のモデルを含めた様々なミトコンドリア機能欠損動物モデルや神経変性疾患の症例において、ミトコンドリア代謝が滞った場合にはROS産生量がむしろ増大することが示されていることが挙げられる。また、ミトコンドリア代謝の低下は加齢とともに認められる生理現象であり、エネルギー依存性の高い脳神経系・筋肉系組織ではミトコンドリアの機能低下により細胞死や変性が生じ、これが様々な変性疾患の発症原因になりえると考えられている。つまり、ミトコンドリア代謝が低下することは生命の基本的な維持にとって不利であると言えるのである。

以下、線虫を用いた最近の老化研究を踏まえながら、ミトコンドリア代謝と老化の関係について考えてみたい。

3.1 ミトコンドリア関連因子の機能欠損と老化

この数年で、変異、またはRNAiにより様々なミトコンドリア関連因子を機能欠損させた線虫の解析が進み、電子伝達系酵素サブユニットと老化・寿命との関係を示す情報が蓄積してきている。これらのミトコンドリア関連因子は、1) 寿命の延長、酸素ストレス耐性(パラコート耐性)、発生期間、脱糞サイクルなどの生物学的な期間やリズムの延長がみられる因子群(複合体I・30kDa Ipサブユニット/NUO-2、複合体III・Rieske鉄-硫黄蛋白サブユニット/ISP-1、複合体IV・COX5Bサブユニット/CCO-1、複合体V・オリゴマイシン感受性付与タンパクOSCP/ATP-3など)、及び2) 幼虫期で発生が停止する成長障害(幼虫性致死)を生じる因子群(複合体I・NADH/FMN結合51kDaサブユニット/NUO-1、複合体V・ATP合成触媒部位βサブユニット/ATP-2)に分けられる^{18), 19), 20)}。これらの電子伝達系酵素サブユニットの機能欠損線虫では、長寿命になる場合、成長障害がみられる場合のいずれにおいても、酸素消費量やATP量の低下がみられる。1)の表現型は、CoQの前駆体の合成酵素Coq-7/Cat-5の機能欠損による長寿命突然変異体*clk-1*²¹⁾によく類似している。興味深いことに、1)、及び2)に挙げた電子伝達系酵素サブユニットの多くについては、ヒトではミトコンドリア病などの疾患発症にその機能欠損が関連することが報告されている。また、*clk-1*のノック

アウトマウスでは胚性致死になり^{22), 23)}、その表現型は家族性CoQ₁₀欠損症におけるミトコンドリア脳筋症様の病態²⁴⁾とも一部は一致することが示されている。一方、NUO-1、あるいはATP-2の機能欠損による成長障害は、これらの酵素サブユニットが電子伝達系において重要な役割を果たしていることを示唆するものと考えられる。我々は、複合体IIサブユニット(Cyt-1、シトクロームb小サブユニット、及びIp)についてRNAiにより機能欠損線虫を作製し、いずれも胚性致死となることも確認している(私信)。このことは、機能欠損により致死となることが予想される電子伝達系酵素サブユニットの機能解析には、ミュータジェネシスによるマイルドな機能欠損モデルが有効であることを示している。

このように線虫のミトコンドリア関連因子機能欠損モデルでは、その表現型がヒトの疾患やマウスのモデルと異なる場合がある。このことがミトコンドリア代謝に関連する寿命・老化のメカニズムの考え方をより複雑化している感がある。表現型が一致しない理由については、現在のところ不明であるが、発生、脱糞、食餌などのすべての生物学的な期間やリズムが延長し、寿命が延長する*clk-1*に代表される長寿命の表現型が線虫特有のものであり、他のモデル動物では認められないことと関係している可能性がある。

3.2 ミトコンドリア代謝とカロリー制限、及びインスリン/IGFシグナル伝達系

マウスなどの哺乳類をはじめ、酵母や線虫、ショウジョウバエなどの様々なモデルにおいて、カロリー制限やインスリン/IGFシグナル伝達系の機能低下により寿命が延長することが知られ、そのメカニズムとして糖代謝の低下によりエネルギー代謝全体が低下してミトコンドリアからのROS産生が低く抑えられるという仮説が考えられてきた。最近、寿命関連因子Sir2の分子機構の解析から、カロリー制限とミトコンドリア代謝との関係について、これまでの仮説とは異なる新たな知見が報告された。Sir2蛋白質は、クロマチンのサイレンシングを制御するNAD依存性ヒストン脱アセチル化酵素であり、酵母と線虫の*sir-2*過剰発現トランスジェニックモデルにおいて寿命が延長することが報告されている^{25), 26), 27)}。線虫のモデルにおける遺伝学的解析から、Sir2がインスリン/IGFシグナル伝達系のDAF-16/FOXOフォークヘッド型転写因子の上流で機能することが示されている²⁷⁾。酵母のモデルにおいて、カロリー制限によりSir2を介してミトコンドリア電子伝達系における呼吸活性が上昇し、寿命延長が引き起こされることが示された²⁸⁾。このことから、Sir2はエネルギー代謝の制御においても重要な役割を果たし、糖代謝の低下に伴い、エネルギー代謝をTCAサイクル、及び電子伝達系に振り分けて呼吸活性を上昇させることで寿命を延長させている可能性が示唆された。このようなSir2の分子機構は、線虫や哺乳類においても保存されていると考えられ、今後の解析が期待される。

一方、線虫のインスリン/IGFシグナル伝達系に関連す

る長寿命突然変異体*age-1*、及び*daf-2*（それぞれホスファチジルイノシトール三リン酸キナーゼ (PI3K) の触媒サブユニットp110/AGE-1、及びインスリン様増殖因子レセプター /DAF-2の機能欠損変異体）では、酸素消費量、すなわちエネルギー代謝速度が低下せず、ATPレベルはむしろ上昇することが報告されている²⁹⁾。

4. ミトコンドリア代謝と神経変性疾患

老化・寿命研究では、エネルギー代謝を大きな一つの枠組みとして捉えることが多い。一方、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、多発性硬化症、ALS（筋萎縮性側索硬化症; amyotrophic lateral sclerosis）など、様々な神経変性疾患の発症にミトコンドリア電子伝達系の特異的部位の機能低下が関与することが報告されている³⁰⁾。例えば、パーキンソン病では、選択的な神経変性が生じる中脳黒質だけではなく、骨格筋や血小板など全身の臓器において広く、とくに複合体I活性の低下がみられるという報告が多い。一方、ハンチントン病では、特異的な変性脱落が生じる大脳基底核線条体の尾状核、及び被核の神経細胞において、複合体II活性の顕著な低下が認められるという症例報告が多い。また、パーキンソン病、またはハンチントン病の病態を反映する動物モデルとして、それぞれ複合体I阻害剤 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; MPTP、

rotenone)、または、複合体II阻害剤 (マロン酸、3-nitro-propionic acid; 3-NP) を投与したモデルが報告されており、電子伝達系の特異的部位におけるミトコンドリア機能障害と疾患との関係が示唆される。これらの疾患では、遺伝子レベルでミトコンドリア機能に直接変化を与えるような因子についてはほとんど解明されておらず、ミトコンドリア機能不全により神経細胞の変性、あるいは細胞死が生じる分子メカニズムは不明である。

前項において、線虫の複合体I、及び複合体IIの機能欠損変異体*gas-1*、及び*mev-1*では、細胞死に関わる表現型が異なることを述べた。*gas-1*と*mev-1*の表現型の違いを詳細に解析することにより、このような個々の神経変性疾患に特異的な発症メカニズムの解明につながる可能性がある。

おわりに

このように、線虫において様々な寿命関連因子が同定され、その機能解析から、ミトコンドリア機能、すなわち、エネルギー代謝とそこから生じるROSが老化に深く関わっていることが示唆されている(図3)。しかしながら、エネルギー代謝とROS産生、及び老化速度の関係については様々な仮説が存在し、これらの関係を整理することが今後の老化研究の課題の一つである。短寿命突然変異体*mev-1*、及び*gas-1*の解析からは、エネルギー代謝の低下により、ミトコンドリアROS産生の増大が生じることが示された。一方、線虫の長寿命突然変異体*age-1*、*daf-2*、及び*clk-1*では、ミトコンドリア代謝速度が低下していない²⁹⁾。この知見は、エネルギー代謝が低下せずに正常に保たれていることが、おそらくミトコンドリアからの内在性のROS産生を増大させずに生体を維持するために必要な条件であることを示唆するものと考えられる。

今後、これらの線虫をはじめとした様々なモデルを用いて詳細な解析を進めることにより、ミトコンドリア機能不全による疾患や老化のメカニズムが解明されることが期待される。

謝辞

本稿で述べた研究は、東海大学・医学部の石井直明教授の研究室において、石井教授をはじめ、教室員の方々の協力のもとに遂行された成果である。ここに感謝の意を表します。

【参考文献】

- 1) Papa S: Mitochondrial oxidative phosphorylation changes in the life span. Molecular aspects and physiopathological implications. Biochim Biophys Acta 1276: 87-105, 1996
- 2) The C. elegans Sequencing Consortium et al: Genome sequence of the nematode C. elegans: a platform for investigating biology. Science

