

BIOMEDICAL GERONTOLOGY

基礎老化研究

日本基礎老化学会第29回大会

プログラム・発表抄録・サテライトシンポジウム案内

- 総説 ■ 解糖系代謝亢進による細胞老化抑止効果；ワーバーグ効果の知られざる側面
近藤祥司
- 随筆 ● 基礎老化研究あれこれ (7)
アンチエイジングフレンチメニューの創作に挑戦 白澤卓二
- 老化研究施設紹介 ● 東京都老人総合研究所 丸山直記
- 書評 ● 三井洋司著「不老不死のサイエンス」 田中雅嗣
- 附 ● 基礎老化学会サーキュラー 第70号



- 編集委員会委員長： 樋口京一 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
〒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 老化ゲノムバイオマーカー研究チーム
〒173-0015 板橋区栄町35-2
- 編集委員会委員： 磯部健一 名古屋大学医学部大学院医学系研究科分子総合医学専攻 微生物・免疫学講座
〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65
- 三井洋司 徳島文理大学 香川薬学部
〒769-2193 香川県さぬき市志度1314-1
- 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 老化ゲノムバイオマーカー研究チーム
〒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
- 中島光業 東京都老人総合研究所 老化ゲノムバイオマーカー研究チーム
〒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 Biology, Institute on Aging and Adaptation, Shinshu University Graduate School of Medicine, 3-1-1 Asahi, Matsumoto, 390-8621, JAPAN
- Managing Editor: Takuji Shirasawa, Molecular Gerontology Research Team, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN
- Editors: Ken-ichi Isobe, Program In Integrated Molecular Medicine, Graduate School of Medicine, The Nagoya University Faculty of Medicine, 65 Tsurumai-cho, showa-ku, Nagoya, Aichi, 466-8550, JAPAN
- Youji Mitsui, Faculty of Pharmaceutical Sciences at Kagawa Campus Tokushima Bunri University, 1314-1 Shido, Sanuki city, Kagawa 769-2193, JAPAN
- Isao Shimokawa, Department of Pathology & Gerontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki City 305-8566, JAPAN
- Toshifusa Toda, Proteome Research Unit, 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
- Mitsunari Nakajima, Biosignal Research, 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

第一部：日本基礎老化学会第29回大会

| | |
|---------------|-------|
| 大会案内及びプログラム | 2-18 |
| 発表抄録 | 20-44 |
| サテライトシンポジウム案内 | 45-48 |

第二部：総説

解糖系代謝亢進による細胞老化抑止効果；ワーバーグ効果の知られざる側面

| | |
|-------|-------|
| 近藤 祥司 | 51-56 |
|-------|-------|

随筆：基礎老化研究あれこれ（7）アンチエイジングフレンチメニューの創作に挑戦

| | |
|-------|-------|
| 白澤 卓二 | 57-58 |
|-------|-------|

老化研究施設紹介：東京都老人総合研究所

| | |
|-------|----|
| 丸山 直記 | 59 |
|-------|----|

書評：三井洋司著「不老不死のサイエンス」

| | |
|-------|----|
| 田中 雅嗣 | 61 |
|-------|----|

附：会員異動

CONTENTS

Part1

The annual Meeting of the Japan Society for Biomedical Gerontology

| | |
|-------------|-------|
| <PROGRAM> | 2-18 |
| <ABSTRACTS> | 20-44 |

Part2

<REVIEW>Enhanced glycolysis extends cellular life span.

| | |
|----------------|-------|
| Hiroshi Kondoh | 51-56 |
|----------------|-------|

表紙：長崎市俯瞰図

第 一 部

第29回 日本基礎老化学会 大会
AACL長崎シンポジウム

**The 29th Annual Meeting of
The Japan Society for Biomedical Gerontology**

June 15 ~ June 16 , 2006

Nagasaki University School of Medicine

AACL-Nagasaki Symposium

ASIAN AGING 2006

June 17, 2006

Ioujima Isld.,Nagasaki

第29回 日本基礎老化学会 大会

大会会長 下川 功 (長崎大学・医学部)
事務局長 樋上賀一 (長崎大学・医学部)
プログラム委員 千葉卓哉 (長崎大学・医学部)

会期：2006年6月15日(木)、16日(金)

学術集会：一般演題、シンポジウム1日目、2日目、パネルディスカッション1日目

理事会：1日目(15日) 12:30~13:30 (基礎研究棟 2F 小会議室)

評議員会：2日目(16日) 12:30~13:15 (ポンペ会館 1F)

総会：2日目(16日) 13:20~14:00 (ポンペ会館 1F)

懇親会：1日目(15日) 18:30~20:30 (旧香港上海銀行長崎支店記念館：重要文化財)

会場：長崎大学医学部ポンペ会館(口演会場)、記念講堂(ポスター会場)

大会事務局 〒852-8523 長崎市坂本1-12-4
長崎大学医学部病理学第一教室内
第29回日本基礎老化学会大会事務局
Tel: 095-849-7050 Fax: 095-849-7052
E-mail: moriko@net2.nagasaki-u.ac.jp

大会ホームページ <http://www.tmig.or.jp/jsbg/29annai.htm>

日本基礎老化学会

会 長 後藤佐多良 (東邦大学 薬学部)

学会事務局 東京都老人総合研究所内
日本基礎老化学会事務局 庶務幹事 新海 正
〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2
E-mail: jsbg@tmig.or.jp FAX: 03-3579-4776