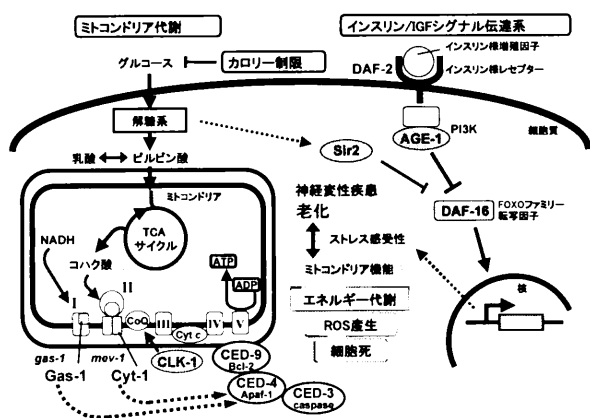


図3

線虫の老化・寿命関連因子とミトコンドリア機能

線虫のモデルにおいて、ミトコンドリアのエネルギー代謝に関連する因子 (Cyt-1、Gas-1、CLK-1など)、インスリン/IGFシグナル伝達系に関連する因子 (DAF-2、AGE-1、及びDAF-16)、Sir2が老化・寿命の分子メカニズムに関与し、このメカニズムにミトコンドリア機能、及び酸素ストレス感受性が深く関係していることが次第に明らかになってきている。

- I: 複合体I (NADH-CoQ酸化還元酵素)
- II: 複合体II (コハク酸-CoQ酸化還元酵素)
- III: 複合体III (CoQH₂-シトクロームc還元酵素)
- IV: 複合体IV (シトクロームc酸化酵素)
- V: 複合体V (ATP合成酵素)
- CoQ: コエンザイムQ (ユビキノ)
- Cyt c: シトクロームc

- 282: 2012-2018, 1998
- 3) Ishii N, Takahashi K, Tomita S, Keino T, Honda S, Yoshino K, Suzuki K: A methyl viologen-sensitive mutant of the nematode *Caenorhabditis elegans*.: *Mutation Res* 237: 165-171, 1990
 - 4) Ishii N, Fujii M, Hartman PS, Tsuda M, Yasuda K, Senoo-Matsuda N, Yanase S, Ayusawa D, Suzuki K: A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome *b* causes oxidative stress and ageing in nematodes. : *Nature* 394: 694-697, 1998
 - 5) Hosokawa H, Ishii N, Ishida H, Ichimori K, Nakazawa H, Suzuki K: Rapid accumulation of fluorescent material with aging in an oxygen-sensitive mutant *mev-1* of *Caenorhabditis elegans*.: *Mech Ageing Develop* 74: 161-170, 1994
 - 6) Adachi H, Fujiwara Y, Ishii N: Effects of oxygen on protein carbonyl and aging in *Caenorhabditis elegans* mutants with long (*age-1*) and short (*mev-1*) life spans. : *J Gerontology Bio Sci* 53A: B240-B244, 1998
 - 7) Senoo-Matsuda N, Hartman PS, Akatsuka A, Yoshimura S, Ishii N: A defect in the cytochrome *b* large subunit in complex II causes both superoxide anion overproduction and abnormal energy metabolism in *Caenorhabditis*: *J Biol Chem* 276: 41553-41558, 2001
 - 8) Raha S, Robinson, BH: Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. : *Trends Biochem Sci* 25: 502-508, 2000
 - 9) Hengartner MO, Horvitz HR: *C. elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene *bcl-2*.: *Cell* 76: 665-676, 1994
 - 10) Senoo-Matsuda N, Hartman PS, Akatsuka A, Yoshimura S, Ishii N: A complex II defect affects mitochondrial structure, leading to *ced-3*- and *ced-4*-dependent apoptosis and aging. *J Biol Chem* 278: 22031-22036, 2003
 - 11) Kayser EB, Morgan PG, Sedensky MM: GAS-1: a mitochondrial protein controls sensitivity to volatile anesthetics in the nematode *Caenorhabditis elegans*.: *Anesthesiology* 90: 545-554, 1999
 - 12) Hartman PS, Ishii N, Kayser EB, Morgan PG, Sedensky MM: Mitochondrial mutations differentially affect aging, mutability and anesthetic sensitivity in *Caenorhabditis elegans*.: *Mech Ageing Dev* 122: 1187-201, 2001
 - 13) James AM, Smith RA, Murphy MP: Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial Coenzyme Q. : *Arch Biochem Biophys* 423:47-56, 2004
 - 14) Ishii N, Senoo-Matsuda N, Miyake K, Yasuda K, Ishii T, Hartman PS, Furukawa S.: Coenzyme Q₁₀ can prolong *C. elegans* lifespan by lowering oxidative stress. : *Mech Ageing Dev* 125: 41-46, 2004
 - 15) Harrington LA, Harley CB: Effect of vitamin E on lifespan and reproduction in *Caenorhabditis elegans*.: *Mech Ageing Dev* 43: 71-78, 1988
 - 16) Melov S, Ravenscroft J, Malik S, Gill MS, Walker DW, Clayton PE, Wallace DC, Malfroy B, Doctrow SR, Lithgow GJ: Extension of lifespan with superoxide dismutase/catalase mimetics. : *Science* 289: 1567-1569, 2000
 - 17) Harman D: Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. : *J Gerontol* 11: 298-300, 1956
 - 18) Dillin A, Hsu AL, Arantes-Oliveira N, Lehrer-Graiwer J, Hsin H, Fraser AG, Kamath RS, Ahringer J, Kenyon C.: Rates of behavior and aging specified by mitochondrial function during development. : *Science* 298: 2398-2401, 2002
 - 19) Lee SS, Lee RY, Fraser AG, Kamath RS, Ahringer J, Ruvkun G.: A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. : *Nat Genet* 33, 40-48, 2003
 - 20) Tsang WY, Sayles LC, Grad LI, Pilgrim DB, Lemire BD.: Mitochondrial respiratory chain deficiency in *Caenorhabditis elegans* results in developmental arrest and increased life span. : *J Biol Chem* 276, 32240-32246, 2001
 - 21) Felkai S, Ewbank JJ, Lemieux J, Labbe JC, Brown GG, Hekimi S: CLK-1 controls respiration, behavior and aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*.: *EMBO J* 18: 1783-1792, 1999
 - 22) Levavasseur F, Miyadera H, Sirois J, Tremblay ML, Kita K, Shoubbridge E, Hekimi S: Ubiquinone is necessary for mouse embryonic development but is not essential for mitochondrial respiration. : *J Biol Chem* 276: 46160-46164, 2001
 - 23) Nakai D, Yuasa S, Takahashi M, Shimizu T, Asami S, Isono K, Takao T, Suzuki Y, Kuroyanagi H, Hirokawa K, Koseki H, Shirsawa T: Mouse homologue of *coq7/clk-1*, longevity gene in *Caenorhabditis elegans*, is essential for coenzyme Q synthesis, maintenance of mitochondrial integrity, and neurogenesis. : *Biochem Biophys Res Commun* 289: 463-471, 2001

- 24) Musumeci O, Naini A, Slonim AE, Skavin N, Hadjigeorgiou GL, Krawiecki N, Weissman BM, Tsao CY, Mendell JR, Shanske S, De Vivo DC, Hirano M, DiMauro S: Familial cerebellar ataxia with muscle coenzyme Q₁₀ deficiency.: *Neurology* 56: 849-855, 2001
- 25) Imai S, Armstrong CM, Kaerberlein M, Guarente L: Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase.: *Nature* 403: 795-800, 2000
- 26) Lin SJ, Defossez PA, Guarente L: Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*.: *Science* 289: 2126-2128, 2000
- 27) Tissenbaum HA, Guarente L: Increased dosage of a *sir-2* gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*.: *Nature* 410: 227-230, 2001
- 28) Lin SJ, Kaerberlein M, Andalis AA, Sturtz LA, Defossez PA, Culotta VC, Fink GR, Guarente L: Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration.: *Nature* 418, 344-348, 2002
- 29) Braeckman BP, Houthoofd K, De Vreese A, Vanfleteren JR: Apparent uncoupling of energy production and consumption in long-lived Clk mutants of *Caenorhabditis elegans*.: *Curr Biol* 9: 493-496, 1999
- 30) Schapira AH: Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia.: *Biochim Biophys Acta* 1410: 159-170, 1999

Mitochondrial metabolism and mechanisms of aging and longevity in *C. elegans*.

Nanami Senoo-Matsuda, Ph.D.

Department of Genetics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

Summary

The *mev-1(kn1)* mutation of *Caenorhabditis elegans* is in Cyt-1, which encodes a subunit of succinate-coenzyme Q oxidoreductase (complex II) in the mitochondrial electron transport chain. *gas-1* encodes the 49-kDa iron protein subunit (Gas-1) of NADH-coenzyme Q oxidoreductase (complex I). Both mutants are hypersensitive to oxidative stress and age precociously in part because of increased superoxide anion production. We show that *mev-1* and *gas-1* mutants are defective in complex II and complex I, respectively, an overproduction of superoxide anion from mitochondria, and contain *ced-3*- and *ced-4*-dependent supernumerary apoptotic cells. These defects likely explain the failure of *mev-1* and *gas-1* to complete embryonic development under hyperoxia as well as its reduced life span. Moreover, we show that CoQ₁₀ and Vitamin E extended the life span of wild type. Conversely, only CoQ₁₀ recovered the life shortening effects seen in *mev-1*. We also show that CoQ₁₀ but not Vitamin E reduced superoxide anion levels and suppressed supernumerary apoptoses in *mev-1*. These data suggest that exogenously supplied CoQ₁₀ can play a significant anti-aging function due to activation of dysfunctional mitochondria.

Keywords: mitochondria, energy metabolism, reactive oxygen species, apoptosis, aging

【研究報告】

SMP30の抗老化作用と分子機能の検討

近藤嘉高¹⁾、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 血流制御内科学

要約

加齢指標蛋白質30 (Senescence Marker Protein-30/SMP30)は、ホルモンによる影響を受けず加齢に伴い減少する蛋白質である。SMP30は、血球系の細胞を除く殆ど全ての臓器で発現し、その遺伝子は枯草菌や酵母などの下等生物からヒトに至るまで存在する。SMP30ノックアウトマウスは、正常に生まれて外見的には特に異常は認められない。しかし、衰弱を伴い早期に死亡する。また、TNF- α や抗Fas抗体に誘導されるアポトーシスに高感受性であり、臓器障害を受けやすい。さらに、腎臓の近位尿細管上皮細胞において、老化の指標である中性 β -ガラクトシダーゼ (SA- β -GAL)の増加およびリポフスチンの沈着が認められる。それゆえ、SMP30ノックアウトマウスは、老化促進モデルマウスといえる。言い換えると、SMP30は抗老化作用を持つ。最近の研究から、SMP30は、毒ガスで有名なサリンやソマンの構造類似体であるdiisopropyl phosphorofluoridate (DFP)を分解できることが明らかとなった。また、高等生物におけるグルコノラクトナーゼである可能性も示唆された。将来、加齢に伴うSMP30減少の抑制が、老化を遅らせるアンチエイジングの有力な手段になることが期待される。

キーワード：アンチエイジング、DFPase、グルコノラクトナーゼ、抗老化作用、リポフスチン、SA- β -GAL、老化促進モデルマウス、SMP30

1. はじめに

老化および老年病の発症は、多面的な現象である。このことは言い換えると、複数の内的あるいは外的因子が重要な要因となっていることを示している。従って、複数の要因の中から老化および老年病の発症に大きな影響を与える要因を同定することは、極めて重要である。

老化に関わる因子を明らかにすべく、プロテオーム解析により、加齢に伴い減少する蛋白質として、加齢指標蛋白質30 (Senescence Marker Protein-30/SMP30)を同定した¹⁾。ラットの肝臓や腎臓でのSMP30の発現量は、アンドロゲンなどのホルモンによる影響を受けず、雌雄ともに減少することから、老化度を表すバイオマーカーとして有用である。これまでの研究から、SMP30は、肝臓や腎臓の他にも、肺、精巣、大脳などほぼ全身の臓器に存在する。また、SMP30のアミノ酸配列は、ヒトを含む哺乳類で高度に保存されている。昆虫や酵母、細菌類などの下等生物でも、SMP30に相当する遺伝子が発見されており、SMP30は、生物にとって極めて重要であると考えられる。培養細胞を用いた研究から、SMP30は、細胞からのカルシウムの排出を促進し、高濃度の細胞内カルシウムにより誘導されるアポトーシスを抑制した²⁾。

2. SMP30ノックアウトマウスは老化促進モデルマウス

加齢に伴うSMP30減少の影響を調べるため、SMP30遺伝子を欠損したSMP30ノックアウトマウスを樹立した³⁾。SMP30ノックアウトマウスは、外見は野生型マウスと変わらないが、体重の増加率が低く、早期に死亡する。予想通り、SMP30ノックアウトマウスの肝臓は、野生型マウスに比べて、細胞からのカルシウムの排出が顕著に低下しており、TNF- α や抗Fas抗体に誘導されるアポトーシスに感受性が高かった。また、ノックアウトマウス肝細胞の電子顕微鏡写真では、ミトコンドリアの変性やリソゾームの増大などの細胞傷害が認められる。さらに、肝臓でリン脂質やトリアシルグリセロール、コレステロールが異常に蓄積していた³⁾。このように、加齢に伴うSMP30の減少は、細胞機能の低下や様々な障害に対する感受性増加の原因となり、臓器障害を誘導することから、老化の重要な因子といえる。

老化現象の特徴として、細胞におけるリポフスチンの沈着や中性域に至適pHを持つ β -ガラクトシダーゼ (SA- β -GAL)の増加が知られている。12ヶ月齢野生型マウスの腎臓において、リポフスチンは全く認められなかったのに対し、SMP30ノックアウトマウスでは近位尿細管上皮細胞にリポフスチンが顕著に沈着していた。近位尿細管上皮細胞は、生理的老化においてリポフスチンが沈着する場所であり、また、SMP30の存在が確認されている。従って、SMP30の欠損がリポフスチンの沈着を促進していると考えられる。次に、腎臓の組織切片を用いて、SA- β -GALに特異的な酵素活性染色を行った。野生型マウスでは、染色像は全く認められなかった

連絡先：〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2

Tel:03-3964-3241

Fax:03-3579-4776

E-mail:yk_style@hotmail.com

のに対して、ノックアウトマウスでは近位尿管上皮細胞に酵素活性が認められた。このように、SMP30ノックアウトマウスは、同齢の野生型マウスに比べて、促進した生理的老化現象を有しており、老化促進モデルマウスといえる。言い換えると、SMP30は抗老化作用を持つ。

3. SMP30の持つ酵素活性

SMP30の分子機能については、長らく不明であったが、手がかりとなる知見が報告された。1999年、Billeckeら⁶⁾は、マウス肝臓より、diisopropyl phosphorofluoridate(DFP)を分解できる酵素を精製した。DFPは、地下鉄サリン事件で有名なサリンやソマン、タブンなどの神経毒ガスと似た化学構造を持つ(図1)。精製されたDFPaseのペプチド断片のアミノ酸配列は、マウスSMP30のアミノ酸配列と同一であった。

そこで、SMP30が本当にDFPase活性を持つかを確認するため、ラット肝臓より、SMP30を精製した⁷⁾。肝可溶性画分の蛋白質量の0.05%のSMP30を得ることができた。精製の最後に、Sephacryl S-200 HRカラムより溶出したSMP30分画は、分子量約34,000の単一バンドとなった。後述するDFPase活性を指標とした肝可溶性分画からの精製倍率は、49倍であり、収量は2%であった。最後の精製に用いたSephacryl S-200 HRカラムからの溶出パターンにおいて、SMP30とDFPase活性のピークが完全に一致した。これは、SMP30が、確かにDFPase活性を持つことを示している。

精製したSMP30を用いて、Mg²⁺存在下でDFPase活性を測定した。SMP30は用量依存的に約1 μmol/分/蛋白質(mg)の酵素反応速度でDFPを分解した。Mg²⁺非存在下では、DFPase活性を検出できなかった。DFPase活性は、Mg²⁺濃度が増加するにつれて、活性が高くなり、1mM Mg²⁺において最も高い活性を示した。2価金属イオン要求性を検討した結果、精製SMP30は、Mg²⁺、Mn²⁺、Co²⁺、Cd²⁺で活性を示した。

肝臓中のSMP30が、確かにDFPを分解するかを明らかにするため、SMP30ノックアウトマウスと野生型マウスの肝臓におけるDFPase活性を比較した。その結果、野生型マウスでは、確かにDFPase活性が検出されたが、SMP30ノックアウトマウスでは、全く活性が検出されなかった。さらに、初代培養肝細胞を用いた実験から、SMP30ノックアウトマウス由来の肝細胞は、DFPによる細胞障害に非常に感受性が高いことが分かった(図2)。これらの結果は、SMP30が、肝臓で唯一の、そして重要なDFP分解酵素であることを示している。