ホームページ <http://www.tmig.or.jp/jsbg>

交通案内

<http://www.nagasaki-u.ac.jp/guidance/access.html> (坂本地区キャンパス 1 参照)

博多駅から (所要時間 約 135 分)

博多 <JR 長崎本線・特急かもめ・約 120 分> 浦上駅 <徒歩 15 分・タクシー 5 分> 医学部

長崎空港から (所要時間 約 65 分) 直接会場に来られる場合は浦上経由が、長崎駅に向かわれる場合は出島経由が便利です。詳しくはホームページをご覧ください。<http://www.keneibus.jp/airport.asp>

長崎空港 <浦上経由バス・約 50 分> 松山町または浦上駅前バス停 <徒歩 15 分> 医学部

長崎空港 <出島経由バス・約 45 分> 長崎駅 <路面電車 10 分+徒歩 10 分> 医学部

①浦上経由長崎方面行きバス (4 番乗り場: 往復 1,200 円) にご乗車の方は、松山町または浦上駅前で降車し、徒歩 (15 分) またはタクシー (5 分) をご利用下さい。

②出島経由長崎方面行きバス (5 番乗り場: 往復 1,200 円) にご乗車の方は、長崎駅前で降車して下さい。

長崎駅前からはタクシー (10 分) または赤迫行き路面電車 (浜口町電停で降車し徒歩 10 分) をご利用下さい。

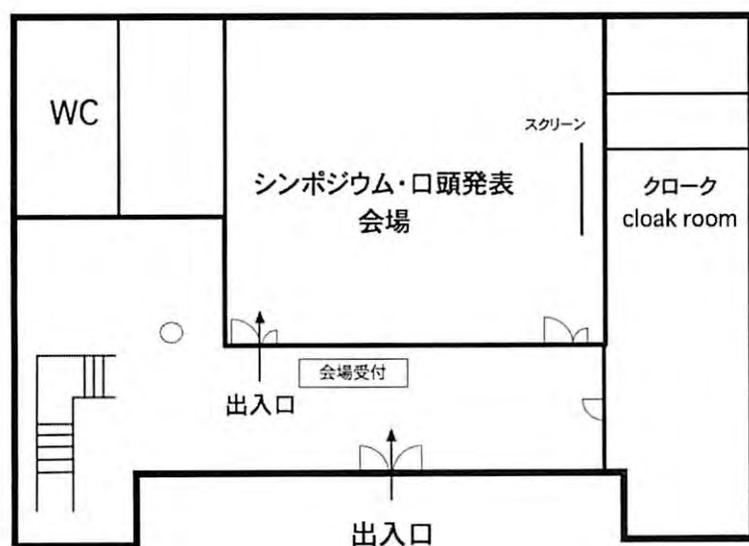


会場案内

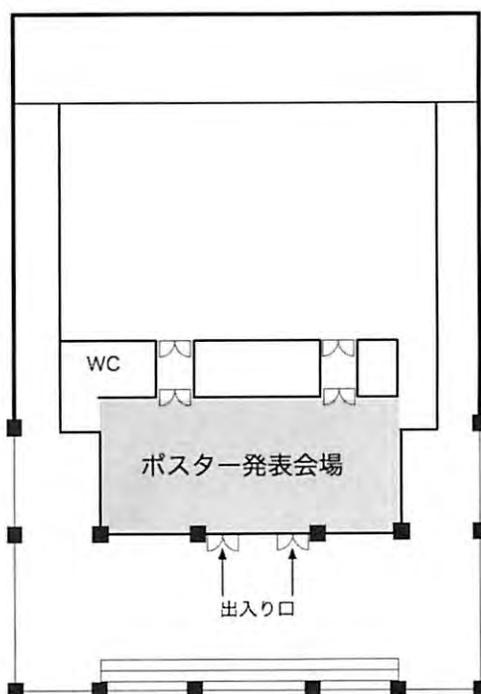


1. 記念同窓会館
2. 記念講堂
3. 附属図書館医学分館
4. ポンペ会館
5. 基礎研究棟
6. 原爆後障害医療研究施設
7. ヒューマンカウンター室
8. 講義実習棟
9. 大学生協・食堂
10. 講義・実習室
11. アイソトープ総合センター
12. 動物実験施設
13. 原爆後障害医療研究施設2号館
14. 体育館
15. 熱帯医学研究所
16. 感染動物実験施設
17. 遺伝子実験施設

4. ポンペ会館



2. 記念講堂



第29回日本基礎老化学会の開催に際して

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)

わが国における西洋式医学教育は、安政4年(1857年)11月12日、長崎奉行所西役所(現在の長崎県庁所在地)においてオランダ海軍軍医ポンペ・ファン・メーデルフォルトによって開始されました。この日を以って、長崎大学医学部の開学とされ、来年には開学150年を迎える長崎大学医学部において、日本基礎老化学会大会を開催する機会をいただいたことを大変光栄に思います。

「老化とは何か」というような概念的なことを考えている間に、アンチエイジングに代表される研究や産業の波が怒濤のように押し寄せてきました。実験的に定義できないことに対して、議論をすることは困難なようにも思え、私自身は、とにかく動物の寿命を延ばし、その要因を解析することが、結果的には老化を理解することにつながると信じて研究を行ってまいりました。このスタンスは、最近のアンチエイジング研究と類似したところがあるのかもしれませんが。この大会では、“基礎老化研究の未来”と題してパネルディスカッションを企画しました。パネリストには、基礎老化研究では学会、研究所、研究グループを代表する先生方にご参加いただき、若い研究者に基礎老化研究の方向性を明らかにし、アンチエイジングの流れの中で基礎老化研究の定点を示していただくつもりです。