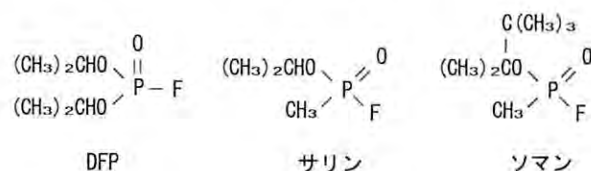


図1 DFP、サリン、ソマンの化学構造式

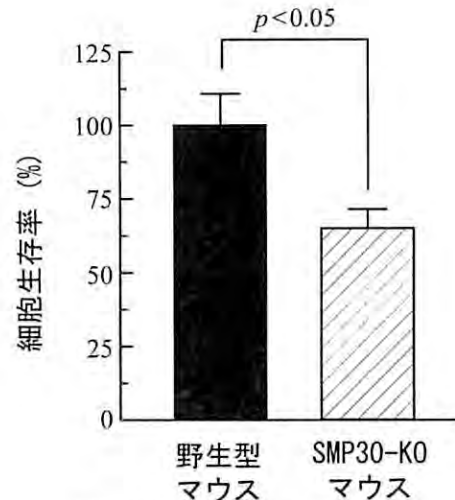


図2 DFPによる細胞傷害の比較

SMP30ノックアウトマウスと野生型マウス由来肝細胞を、0.01 mMのDFPを含む培地で培養した。野生型マウスの細胞生存率を100%とした。細胞生存率は、平均値±標準誤差として示した。

哺乳類のSMP30のアミノ酸配列は、ホタルのSMP30類似遺伝子であるルシフェリン再生酵素(LRE)と高い配列相同性を持つ⁸⁾。LREは、オキシルシフェリンを2-cyano-6-hydroxybenzothiazoleに変換し、ルシフェリンの再生産に寄与している。そこで、LREがDFPase活性を持つか、また、SMP30がLRE活性を持つかを調べた。その結果、LRE組換え蛋白質は、SMP30の約半分のDFPase活性を示した。しかし、SMP30にLRE活性は検出されなかった。従って、DFPase活性が、SMP30ファミリーにおける共通の酵素活性であり、LRE活性は、ホタルで独自に獲得した機能であるといえる。

4. パラオキシナーゼとの相同性

NCBIアミノ酸配列機能ドメイン検索から、ラットSMP30は、ラット血清中パラオキシナーゼ1と相同性のある領域を持つことがわかった。パラオキシナーゼファミリーは、パラオキシナーゼ1、パラオキシナーゼ2、パラオキシナーゼ3の3種類存在する。その機能は、低密度リポ蛋白質(LDL)中の酸化脂質や細菌性エンドトキソンの分解など、生体防御に関与している⁹⁾。また、パラオキシナーゼ1は、Ca²⁺存在下で、DFPを分解する¹⁰⁾。SMP30は、パラオキシナーゼの基質であるフェニルアセテートをCd²⁺存在下において分解したが、ジヒドロクマリン、 γ -ノナラクトン、6-ドデカノラクトンを分解せず、パラオキシナーゼファミリーとは基質特異性が異なる。それ故、SMP30は、パラオキシナーゼファミリーとは異なる酵素であると考えられる。

5. SMP30の生体内基質

抗老化作用を有するSMP30が、毒ガスサリンやDFPを分解することは、大変興味深い。しかし、サリンやDFPは第一次世界大戦後に出現した人工産物であることから、進化上SMP30がこれら化合物を分解するため

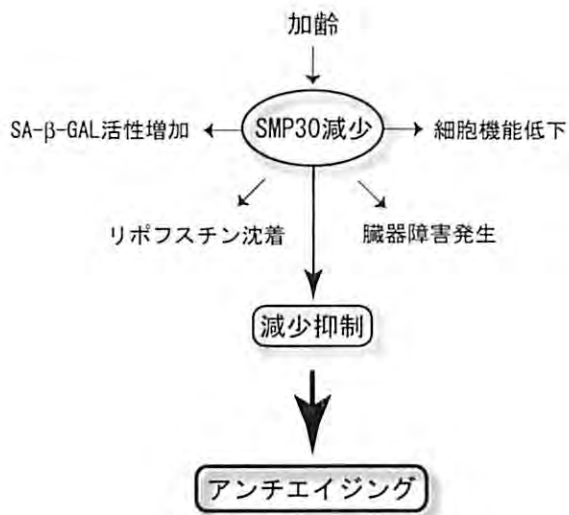


図3 SMP30から見た抗老化戦略

に用意されていたとは考えられない。生体内には別の基質が存在するはずである。

最近、SMP30のアミノ酸配列を相同性検索したところ、細菌類のグルコノラクトナーゼのアミノ酸配列と約40%の相同性があることが明らかになった。グルコノラクトナーゼは、グルコースが生体内で酵素的あるいは非酵素的に酸化されて生成するグルコノラクトンを分解する酵素である。高等生物におけるグルコノラクトナーゼ遺伝子は未同定であり、SMP30こそがグルコノラクトナーゼではないかと考えている。

6. おわりに

前述したように、SMP30ノックアウトマウスの解析から、加齢に伴うSMP30の減少は、様々な老化現象を引き起こすことが、明らかとなった(図3)。今後、SMP30の分子機能を明らかにすることで、老化現象発生の機序が解明できると考えている。また、何らかの方法で加齢に伴うSMP30の減少を抑えることが出来れば、老化を遅らせるアンチエイジングの有力な手段になると期待している。

引用文献

1. Fujita, T., Uchida, K. & Maruyama, N. Purification of senescence marker protein-30 (SMP30) and its androgen-independent decrease with age in the rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.* 1116, 122-128, 1992.
2. Fujita, T., Inoue, H., Kitamura, T., Sato, N., Shimosawa, T. & Maruyama, N. Senescence marker protein-30 (SMP30) rescues cell death by enhancing plasma membrane Ca^{2+} -pumping

activity in Hep G2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 250, 374-380, 1998.

3. Inoue, H., Fujita, T., Kitamura, T., Shimosawa, T., Nagasawa, R., Inoue, R., Maruyama, N. & Nagasawa, T. Senescence marker protein-30 (SMP30) enhances the calcium efflux from renal tubular epithelial cells. *Clin. Exp. Nephrol.* 3, 261-267, 1999.
4. Ishigami, A., Fujita, T., Handa, S., Shirasawa, T., Koseki, H., Kitamura, T., Enomoto, N., Sato, N., Shimosawa, T. & Maruyama, N. Senescence marker protein-30 knockout mouse liver is highly susceptible to tumor necrosis factor- α - and Fas-mediated apoptosis. *Am. J. Pathol.* 161, 1273-1281, 2002.
5. Ishigami, A., Kondo, Y., Nanba, R., Ohsawa, T., Handa, S., Kubo, S., Akita, M. & Maruyama, N. SMP30 deficiency in mice causes an accumulation of neutral lipids and phospholipids in the liver and shortens the life span. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 315, 575-580, 2004.
6. Billecke, S. S., Primo-Parmo, S. L., Dunlop, C. S., Doorn, J. A., La Du, B. N. & Broomfield, C. A. Characterization of a soluble mouse liver enzyme capable of hydrolyzing diisopropyl phosphorofluoridate. *Chem. Biol. Interact.* 119-120, 251-256, 1999.
7. Kondo, Y., Ishigami, A., Kubo, S., Handa, S., Gomi, K., Hirokawa, K., Kajiyama, N., Chiba, T., Shimokado, K. & Maruyama, N. Senescence marker protein-30 is a unique enzyme that hydrolyzes diisopropyl phosphorofluoridate in the liver. *FEBS. Lett.* 570, 57-62, 2004.
8. Gomi, K. & Kajiyama, N. Oxyluciferin, a luminescence product of firefly luciferase, is enzymatically regenerated into luciferin. *J. Biol. Chem.* 276, 36508-36513, 2001.
9. La Du, B. N., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R. C. & Staniford, T. J. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem. Biol. Interact.* 119-120, 379-388, 1999.
10. Josse, D., Xie, W., Renault, F., Rochu, D., Schopfer, L. M., Masson, P. & Lockridge, O. Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry.* 38, 2816-2825, 1999.

Anti-aging action of SMP30

Yoshitaka Kondo^{1) 2)}, Akihito Ishigami¹⁾, Kentaro Shimokado²⁾, and Naoki Maruyama¹⁾

¹⁾Department of Molecular Pathology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan

²⁾Geriatrics and Vascular Medicine, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan

Senescence Marker Protein-30 (SMP30) is an age-associated protein that decreases with aging in an androgen-independent manner. SMP30 is expressed in almost whole body except blood system. The alignment of SMP30's amino acid sequences revealed a highly conserved structure among vertebrate. To clarify the relationships between SMP30's decrease and age-associated organ disorders, we established SMP30 knockout mice. These knockout mice are viable and fertile but lower in body weight and shorter in life span than the wild-type. Throughout our experiments in vitro and in vivo, the livers of these knockout animals were far more susceptible to TNF- α and Fas-mediated apoptosis than those from the wild-type. Moreover, histological and biochemical analyses of livers from SMP30 knockout mice showed abnormal accumulations of neutral lipids and phospholipids and deposition of lipofuscin and the presence of senescence associated β -galactosidase in their proximal tubular epithelia. This abnormal lipid metabolism must increase the tissue's susceptibility. From analysis of molecular function of SMP30, SMP30 exclusively hydrolyzed diisopropyl phosphorofluoridate (DFP), which is an analog of poison gas such as sarin and soman. As DFP is an artificial compound, there must be an another physiological substrate in vivo. Recently, we found that the amino acid sequence of SMP30 show sequence homology with gluconolactonase from bacteria. Therefore, SMP30 might be a gluconolactonase itself in higher animals. Collectively, these results strongly suggested that SMP30 act as an anti-aging molecule and prevention of SMP30 decrease with aging bring the anti-aging actions.

Keywords: anti-aging, DFPase, gluconolactonase, lipofuscin, SA- β -GAL, SMP30

【研究報告】

アルツハイマー病脳におけるアポトーシスとアミロイドβ蛋白質

武田 和也

国立長寿医療センター研究所 血管性痴呆研究部

要約

アルツハイマー病 (AD) 脳ではカスパーゼの活性化などが見られており、その神経細胞死にはアポトーシスの関与が指摘されている。アミロイド前駆体蛋白質 (APP) はアポトーシス過程でカスパーゼにより切断され、その生成物はAD脳で検出されている。アミロイドβ蛋白質 (Aβ) はAD発症機構において重要な役割を果たすとされ、アポトーシスとAPPの代謝、Aβ生成との関わりを明らかにすることは重要である。我々はAPPのカスパーゼ切断によるAβ生成への影響について調べ、N末端の欠損したAβ5-40/42分子種の生成亢進とAD脳の病変部位への蓄積を明らかにした。このAβ5-40/42生成にはα-セクレターゼ様のプロテアーゼが関与していた。この分子種はNFTや血管アミロイドの形成に関与している可能性がある。この分子種についてのさらなる解析は、AD病理の知見に新たな視点を与えるものと思われる。

はじめに

老年性の痴呆疾患であるアルツハイマー病 (AD) の代表的な病理変化は、大脳皮質や海馬における老人斑 (SP) や神経原線維変化 (NFT) の出現と神経細胞脱落に伴う脳実質の萎縮である。NFTに比べてSPの形成はADおよび老化脳に特異的であり、この主要構成成分であるアミロイドβ蛋白質 (Aβ) の蓄積機構やその動態を明らかにすることは、AD発症機序の解明とその予防および治療法の開発ばかりではなく、中枢神経系の老化についての理解にも大きく貢献するものと考えられている。

これまでの多くの研究成果は、AβがAD発症において中心的役割を果たす重要な因子であることを支持しているが、SPの量と痴呆の程度が相関しないことなど、ADにおける神経細胞死あるいはシナプスの脱落にAβがどのように関与するのか、不明な点は未だ多い。最近ではトランスジェニックマウスなど、in vivoでの解析も進み、細胞内のAβや凝集の形態など、神経変性に関与するAβの構造や存在箇所についての新たな知見が多く報告されている。またAD脳での神経細胞死にはアポトーシスの関与が指摘されており[1,2]、Aβによるアポトーシス誘導の機構やアポトーシスのAD病理に及ぼす影響について検討されている。本稿では、アルツハイマー病脳におけるアポトーシスについて紹介し、細胞内外のAβについての最近の我々の研究成果について報告する。

AD脳において見られるアポトーシスとAPPのプロセッシング

AD脳においては、カスパーゼによる切断を受けたアクチンが検出される[3]など、カスパーゼの活性化[4-6]

やTUNEL陽性細胞[7,8]などが検出されており、その程度は不明だが、神経細胞死の一部にはアポトーシスが関与していると見られる。

Aβは約40アミノ酸からなるペプチド (Aβ1-40/42) であり、その前駆体蛋白質であるAPPよりプロテアーゼによるプロセッシングを経て生成する。通常、APPはAβ領域のN末端側で切断するβ-セクレターゼによって、あるいはAβ領域の中程で切断するα-セクレターゼによって切断され、APPのN末端断片 (sAPP) を細胞外に分泌する。細胞膜上に残ったAPPのC末端断片 (CTF) はさらに、γ-セクレターゼにより切断され、Aβあるいはより小さな断片、p3 (Aβ17-40/42) を生成し、分泌する。β-セクレターゼとしてBACE[9]、α-セクレターゼとしてはTACEやADAM10[10]が、γ-セクレターゼにはプレセニリン (PS) といくつかの蛋白質複合体[11]がその候補とされている。

Gervaisらは培養細胞を用いた実験で、血清除去下におけるアポトーシス過程においてAPPがカスパーゼにより切断され、そのC末端側31残基を失うことを示した[12]。また他のグループによっても、APPがカスパーゼの基質となり、この切断により生成する断片が実際にAD脳で検出されることが示されている[13-15]。

このカスパーゼによるAPPのプロセッシングのAD病理における意義については、生成したC31ペプチドが細胞毒性を持つこと[14]などが明らかにされており、この過程はADにおける神経細胞死のシグナルを促進する作用があるものと考えられる。一方、C31領域を失ったAPP (APPΔC31) のAβ生成への影響については、培養上清の検討において、その生成を上昇[12]あるいは減少[16]させるという報告がなされ、AD病理との関係については明らかではなかった。

APPΔC31のプロセッシング

我々は細胞内AβのADにおける意義について検討す

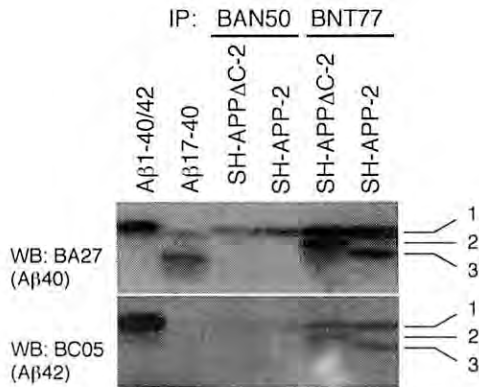
連絡先：〒474-8522 愛知県大府市森岡町源吾36-3

Tel:0562-46-2311

Fax:0562-45-0184

E-mail:ktakeda@nils.go.jp

A



B

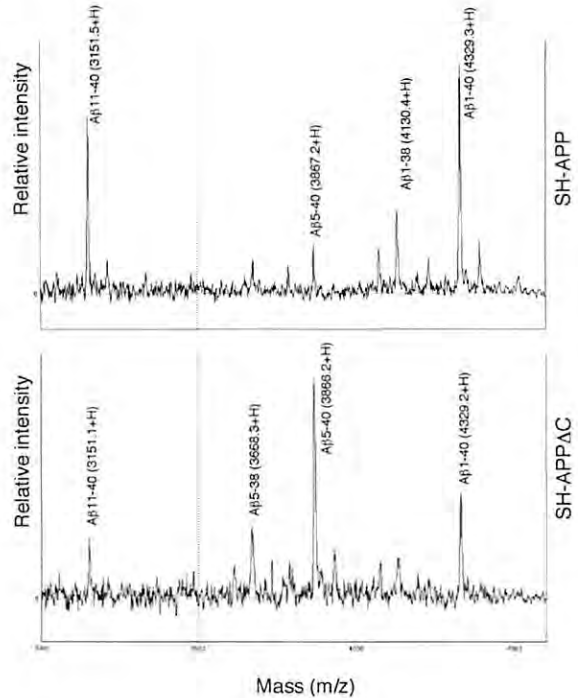


図 1 : APP Δ C31発現細胞におけるA β 5-40/42の生成亢進

培養上清中のA β を免疫沈降し、ウェスタンブロットで解析したところ、SH-APP Δ Cではバンド1および3が減少し、バンド2が上昇することが明らかになった(A)。免疫沈降物を質量分析法にて解析したところ、A β 1-40およびA β 11-40が減少し、A β 5-40の上昇が見られた(B)。

るため、これについての定量を試みており、APP変異やPS変異の細胞内A β に及ぼす影響について調べ、これらの変異が細胞内A β の量を上昇させることを明らかにしてきた[17]。最近細胞内A β の重要性が認められてきており、カスパーゼによるAPPの切断がA β に及ぼす影響について、細胞内も含めて詳細に検討することが、AD病理におけるアポトーシスの意義について明らかにする上でも重要と思われる。

そこでAPP695またはAPP695 Δ C31を安定的に発現するヒト神経芽細胞腫SH-SY5Yクローン(それぞれSH-APP, SH-APP Δ C)を作成し、APP Δ C31のプロセッシングについて検討した。これら細胞の培養上清中のA β について二種類のELISA法で測定した結果、SH-APP Δ CではN末端を欠いたA β の生成が亢進していることを示唆する結果を得た。

一方、APPのCTFについて免疫沈降法(IP)・ウェスタンブロット法(WB)で検討したところ、SH-APP Δ Cではバンドの減弱が見られたが、同細胞ではsAPP生成量が上昇していることから、これはCTFの生成量低下によるものではなく、その安定性によるものと思われる。CTFはプロテアソーム系での分解経路の存在が示されており[18]、 Δ Cの効果により速やかに分解を受けている可能性が考えられる。