従来、老化や寿命に積極的な制御機構があるとは思われませんでした。しかしながら、線虫のAge-1に始まる単一遺伝子の変異や遺伝学的操作が無脊椎動物の寿命を延長すること、哺乳類においても相同遺伝子に類似した変化を持つ個体が長寿命となることから、動物には進化生物学的に保存された老化や寿命を制御する機構が存在すると考えられるようになってきました。このことは、老化研究も他の領域と同じように分子レベルの研究へと進展したことを示しています。哺乳類におけるFOXO転写因子、Sir2に関連するシグナル伝達系は、老化制御機構に関連する、最も研究が進んでいる領域です。シンポジウムIでは、この領域の最近の知見について、国内外の一線の研究者に発表していただきます。

我々はカロリー制限による抗老化、寿命延長機構を中心に研究を行ってきました。国内では、カロリー制限に関する研究は数少ないですが、長崎での学会の開催に際し、大げさに言えば、我々の存在を示すために、シンポジウムIIを企画しました。米国、韓国から研究者を迎え、遺伝子発現、神経内分泌、Redox制御という観点から、カロリー制限に関する最近の研究結果を報告していただきます。また、klothoの過剰発現によってマウスの寿命が延長するという画期的なご研究についても、カロリー制限の抗老化メカニズムを考える上でこのシンポジウムの中でお話いただきます。

一般演題も50を越える応募があり、皆様には大変感謝申し上げます。6月17日には、当大学医学部の森望教授を中心として東アジアの老化研究について討論するサテライトシンポジウムも企画されています。近代医学の発祥の地、異国情緒あふれる長崎において、リラックスした雰囲気の中で、最新の知見と活発な討論を期待しています。

参加者・発表者の方へ

参加費：

参加費は一般会員8000円、学生は5000円、非会員は12000円です。学生の方は学生証または指導教官による証明書（任意形式）を提示下さい。また懇親会参加費は一般・学生とも2000円です。

受付：

6月15日（木）8：30よりポンペ会館にて受付を開始します。

「会員」、「学生」、「非会員」、「招待演者」それぞれのセクションで受付をしてください。受付時に「大会参加章」をお渡しします。所属・氏名をご記入の上、会場内では必ず吊り下げホルダーに入れ胸におつけ下さい。

懇親会の受付もこちらで行います。

発表機材：

パネルディスカッション、シンポジウム、一般演題の口演はすべてポンペ会館・口演会場でPCプレゼンテーションのみで行います（スライド、OHPは使用できません）。

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

（注）Mac PowerPoint で作成しましたファイルは Windows に変換してきてください。誤操作の可能性もありますのでよろしくお願いいたします。

一般演題口頭発表：

PowerPoint で作成したスライドを使用し、口頭発表してください。発表者の持ち時間は発表7分、ディスカッション3分です。時間厳守でお願いいたします。

ポスター発表：

ポスター発表は医学部記念講堂・ポスター会場にて行います。15日8：30から掲示可能です。2日間張替えなしで行います。各ボードの掲示サイズは題名部分が幅70cm 縦20cm、本文は幅90cm、縦170cmです。掲示用のピン、テープ類は会場に用意します。発表は座長なしで90分間のフリートークとします。発表時間は奇数番号演題が1日目11：30より、偶数番号演題は2日目11時より行います。すべてのポスターは2日目12：30まで掲示して頂き、2日目の16：30までにポスターを撤去して下さい。撤去されない場合は学会事務局にて処分致しますのでご了承下さい。

懇親会：

6月15日（木）18：30から国指定重要文化財、旧香港上海銀行長崎支店記念館で開催致します。プロの音楽家による二胡の演奏もごございますので、なるべくお誘い合わせの上、奮ってご参加下さい。会費は2000円です。当日大会受付にてお支払い下さい。

評議員会 および 総会

評議員会は2日目の12：30から口演会場にて開催いたします。

総会は2日目の13：20から口演会場にて開催いたします。

若手奨励賞

エントリーされたすべての発表の中から若手奨励賞を若干名選抜し、大会会長から授与します。40歳以下の発表者で事前にエントリーされた方を対象者とし、理事および大会会長が審査に当たります。エントリー演題はポスター会場の演題番号に赤丸印、プログラム中では演題番号に下線があります。口頭発表される方も若手奨励賞にエントリーされた方はポスター発表もあわせて行って頂きます。

プログラム概要

第1日目 6月15日(木)

- 9:00~ 9:05 開会の挨拶(大会会長:下川 功)
- 9:05~11:30 口頭発表 I
免疫・酸化ストレス I (座長:西村泰光)
免疫・酸化ストレス II (座長:森 政之)
細胞老化・テロメア (座長:本田陽子)
代謝・カロリー制限 (座長:千葉卓哉)
- 11:30~13:00 ポスター発表 I <奇数番号演題・質疑応答>
- 12:30~13:30 理事会・昼食
- 13:45~15:45 シンポジウム I:ほ乳類におけるフォークヘッド型転写因子と
SIR2 ホモログに関する最近の話題 (座長:樋上賀一)
- 16:00~17:30 パネルディスカッション:基礎老化研究の未来
(司会進行:石井直明、樋口京一)
- 18:30~20:30 懇親会

第2日目 6月16日(金)