さらにIP-WBによりSH-APP Δ CでA β 1-40/42とA β 11-40/42の減少を確認すると共に、その間に新たなバンドの生成を確認し、質量分析法(MS)を用いて、このバンドがA β 5-40/42であることを明らかにした(図1)。

加えてp3断片の生成亢進も確認した。このA β 5-40/42の Δ C31による生成亢進は、非ニューロン系の細胞であるHEK293においても見られた。

PSやAPP変異は、細胞内A β にも細胞外と同様の変化をもたらしている[17]。ところが、SH-APP Δ Cにおいては細胞内A β の主な分子種はSH-APPと同様にA β 1-40/42であり、A β 5-40/42の増加は確認できず、 Δ C31の効果は細胞内A β では見られなかった。この理由は不明だが、細胞内には一定のA β 1-40/42のプールが存在することを示しているかも知れない。

SH-APPに対する薬剤によるアポトーシス刺激はAPP695 Δ C31の生成を誘導し、SH-APP Δ C細胞と同

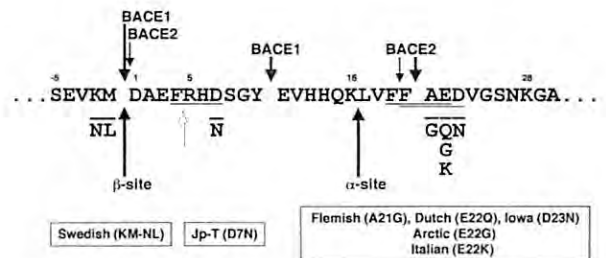


図 2 : A β の切断部位とAD変異

5位の切断部位は、FXXD/EというBACE2による切断部位(20, 21位)と似た配列を持つ。また両方の配列内にADあるいはAD様疾患の変異が見つかっており、A β 5-40/42の生成メカニズムの解明は、これらの発症機構について重要な情報を与える可能性がある。

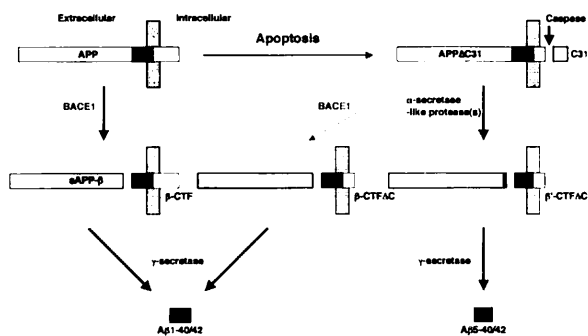


図3：アポトーシス下におけるAβ5-40/42生成メカニズム
APPのカスパーゼによる切断は、APPの再取り込み過程を阻害することにより細胞内分布の変化を引き起こし、α-セクレターゼ様のプロテアーゼによる5位での切断を促進する。

様のCTFΔCを生成したことから、全長APPを発現する細胞においてもアポトーシスによりAβ5-40/42生成が亢進するものと思われる。

AD脳におけるAβ5-40/42の蓄積

AD脳においてAβ5-40/42が実際に生成しているかどうか確認するために、Aβ5-xに対する抗体を作成し、これを用いてAD脳を検討したところ、比較的大きな血管壁アミロイドと強く交差した。またNFTとの交差も多数みられた。一方、SPについてはさらなる検討を要する結果であったが、この抗体の部位による染色性の違いは、AD病理におけるAβ1-40/42との役割の違いを示しているかも知れない。

これらAβ5-40/42のAD脳における病変部位での蓄積は、アポトーシスの存在を反映していると思われる、またカスパーゼ切断を受けたタウ蛋白質もNFT中に見いだされている[19]ことから、NFT形成過程にある細胞ではアポトーシスが進行中と考えられる。

Aβに富んだ環境がNFT形成を促進していることは、in vivoの実験でも示されており[20]、また一部の変異型Aβがアミロイドアンギオパチーを引き起こすことから、このAβ5-40/42がNFT形成や血管壁アミロイドの形成に何らかの役割を果たしている可能性がある。

Aβ5-40/42の生成メカニズム

Aβ5位近傍のアミノ酸配列には、BACE2による切断位置[21]を含む20位近傍の配列(FXXD/E)との共通性が存在する(図2)。また非常に興味深いことに、これまでに見いだされたAD変異が両方の配列内に存在する。このことから、5位の切断にBACE2が関与するかどうか検討した。しかしながらBACE2とAPPの共発現実験では、Aβx-34の生成が著しく上昇し、Aβ5-x生成への効果について検討できなかった。Shiらはこの34位の切断がBACE2によるものであり、さらにγ切断に依存していることを報告している[22]。そこでプロテアーゼ阻害剤を利用してAβ5-x生成について検討したところ、BACE阻害剤、OM99-2[23,24]はAβ1-40、Aβ11-40生

成を抑制したが、Aβ5-40生成を抑制しなかった。さらにα-セクレターゼ阻害剤、TAPI-1[25]を用いたところ、これはAβ5-40生成を抑制した。以上の結果から、Aβ5-x生成にはα-セクレターゼ様のプロテアーゼが関与することが明らかになった。α-セクレターゼとしては前述したように、TACEやADAM10など複数のプロテアーゼが候補とされている。これらのうち、どれがこの切断に関与するかは不明だが、ΔC31によるAPPのプロセシングの変化は、プロテアーゼ活性の変化やプロテアーゼに対するAPPの感受性の変化に起因するとは考えにくい。APPのC31領域には、再取り込みシグナル配列やリン酸化部位が存在することが明らかにされており[26,27]、これらのAβ5-40/42生成との関連を調べるため、アミノ酸置換で検討したところ、再取り込み過程の不全がAβ5-40/42生成に関与していることが明らかになった(未発表)。以上の結果から、アポトーシス過程でAPPがカスパーゼにより切断を受けC31領域を失うと、再取り込み過程の不全により細胞内分布が変わり、α-セクレターゼ様のプロテアーゼによるAβ5位の切断が亢進することが明らかになった[28](図3)。

変異導入による実験では、1位での切断を著しく上昇させるスウェーデン型変異(KM->NL)においてもΔC31の効果により、p3断片の生成を大きく上昇させた。しかしながらAβ5-40/42の生成上昇は伴わず、この変異は5位の切断を抑制するか、あるいは5位の切断は1位の切断とは選択的であることが示唆された。また7位のD->N変異(=Jp-T)[29]はAβ5-40生成を抑制し、この切断がD残基に依存していることを示した。その一方で、4位のF->Aや6位のH->R変異[30]はこれに影響しなかった。現在これらを含めたAD変異とAβ5-40/42および他の分子種生成への影響についてさらに検討を進めている。

おわりに

APPやPSのAD変異は、細胞外のみならず細胞内のAβ量や分子種の構成に変化を与えていた。しかしながらAPPΔC31は細胞外のAβには影響したが、細胞内では目立った変化が見られない。APPΔC31の生成がカスパーゼの活性化によること、またJp-T変異がAβ5-x生成抑制に働くことなどを考えあわせると、Aβ5-x自身はAD発症のトリガーではなく、下流でその後の病理の進行スピードや症状の重篤度に関連しているかも知れない。これを明らかにするため、APPトランスジェニックマウスを用いてAβ5-xの出現時期についての検討を行っている。またAβ5-xについて脳脊髄液や血清中での変化がADやその他の疾患で見られるかどうか検討し、ADや神経変性のマーカーとしての活用が可能かどうか検討したい。ADは神経変性疾患であることから、早期診断の重要性は昔から言われているが、近年、ワクチン療法など治療方法の開発が進んできており、有用なマーカーの開発は急務となっている。

引用文献

01. Cotman CW. Apoptosis decision cascades and

- neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 19 (1 Suppl): S29-32, 1998.
02. Roth KA. Caspases, apoptosis, and Alzheimer disease: causation, correlation, and confusion. *J Neuropathol Exp Neurol*. 60:829-838, 2001.
 03. Yang F, Sun X, Beech W, et al. Antibody to caspase-cleaved actin detects apoptosis in differentiated neuroblastoma and plaque-associated neurons and microglia in Alzheimer's disease. *Am J Pathol*. 152:379-89, 1998.
 04. Stadelmann C, Deckwerth TL, Srinivasan A, et al. Activation of caspase-3 in single neurons and autophagic granules of granulovacuolar degeneration in Alzheimer's disease. Evidence for apoptotic cell death. *Am. J. Pathol*. 155:1459-1466, 1999.
 05. LeBlanc A, Liu H, Goodyer C, et al. Caspase-6 role in apoptosis of human neurons, amyloidogenesis, and Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem*. 274:23426-23436, 1999.
 06. Rohn TT, Head E, Nesse, WH, et al. Activation of caspase-8 in the Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Dis*. 8:1006-1016, 2001.
 07. Su JH, Anderson AJ, Cummings BJ, et al. Immunohistochemical evidence for apoptosis in Alzheimer's disease. *Neuroreport*. 5:2529-33, 1994.
 08. Chui DH, Dobo E, Makifuchi T, et al. Apoptotic neurons in Alzheimer's disease frequently show intracellular Abeta42 labeling. *J. Alzheimers Dis*. 2:231-239, 2001.
 09. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, et al. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*. 286:735-41, 1999.
 10. Allinson TM, Parkin ET, Turner AJ, et al. AD-AMs family members as amyloid precursor protein alpha-secretases. *J Neurosci Res*. 74:342-52, 2003.
 11. De Strooper B, Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active gamma-Secretase complex. *Neuron*. 38:9-12, 2003.
 12. Gervais FG, Xu D, Robertson GS, et al. Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation. *Cell* 97:395-406, 1999.
 13. Weidemann A, Paliga K, Durrwang U, et al. Proteolytic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein within its cytoplasmic domain by caspase-like proteases. *J Biol Chem*. 274:5823-5829, 1999.
 14. Lu DC, Rabizadeh S, Chandra S, et al. A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid beta-protein precursor. *Nat. Med*. 6:397-404, 2000.
 15. Ayala-Grosso C, Ng G, Roy S, et al. Caspase-cleaved amyloid precursor protein in Alzheimer's disease. *Brain. Pathol*. 12:430-441, 2002.
 16. Soriano S, Lu DC, Chandra S, et al. The amyloidogenic pathway of amyloid precursor protein (APP) is independent of its cleavage by caspases. *J. Biol. Chem*. 276:29045-29050, 2001.
 17. Takeda K, Araki W, Tabira T. Enhanced generation of intracellular Abeta42 amyloid peptide by mutation of presenilins PS1 and PS2. *Eur. J. Neurosci*. 19:258-264, 2004.
 18. Nunan J, Shearman MS, Checler F, et al. The C-terminal fragment of the Alzheimer's disease amyloid protein precursor is degraded by a proteasome-dependent mechanism distinct from gamma-secretase. *Eur J Biochem*. 268:5329-36, 2001.
 19. Gamblin TC, Chen F, Zambrano A, et al. Caspase cleavage of tau: linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:10032-10037, 2003.
 20. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*. 293:1487-91, 2001.
 21. Farzan M, Schnitzler CE, Vasilieva N, et al. BACE2, a beta-secretase homolog, cleaves at the beta site and within the amyloid-beta region of the amyloid-beta precursor protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:9712-9717, 2000.
 22. Shi XP, Tugusheva K, Bruce JE, et al. Beta-secretase cleavage at amino acid residue 34 in the amyloid beta peptide is dependent upon gamma-secretase activity. *J Biol Chem*. 278:21286-94, 2003.
 23. Hong L, Koelsch G, Lin X, et al. Structure of the protease domain of memapsin 2 (beta-secretase) complexed with inhibitor. *Science*. 290:150-3, 2000.
 24. Gruninger-Leitch F, Schlatter D, Kung E, et al. Substrate and inhibitor profile of BACE (beta-secretase) and comparison with other mammalian aspartic proteases. *J. Biol. Chem*. 277:4687-4693, 2002.
 25. Slack BE, Ma LK, Seah CC. Constitutive shedding of the amyloid precursor protein ectodomain is up-regulated by tumour necrosis factor-

- alpha converting enzyme. *Biochem. J.* 357:787-794, 2001.
26. Perez RG, Soriano S, Hayes JD, et al. Mutagenesis identifies new signals for beta-amyloid precursor protein endocytosis, turnover, and the generation of secreted fragments, including Abeta42. *J Biol Chem.* 274:18851-6, 1999.
 27. Lee MS, Kao SC, Lemere CA, et al. APP processing is regulated by cytoplasmic phosphorylation. *J Cell Biol.* 163:83-95, 2003.
 28. Takeda K, Araki W, Akiyama H, et al. Amino-truncated amyloid beta-peptide (Abeta5-40/42) produced from caspase-cleaved amyloid precursor protein is deposited in Alzheimer's disease brain. *FASEB J.* 2004 Sep 13
 29. Wakutani Y, Watanabe K, Adachi Y, et al. Novel amyloid precursor protein gene missense mutation (D678N) in probable familial Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 75:1039-42, 2004.
 30. Janssen JC, Beck JA, Campbell TA, et al. Early onset familial Alzheimer's disease: Mutation frequency in 31 families. *Neurology.* 60:235-9, 2003.

Apoptosis and Amyloid beta-protein in Alzheimer's disease brain

Kazuya Takeda

Department of Vascular Dementia Research, National Institute for Longevity Sciences, NCGG

It has been suggested that apoptosis is involved in neuronal death in Alzheimer's disease (AD) brain since activated caspases were detected in patient's brain tissues. Previous study showed amyloid precursor protein (APP) is cleaved by caspase in cells undergo apoptosis and its products are detected in AD brain. Because amyloid beta-protein (Abeta) seems to play an important role in AD pathology, it is required to clarify the effects of apoptosis on APP metabolism and Abeta generation.

To elucidate the effect of caspase-mediated cleavage of APP on Abeta production, we established neuroblastoma cell lines expressing caspase-cleaved form of APP and demonstrated that these cell lines secreted increased level of N-terminally truncated Abeta (Abeta5-40/42) species in conditioned media. Our experiments using protease inhibitors demonstrated that alpha-secretase-like protease(s) are implicated in the mechanism of Abeta5-40/42 generation. Moreover, we also showed that these molecules deposited in vascular lesions and neurofibrillary tangles (NFTs) in AD brain.

Abeta5-40/42 may be involved in NFT and vascular amyloid angiopathy formation. Further research about these Abeta species will provide new insights into mechanisms of AD pathology.

Keywords: Alzheimer's Disease, Amyloid β -protein, Apoptosis, Caspase

【随 筆】

基礎老化研究あれこれ(2)
あなたは何歳まで生きられる？

白澤 卓二

財) 東京都老人総合研究所・分子老化研究グループ

毎年、厚生労働省から平均寿命が新聞紙上に発表される。2002年の日本人の平均寿命は男性78.32歳、女性は85.23歳。しかし、毎年発表される平均寿命は0歳児の平均余命をその年の死亡率から計算した数値。70歳や80歳の高齢者の平均余命を語る時には、そのまま適応するわけには行かない。ちなみに80歳の日本人女性の平均余命は10年と別途計算されることになる。この計算の推測では80歳の高齢者は平均90歳程度まで生きることになる。もし、日本人女性の平均寿命85歳から現在の自分の年齢80歳を単純に引き算して、5歳の平均余命と算定すると、実際の平均余命から5年も損をした計算になるので要注意だ。しかし、もし仮により正確に自分の年齢における平均余命が計算されても、それはあくまでも平均的な予測値を統計資料を使って計算したに過ぎない。

自分の同級生の例を考えてみればよく理解できると思う。既に不幸にもガンで亡くなった同級生もいれば、クラス会でも昔と変わらず若々しく、いつまでも長生きしそうな同級生までそれぞれ個人個人の老いの程度は様々だ。つまり個人のレベルをみると、老化の程度のばらつきは年を取れば取るほど大きくなる。集団統計から自分自身のこれからの余生を推測すると不確実にならざるを得ない。現時点での自分の身の回りに存在している健康データをもとに自分の将来の余命を予測できた方が、遙かに理にかなっていることは誰の目にも明白だ。

これらの自分の身の回りの健康情報で最も役に立ちそうなのが両親の寿命に関する情報になる。母親と父親は今でも元気に生活しているか？両親のうちどちらかまたは片方の親が既に亡くなったとすれば、何歳の時に、どのような病気で亡くなったのだろうか？この様な家族および個人の健康情報が個人に取っては最も重要であると思われる。寿命の決定機構に関しては多くの場合、遺伝的要因が支配的に作用すると考えられるためである。

そこで、あなたの寿命を簡単な質問票から計算する方法を紹介する。これらの質問票は、ちょっと見落としがちな長寿要因を簡単な質問でとらえているので大変参考になる。

まず、76歳からスタートして、項目別に点数を加算するだけであなたの寿命が簡単に計算できる。

1. あなたが30歳から50歳の間なら+2歳、51歳以上70歳未満なら+4歳
2. あなたが男性なら-3歳、女性なら+4歳
3. あなたが200万人以上の都会に住んでいるなら-2歳、人口1万人以下の町にすんでいるなら+2歳