- 9:00~11:00 口頭発表 II
脳・神経 (座長:島田厚良)
寿命・老化疾患 I (座長:高橋良哉)
寿命・老化疾患 II (座長:石神昭人)
- 11:00~12:30 ポスター発表 II <偶数番号演題・質疑応答>
- 12:30~13:15 評議員会・昼食
- 13:20~14:00 総会
- 14:15~16:45 シンポジウム II: Mechanism of Calorie Restriction:
the current status (Chairperson: Isao Shimokawa)
- 16:45~16:50 若手奨励賞授与式 (大会会長:下川 功)
- 16:50~16:55 閉会の挨拶(学会長:後藤佐多良)

6月17日(土)

サテライトシンポジウム

ASIAN AGING 2006: The Regional Aging Connection and the Future

日時:平成18年6月17日(土) 9:30~17:30

会場:やすらぎ伊王島 海に見えるホテル 浜風のホール

長崎市伊王島町 電話 095-898-2202

プログラム

6月15日(木) 1日目

受付およびポスター展示 8:30~

開会の挨拶 下川 功・大会会長 (ポンペ会館) 9:00~

口演発表 I (ポンペ会館) 9:05~11:30

免疫・酸化ストレス I 座長: 西村泰光 (川崎医大)

O-1 (P-1): 加齢に伴う骨髄、脾臓でのマウス B 細胞分化について

石田佳幸^{1,2}、上田一仁²、樋田大輔³、水野大生⁴、伊藤佐知子²、羽根田正隆²、磯部健一²

¹名古屋大学医学部アイソトープ分館、²名古屋大学医学部微生物・免疫、³名古屋大学医学部整形外科、⁴名古屋大学医学部歯科口腔外科

O-2 (P-2): 老化促進モデルマウス, SAMP8/TaSlc における脾臓 TCR^{int} 細胞の増加と胸腺機能との関連性の検討

西村泰光¹、和田安彦²、西池珠子³、井口弘⁴、若林一郎⁵、三浦由恵¹、大槻剛巳¹、細川友秀⁶

¹川崎医科大学衛生学、²関西労災病院医療情報部、³大手前短期大学ライフデザイン総合学科、⁴兵庫県産業保険推進センター、⁵兵庫医科大学環境予防医学、⁶京都教育大学生命科学

O-3: ミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生するモデル動物 (*mev-1* マウス) の作製と解析

石井恭正、宮沢正樹、小野寺章、安田佳代、石井直明

東海大学・医学部・分子生命科学

免疫・酸化ストレス II 座長: 森 政之 (信州大学)

O-4 (P-5): 酸化ストレスと老化におけるミトコンドリア融合の役割

安田佳代¹、Philip Hartman²、須田斎³、正山哲嗣³、赤塚明¹、石井恭正¹、石井直明¹

¹東海大学医学部、²Texas Christian Univ.、³東海大学開発工学部

O-5 (P-6): RNA 干渉ライブラリーを用いたマウス線維芽細胞酸化ストレス耐性スクリーニング

長岡 (安田) 利栄^{1, 2}、松尾直毅²、Brian Perkins²、Mark Mayford²

¹大阪大学生命機能研究科、² Department of Cell Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla

O-6: 加齢に伴う活性酸素生成の変化: リアルタイムバイオラジオグラフィ法による解析

佐々木徹、田原正一、海野けい子¹、金子孝夫

都老人研・老化制御マーカー、¹静岡県大薬・生物薬品化学

細胞老化・テロメア 座長: 本田陽子 (東京都老人研)

O-7: 細胞老化関連遺伝子 TARSH/Abi3bp の機能解析

上川奈都子、若生武、杉本昌隆、丸山光生

国立長寿医療センター・老化機構研究部

O-8: TIG-1 細胞に認められた PDL 増加に伴う X 染色体の不安定化

仲村賢一¹、近藤 昊²、下村七生貴¹、石井章雄¹、神森 眞^{1,3}、田久保海誉¹

¹東京都老人研・老年病のゲノム、²人間総合科学大学・人間科学部、³東京大・病院・乳腺内分泌外科

O-9: ヒト細胞の寿命決定におけるテロメア結合タンパク質 TRF1 の役割について

中西真人、岡部潤

産業技術総合研究所・ジーンファンクション研究センター

代謝・カロリー制限 座長：千葉卓哉（長崎大学）

O-10: 暑熱寒冷順化ラットの体温調節能力 I. 若齢および成熟ラットの場合

野本恵美¹、齋藤武比斗²、石渡貴之³、田中英登⁴、小谷泰則⁵、村上秀明⁶、相原康二⁷、
野本茂樹¹

¹都老人研、²ダイキン、³東京福祉大、⁴横浜国大、⁵東京工大、⁶桐蔭横浜大、⁷首都大

O-11 (P-16): 熟年世代に対する食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用効果

澤下仁子¹、鬼塚さやか^{2,3}、源野広和³、立石紀彦⁴、飯野文枝⁴、石川 忍⁵、長岩利幸⁵、
村上武雄⁴、関 洋一⁴、花岡正明⁵、濱 澄男⁶、能勢 博^{2,3}、樋口京一¹

¹信州大・院・医・加齢生物学、²NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター、³信州大・院・医・
スポーツ医科学、⁴サニーヘルス(株)、⁵キッセイウェルコム(株)、⁶(株)アムネット

O-12: カロリー制限による放射線誘発骨髄性白血病の減少と標的細胞（造血幹細胞）の動態

吉田和子¹、平林容子²、井上 達²

¹放射線医学総合研究所・放射線障害研究グループ、²国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター

O-13 (P-19): Zucker obese ラットに対する長期カロリー制限による代謝関連転写因子と

アディポサイトカイン発現変化の解析

千葉卓哉、中山正彦、井上大輔、小松利光、林 洋子、林田隆広、山座治義、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・探索病理学

ポスター・セッション I <奇数番号演題・質疑応答> 11:30～13:00

理事会・昼食 12:30～13:30

シンポジウム I：ほ乳類におけるフォークヘッド型転写因子と SIR2 ホモログに関する最近の話題

13:45～15:45

座長：樋上賀一（長崎大学）

S-1-1: 代謝・老化・寿命を制御するフォークヘッド FOXO ファミリーの機能調節

深水昭吉

筑波大学大学院生命環境科学研究科（先端学際領域研究センター）

S-1-2: 酸化ストレス応答とフォークヘッド転写因子 FOXO

本山 昇、日比（古川）陽子、陳晨

国立長寿医療センター研究所・老年病研究部

S-1-3: 血管内皮細胞における老化シグナル分子 FOXO 1 の役割

古山達雄

園田学園女子大学・人間健康学部

S-1-4: 哺乳類 Sirt1 と NAD 合成系酵素 Nampt/PBEF/visfatin の代謝・老化制御における役割

今井眞一郎

ワシントン大学医学部・分子生物学・薬理学部門

パネルディスカッション：基礎老化研究の未来

16:00～17:30

司会進行：石井直明（東海大学）、樋口京一（信州大学）

PD-1: 私見・基礎老化研究の未来

後藤佐多良
東邦大学薬学部

PD-2: リソースとしての混沌

丸山直記
東京都老人総合研究所

PD-3: SAM 系統マウスが教えてくれること

細川昌則^{1,2}

¹愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所、²老化促進モデルマウス（SAM）研究協議会

PD-4: Research Activities at the National Institute for Longevity Sciences

田平 武
国立長寿医療センター研究所

懇親会（旧香港上海銀行長崎支店記念館）

18:30～20:30

6月16日(金) 2日目

口演発表 II

9:00～11:00

脳・神経 座長：島田厚良（愛知県コロニー）

O-14 (P-25): A-beta によるミクログリアからの matrix metalloproteinases (MMPs)の産生

伊藤佐知子、羽根田正隆、石田佳幸、磯部健一
名古屋大学医学部分子細胞免疫学、アイソトープセンター

O-15: β アミロイドによる bHLH 因子の発現変化は神経幹細胞死を誘導する

内田洋子、中野俊一郎、五味不二也
東京都老人総合研究所 老年病ゲノムチーム

O-16 (P-26): 脳に対する緑茶カテキンの老化抑制作用の検討

吉田啓俊¹、海野けい子¹、岸戸崇浩²、丁場大輔¹、福富理恵¹、菊永奈穂美¹、松本一朗³、
阿部啓子³、星野 稔¹

¹静岡県立大・薬・生物薬品化学、²静岡県立大・薬・医薬生命化学、³東京大・院・農学生命科学

O-17 (P-27): SH-SY5Y 細胞においてシトルリン化タンパク質が酸化ストレスにより誘導される

山本尚吾^{1,2}、浦野四郎²、久保幸穂¹、丸山直記¹、石神昭人¹
¹東京都老人総合研究所・老化制御、²芝浦工業大学・生物化学

寿命・老化疾患 I 座長：高橋良哉（東邦大学）

O-18 (P-35): SMP30 はアスコルビン酸生合成経路の重要な酵素である

佐藤安訓¹、井内陽子²、錦見盛光²、後藤佐多良³、丸山直記¹、石神昭人¹

¹東京都老人総合研究所・老化制御、²和歌山県立医科大学・生化学、³東邦大学・薬学部・生化学

O-19 (P-36): グルコノラクトナーゼ活性は加齢で低下する

近藤嘉高^{1,2}、岩佐嘉洋^{1,2}、島田信子¹、福田貢¹、下門顕太郎²、丸山直記¹、石神昭人¹

¹都・老人研・老化制御、²東京医歯大・院・血流制御内科学

O-20: ダイオキシンの周生期曝露に対するラットの寿命への影響について

新海 正¹、小林 悟¹、浦野四郎²、吉澤 京^{1,2}、中島幸一^{1,2}、石丸昌彦³

¹都老人研、²芝浦工大、³桜美林大学

寿命・老化疾患 II 座長：石神昭人（東京都老人研）

O-21: 宇宙空間における線虫の老化

本田陽子¹、東端晃²、石岡憲昭²、田中雅嗣¹、本田修二¹

¹東京都老人総合研究所健康長寿ゲノム探索、²宇宙航空研究開発機構

O-22: 老人性白内障患者における前房水アルブミンの酸化・還元状態の病態生理

恵良聖一¹、林 知也²、松山幸枝¹、河合憲司³

¹岐阜大学大学院医学系研究科・分子生理学分野、²明治鍼灸大学・生理学、³東海大学医学部
専門診療学系眼科学

O-23: 下顎骨による近交系ラット“F344”群の比較

田中 慎

国立長寿医療センター・加齢動物育成室

O-24 (P-43): グライコプロテオミクスによる新規老化マーカー糖蛋白質の発見及びその性状解析

佐藤雄治¹、早川雅人²、山本貴樹²、桜井洋子¹、戸田年総³、山本晴彦²、遠藤玉夫¹

¹都老人研・老化ゲノム機能、²神奈川大・理、³都老人研・老化ゲノムバイオマーカー

ポスター・セッション II <偶数番号演題・質疑応答> 11:00～12:30

評議員会・昼食 12:30～13:15

総会 13:20～14:00

シンポジウム II : Mechanism of Calorie Restriction: the current status

14 : 15 ~ 16 : 45

Chairperson : Isao Shimokawa (Nagasaki University)

S-2-1: A Major Role for Glucocorticoids in the Anti-inflammatory and Lifespan-extending Actions of Calorie Restriction

James F. Nelson

Barshop Institute for Longevity and Aging Studies

University of Texas Health Science Center at San Antonio

S-2-2: Identification of longevity therapeutics using gene-expression biomarkers

Stephen R. Spindler

Department of Biochemistry, University of California, Riverside

S-2-3: Calorie restriction modulates redox-sensitive transcription factors during aging

Hae Young Chung

Department of Pharmacy, Pusan National University

S-2-4: Regulation of insulin and FGF signaling by the aging-suppressor gene Klotho

Makoto Kuro-o

Department of Pathology, The University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas

若手奨励賞授与式 下川 功・大会会長 (ポンペ会館)

16 : 45 ~ 16 : 50

閉会の挨拶 後藤佐多良・学会会長 (ポンペ会館)

16 : 50 ~ 16 : 55

ポスター発表 I & II 医学部記念講堂

6月15日(木)、16日(金)

奇数番号 発表・質疑 15日(木) 11:30~13:00

偶数番号 発表・質疑 16日(金) 11:00~12:30

免疫・酸化ストレス・細胞老化

P-1 (O-1): 加齢に伴う骨髄、脾臓でのマウスB細胞分化について

石田佳幸^{1,2}、上田一仁²、樋田大輔³、水野大生⁴、伊藤佐知子²、羽根田正隆²、磯部健一²

¹名古屋大学医学部アイソトープ分館、²名古屋大学医学部微生物・免疫、³名古屋大学医学部整形外科、⁴名古屋大学医学部歯科口腔外科

P-2 (O-2): 老化促進モデルマウス, SAMP8/TaSlc における脾臓 TCR^{int} 細胞の増加と胸腺機能との関連性の検討

西村泰光¹、和田安彦²、西池珠子³、井口弘⁴、若林一郎⁵、三浦由恵¹、大槻剛巳¹、細川友秀⁶

¹川崎医科大学衛生学、²関西労災病院医療情報部、³大手前短期大学ライフデザイン総合学科、⁴兵庫県産業保険推進センター、⁵兵庫医科大学 環境予防医学、⁶京都教育大学生命科学

P-3: 老化促進モデルマウス SAMP1 腹腔細胞の NO 産生機能の加齢変化

細川友秀、越出千晶

京都教育大・理学科・生命科学

P-4: 老化した CD4T 細胞では脂質ラフトを介した「負」のシグナル制御系に異常がある

猪股光司¹、嶋田有紀子¹、林 昌美¹、清水 淳²、岩下淑子¹

¹東京都老人総合研究所・老化ゲノム機能研究チーム、²国立長寿医療センター・老化機構研究部

P-5 (O-4): 酸化ストレスと老化におけるミトコンドリア融合の役割

安田佳代¹、Philip Hartman²、須田斎³、正山哲嗣³、赤塚明¹、石井恭正¹、石井直明¹

¹東海大学医学部、²Texas Christian Univ.、³東海大学開発工学部

P-6 (O-5): RNA 干渉ライブラリーを用いたマウス線維芽細胞酸化ストレス耐性スクリーニング

長岡(安田)利栄^{1,2}、松尾直毅²、Brian Perkins²、Mark Mayford²

¹大阪大学生命機能研究科、² Department of Cell Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla

P-7: SEX AND STRAIN-RELATED DIFFERENCES IN ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY CHANGES WITH AGE IN RATS

K.Kitani¹, S.Kanai², K.Miyasaka², M.C.Carrillo^{1,2}

¹Natl. Inst. Longevity Sci., ²Tokyo Metropolitan Inst. Gerontology

P-8: The effects of Chinese prescription Kangen-karyu on aged kidney

佐藤亜希子¹、趙 恩珠²、横澤隆子¹

¹富山大学和漢医薬学総合研究所、²Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

P-9: 老齢ラットにおける定期的運動による肝臓 DNA の酸化傷害軽減

中本英子¹、金子孝夫²、田原正一²、林絵理¹、永島千尋¹、内藤久士³、後藤佐多良¹

¹東邦大学薬学部、²東京都老人総合研究所、³順天堂大学スポーツ健康科学部

P-10: Characterization of apoptosis-related gene, DAP3 in cellular senescence

Wakoh T, Murata Y, Uekawa N, Sugimoto M, Miyazaki T and Maruyama M.

Dept.of Mechanism. of Aging, NILS, NCGG. Dept. of Bio. Res. Center for Zoonosis Control. Hokkaido Univ.