4. あなたの祖父、祖母のうち一人でも85歳以上なら+2歳
あなたの祖父、祖母が4人共に80歳以上だったら+2歳
4. あなたの両親のどちらかが、50歳より若くして心臓病か脳卒中で亡くなった家族歴があれば-4歳
5. あなたの兄弟、姉妹、または両親のうち50歳未満の家族で子供の頃から心臓病、ガン、或いは糖尿病を患っている家族がいる場合は-3歳
6. あなたが年収が5万ドル以上ある場合には-2歳
7. あなたが大学を卒業している場合+1歳、学位を取得している場合+2歳
8. あなたが65歳以上でまだ働いていたら+3歳
9. あなたが伴侶または友人と同居している場合は+5歳
10. あなたが独居していたら-3歳、独居生活10年毎に更に-3歳
11. あなたがデスク仕事をしていたら-3歳、体を動かす仕事をしていたら+3歳
12. あなたが1回30分程度の運動を週5回していたら+4歳、週に2-3回だったら+2歳
13. あなたが一日に10時間以上寝ていたら-4歳
14. あなたがあくせくしない性格なら+3歳、神経質なら-3歳、幸福なら+1歳、不幸なら-2歳
15. あなたが前年にスピード違反でつかまっていれば-1歳
16. あなたが毎日1オンスのお酒を飲んでいれば-1歳
17. あなたがタバコを2箱吸っていれば-8歳、1箱以上2箱未満なら-6歳、1箱以下なら-3歳
18. あなたの体重が50ポンド太りすぎなら-8歳、30-49ポンド太りすぎなら-4歳、10-29ポンド太りすぎなら-2歳
19. (男性のみの質問) 40歳以上の男性で毎年、健康診断を受けていれば+2歳
19. (女性のみの質問) 40歳以上の女性で毎年、婦人科健診を受けていれば+2歳

私が計算すると、フィットネスで得たプラスポイントは都会暮らしというマイナスポイントで相殺されて加算ゼロで76歳になった。健康的な生活習慣はどうやら、都会でデスクワーク中心の仕事をしているために打ち消されてしまっているようだ。それでももし、運動もしないで、食事にも気にせず、都会の生活に埋もれてしまったら、マイナスポイントで余命は減るばかりだ。せめてあくせくしない性格だったら、もう少しプラスポイントを稼げたに違いない。質問票はインターネットに公開されているので、一度試されることをお勧めしたい。

(www.gfcwow.com/download.htm)。

【お知らせ】

国際スポーツ医科学ネットワークフォーラム長野2004

—健康長寿社会のための運動処方システムの構築—

International Sports Science Network Forum in Nagano 2004:
For Promotion of Health and Welfare in the Aging Society

●主催：信州大学

●共催：NPO 法人 熟年体育大学リサーチセンター (JTRC)

●開催期間：

2004年11月10日（水）、11日（木）、12日（金）

●開催地：

〒390-0814 長野県松本市本庄1-2-1

ホテル ブエナビスタ (TEL 0263-37-0111/ FAX 0263-37-0666)

<http://www.buenavista.co.jp/>

●会議の目的と特徴：

体育系と医学系の若手研究者を中心とした全く新しいタイプの国際フォーラム。過去3回開催されたSports Science Network Forum in Nagano 1999, 2000, 2001に続いて4回目。「健康長寿社会構築のためにスポーツ医科学者は何をすべきか」、米国から著名な研究者を招待し、活発な討議を行う。

●日程および講演者：(演題は仮)

「フォーラム」

11月10日（水）

18:30 - 20:30 レセプション

11月11日（木）

7:30 - 8:20 生物時計と運動 本間研一 北海道大学

8:30 - 9:20 運動、代謝、免疫 B.Pedersen CMRC

9:30 - 9:55 運動筋の酸素利用の不均一性 水野正樹 早稲田大学

9:55 - 10:20 酸化ストレスと骨格筋糖代謝 檜垣靖樹 佐賀大学

10:30 - 11:20 筋血流と運動 M.Joyner Mayo Clinic

12:30 - 12:55 運動とエンドセリン・NO 前田清司 筑波大学

12:55 - 13:20 α ドレナリン性筋血管収縮能と圧反射感度 増木静江
Mayo Clinic

13:30 - 14:20 血液希釈と筋血流調節 Niki Dietz Mayo Clinic

18:30 - 20:30 懇親会

11月12日（金）

7:30 - 8:20 体力と循環適応：生理と病態 R.Terjung Missouri Univ.

8:30 - 8:55 運動、睡眠時の圧反射特性の急性変化 吉本光佐 奈良女子大学

8:55 - 9:20 センtralコマンドと動脈血圧反射の干渉 小峰秀彦
産業技術総合研究所

9:30 - 10:20 熱ストレスと神経性循環調節 C.Crandall UTSMC (Dallas)

10:30 - 10:55 発汗と皮膚血流の非温熱性調節 芝崎 学 奈良女子大学

10:55 - 11:20 暑熱下運動時血圧調節と血漿浸透圧 上條義一郎 信州大学

12:30 - 13:20 非運動性エネルギー消費 J.Levine Mayo Clinic

13:30 - 14:40 ローイング運動と健康増進効果 樋口 満 早稲田大学

14:30 - 15:20 高齢者死亡の潜在的危険因子 I.Schatz Hawaii Univ .

信州大学大学院医学研究科加齢適応医科学系独立専攻
第1回公開シンポジウム
未来の健康社会を築く生命科学（分子と環境のクロストーク）

●主催：信州大学

●共催：NPO 法人 熟年体育大学リサーチセンター (JTRC)

●開催期間：2004 年11月13日（土）9:20-12:00

●開催地：〒390 - 03 長野県松本市水汲69 - 2
長野県松本文化会館中ホール（TEL 0263 - 34 - 7100）

●シンポジウムの概要：

生命の本質の一つである環境への適応能力を遺伝子レベルから個体、社会レベルまで総合的に解析し、高齢者の疾病予防、健康づくりを目指す新たな学問領域を開拓する目的で信州大学医学研究科加齢適応医科学系独立選考は平成15年度に発足した。最近の研究の進捗について平易に解説する。

●プログラム：

9:30 - 9:55 がんの分子細胞生物学的解析とその臨床応用 谷口俊一郎
9:55 - 10:20 シナプス分子と精神神経疾患 鈴木龍雄
10:20 - 10:45 老化・遺伝子・環境；動物モデルからのメッセージ 樋口京一
10:45 - 11:10 加齢・性差とアルコール障害 青山俊文
11:10 - 11:35 蛋白質サプリメントが高齢者の運動トレーニング効果に及ぼす影響 能勢博
11:35 - 12:00 インスリン分泌機構；Fuelセンサーとしての膵β細胞 駒津光久

「JTRC 市民公開講座」

予防医療と健康スポーツ：イキイキ輝く熟年が地域の未来を変える！

13:10 - 14:00 生体エネルギー論とイキイキ熟年 馬詰良樹 東京慈恵医大
14:00 - 14:50 予防医療とスポーツ医学の将来 下光輝一 東京医科大
15:00 - 15:30 e-ヘルスプロモーションの現状と将来 花岡正明
キッセイコムテック
15:30 - 16:00 健康サービス産業の未来像 源野広和 三洋電機
16:00 - 16:30 最近のスポーツ栄養製品と社会ニーズ 土居達也 大塚製薬

すべて参加費無料

連絡先・フォーラム・市民公開講座

松本市旭3-1-1 信州大学大学院医学研究科 スポーツ医学分野 岡村亜希子
TEL 0263 - 37 - 2682/ FAX 0263 - 34 - 6721/ i-sports@sch.md.shinshu-u.ac.jp

シンポジウム

松本市旭3-1-1 信州大学大学院医学研究科 加齢生物学分野 樋口京一
TEL 0263 - 37 - 2693/ FAX 0263 - 37 - 3428/ khiguchi@sch.md.shinshu-u.ac.jp

三浦家の長寿の秘密を探る－介護予防にむけて－

厚生労働科学研究推進事業費：研究事業による発表会

日時 平成16年11月8日（月） 13時～16時30分

場所 文京区シビックセンター大ホール（1800人）（文京区春日1-16-21）
東京メトロ丸の内線・南北線後楽園駅 都営地下鉄三田線・大江戸線 春日駅 徒歩1分
JR総武線水道橋駅徒歩8分

入場無料・申込不要・先着順

プログラム

三浦家の長寿遺伝子は？

東京都老人総合研究所 分子老化研究グループグループリーダー 白澤卓二

百歳の筋トレ、介護予防の筋トレ

東京都老人総合研究所 協力研究員 三浦豪太、
東京都老人総合研究所 介護予防緊急対策室 室長大淵修一

基調講演「高く遠い夢」・エベレスト登頂ビデオ

三浦 雄一郎氏

パネルディスカッション 「三浦家の長寿の秘密」

総合司会 NHK解説員 谷田部雅嗣

来場者には、健康づくりに役立つ冊子をさし上げます。

○手話通訳を同時に行います。

主催 財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所

共催 財団法人長寿科学振興財団、東京都、文京区

協賛 明治乳業株式会社

地図 <http://www.city.bunkyo.tokyo.jp/shisetsu/civic/index.html>

お問い合わせ

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団

東京都老人総合研究所

広報・普及担当

電話 03-3964-3241 内線3008

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4号

平成16年(2004)10月20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