P-11: Mechanism of Lysophosphatidylcholine in Upregulation of Endothelial Adhesion Molecules: involvement of GPR4

Yani Zou, Eun Kyung Go, Ji Young Kim and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes,

P-12: Betaine modulates NF- κ B signaling pathway during aging

Eun Kyung Go and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes, Pusan National University, Busan, Korea

P-13: Molecular modulation of the age-related Nuclear factor κ B (NF- κ B) pathway by hesperetin

Ji Young Kim and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes, Pusan National University, Busan, Korea

P-14: The mechanisms underlying anti-aging activity of the persimmon polyphenols in human fibroblast cells

李 英娥¹、佐藤亜希子¹、趙 恩珠²、横澤隆子¹
¹富山大学和漢医薬学総合研究所、²Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

P-15: ヒト線維芽細胞の老化に伴う異常細胞分裂と核形態異常の発生について

大島 晋
埼玉医科大学・中央研究施設・形態部門

代謝・カロリー制限

P-16 (O-11): 熟年世代に対する食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用効果

澤下仁子¹、鬼塚さやか^{2,3}、源野広和³、立石紀彦⁴、飯野文枝⁴、石川 忍⁵、長岩利幸⁵、村上武雄⁴、関 洋一⁴、花岡正明⁵、濱 澄男⁶、能勢 博^{2,3}、樋口京一¹
¹信州大・院・医・加齢生物学、²NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター、³信州大・院・医・スポーツ医学、⁴サニーヘルス(株)、⁵キッセイウェルコム(株)、⁶(株)アムネット

P-17: コレシストキニン (CCK) A 受容体欠損マウスの加齢に伴う胆石形成と性差の有無

金井節子、太田稔、桜井千裕、秋本-高野紗恵子、関目綾子、細矢博子、宮坂京子
東京都老人総合研究所・老年病のゲノム解析研究チーム

P-18: 老齢マウスにおけるグレリンによる摂食促進効果の欠如

太田稔、桜井千裕、秋本-高野紗恵子、金井節子、細矢博子、宮坂京子
東京都老人総合研究所・老年病のゲノム解析研究チーム

P-19 (O-13): Zucker obese ラットに対する長期カロリー制限による代謝関連転写因子と

アディポサイトカイン発現変化の解析
千葉卓哉、中山正彦、井上大輔、小松利光、林 洋子、林田隆広、山座治義、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・探索病理学

P-20: カロリー制限・GH-IGF-1 抑制ラットのグルコース代謝: Akt, GLUT4 の解析

林 洋子、山座治義、朴 盛浚、林田隆広、小松利光、千葉卓哉、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・探索病理学

P-21: カロリー制限における転写因子 FoxO1 の役割 ; 酸化ストレスについて

福本 有里¹、真島 宏聡¹、小松 利光¹、朴 盛浚¹、千葉 卓哉¹、樋上 賀一¹、古山 達雄²、下川 功¹
¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・探索病理学、²園田学園女子大学人間健康学部食物栄養学科

P-22: Calorie restriction initiating at a middle age improved glucose tolerance without affecting age-related insulin resistance in rat skeletal muscle
Park Seongjoon, Komatsu Toshimitsu, Hayashi Hiroko, Yamaza Haruyoshi, Chiba Takuya, Higami Yoshikazu, Shimokawa Isao
Department of Investigative Pathology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science

P-23: 食餌制限の骨密度の加齢変化に対する効果と成長ホルモン分泌抑制の影響の検討
富田雅人¹、本川 哲²、樋上賀一³、下川 功³
¹長崎県離島医療圏組合対馬いづはら病院整形外科、²独立行政法人国立病院機構長崎医療センター整形外科、³長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・探索病理学

P-24: カロリー制限ラットと成長ホルモン (GH) 抑制トランスジェニックラットの類似した表現型：リコンビナントヒト IGF-1 投与に対する内因性 GH-IGF-1 系の反応
Fang Ping, 小松利光、山座治義、千葉卓哉、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・探索病理学

脳・神経

P-25 (P-14): A-beta によるミクログリアからの matrix metalloproteinases (MMPs) の産生
伊藤佐知子、羽根田正隆、石田佳幸、磯部健一
名古屋大学医学部分子細胞免疫学、アイソトープセンター

P-26 (O-16): 脳に対する緑茶カテキンの老化抑制作用の検討
吉田啓俊¹、海野けい子¹、岸戸崇浩²、丁場大輔¹、福富理恵¹、菊永奈穂美¹、松本一朗³、阿部啓子³、星野 稔¹
¹静岡県立大・薬・生物薬品化学、²静岡県立大・薬・医薬生命化学、³東京大・院・農学生命科学

P-27 (O-17): SH-SY5Y 細胞においてシトルリン化タンパク質が酸化ストレスにより誘導される
山本尚吾^{1,2}、浦野四郎²、久保幸穂¹、丸山直記¹、石神昭人¹
¹東京都老人総合研究所・老化制御、²芝浦工業大学・生物化学

P-28: 低酸素ストレスのヒト神経芽細胞(SH-SY5Y)膜表在ネプリライシン活性におよぼす影響
大橋憲太郎¹、平田洋子¹、磯部健一²、木内一壽¹
¹岐阜大学工学部生命工学科生命情報工学講座1、²名古屋大学医学部分子細胞免疫学講座

P-29: 海馬神経細胞の in vitro エイジング：過興奮、生存とスパインアクチン制御
白石一山口 陽子^{1,2}、Shelley Halpain²、森 望¹
¹長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・発生分化機能再建学講座（形態制御解析学／解剖学第一教室）、²米国スクリプス研究所

P-30: モデルマウスを用いた中枢神経細胞の加齢変性における neuroinflammation の役割の検討
-ミクログリアの加齢変化
熊谷直子^{1,2}、千葉陽一²、島田厚良²、細野正道¹、藤井庄人¹、佐藤 衛²、齊藤優子²、河村則子²、慶野裕美²、細川昌則²
¹新潟大学大学院・自然科学研究科・免疫生物、²愛知県心身障害者コロニー・発達障害研究所・病理学部

P-31: MAP1B の N 末端に結合する物質の探索 III
五味不二也 内田洋子
東京都老人総合研究所・老年病ゲノム研究グループ

P-32: 老化脳と神経再生：脳梗塞モデルラットにおける間葉系幹細胞の役割

大神和子¹、秋野公造¹、森 望¹

¹長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・発生分化機能再建学講座（形態制御解析学／解剖学第一教室）

P-33: SAM マウスをモデルとした脳の老化変性に関わる遺伝子の探索

島田厚良¹、慶野裕美¹、森 政之²、樋口京一²、佐藤 衛¹、千葉陽一¹、齊藤優子¹、細川昌則¹

¹愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部、²信州大学大学院医学研究科 加齢生物学

寿命・老化疾患

P-34: アストロサイトにおける PAD 活性化機構の解明

遊長由希^{1,2}、半田節子¹、島田信子¹、福田貢¹、町田武生²、丸山直記¹、石神昭人¹

¹東京都老人総合研究所・老化制御、²埼玉大学・院・理工

P-35 (O-18): SMP30 はアスコルビン酸生合成経路の重要な酵素である

佐藤安訓¹、井内陽子²、錦見盛光²、後藤佐多良³、丸山直記¹、石神昭人¹

¹東京都老人総合研究所・老化制御、²和歌山県立医科大学・生化学、³東邦大学・薬学部・生化学

P-36 (O-19): グルコノラクトナーゼ活性は加齢で低下する

近藤嘉高^{1,2}、岩佐嘉洋^{1,2}、島田信子¹、福田貢¹、下門頭太郎²、丸山直記¹、石神昭人¹

¹都・老人研・老化制御、²東京医歯大・院・血流制御内科学

P-37: 老化促進マウスからの骨髄内骨髄移植により骨髄環境の老化を誘導させた動物モデルの検討

上田祐輔^{1,2}、稲葉宗夫¹、高田敬蔵^{1,2}、飯田寛和²、池原進¹

¹関西医科大学第一病理、²関西医科大学整形外科

P-38: 高齢雄 F344 ラット肝臓における mouse vas deferens protein (MVDP) mRNA 発現誘導

川上恭司郎、後藤佐多良、高橋良哉

東邦大学薬学部生化学教室

P-39: ラット腎臓のアルブミンエンドサイトーシス受容体の加齢変化とアルブミン尿症

大寺恵子、後藤佐多良、高橋良哉

東邦大学薬学部生化学教室

P-40: 活性型 hHSF1 トランスジェニックマウスにおける AApoAII アミロイドーシスの抑制

張 倍茹、付 笑影、葛 鳳霞、巖 景民、姚 俊潔、張 桓宇、澤下 仁子、森 政之、中井 彰¹、樋口 京一

信州大学医学研究科加齢生物学分野、¹山口大学医学研究科生化学第二

P-41: MANDIBULAR ADVANCEMENT AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE MANDIBLE OF FEMALE MICE OF DIFFERENT AGES

Maria Leticia Rassi Guimarães¹, Dalva Maria Pereira Padilha², Sidia Maria Callegari-Jacques³, Emilio Antônio Jeckel-Neto⁴

¹Biomedical Gerontology Post-graduate Program, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil. ²Gerontology and Geriatrics Institute, PUCRS.

³Statistics Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). ⁴Bioscience Faculty, PUCRS

P-42: 成長ホルモンを欠如する矮小体躯症ラット (SDR) に見られた寿命延長

倉本和直²、新海正¹、田原正一¹、佐々木徹¹、松本茂信¹、金子孝夫¹、近藤昊³、矢鍋誠⁴、高木勝平⁴

都老人研・¹老化制御マーカー、²動物施設、³人間総合科学大、⁴日本エスエルシー(株)

P-43 (O-24): グライコプロテオミクスによる新規老化マーカー糖蛋白質の発見及びその性状解析

佐藤雄治¹、早川雅人²、山本貴樹²、桜井洋子¹、戸田年総³、山本晴彦²、遠藤玉夫¹

¹都老人研・老化ゲノム機能、²神奈川大・理、³都老人研・老化ゲノムバイオマーカー

P-44: ラット部分的膀胱排出路狭窄モデルにおける膀胱排尿筋の Angiotensin II type 1(AT1)受容体の発現変化検討

東武昇平、野口 満、畑田鉄平、松尾朋博、森 健一、松尾 学、金武 洋

長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・腎泌尿器病態学

P-45: 抗酸化物質によるラット認識機能障害の改善

浦野四郎¹、大和田 敬¹、武田広宣¹、山崎真樹子¹、阿部皓一²

¹芝浦工大・生化、²エーザイ

**日本基礎老化学会第29回大会
発表抄録**

Abstracts

The 29th Annual Meeting of
The Japan Society for Biomedical Gerontology

シンポジウム 1

S-1-1

代謝・老化・寿命を制御するフォークヘッド FOXOファミリーの機能調節

筑波大学大学院生命環境科学研究科（先端学際領域研究センター）

深水昭吉

老化・寿命のメカニズムを遺伝子レベルで解明しようという試みは、線虫の長寿命変異体の遺伝学的解析を基盤に、ここ数年で飛躍的な進展を遂げてきた。特筆すべきことは、線虫の老化プロセスを制御している遺伝子がいずれもインスリン/IGF-Iシグナル伝達系の重要な構成因子であり、その下流因子であるFOXOの転写制御機構の解明および標的遺伝子の同定が、寿命・老化のメカニズムを紐解く手がかりになるものと期待されている。

FOXOのアセチル化と転写抑制メカニズム

CBP/p300は多くの転写因子のリジン残基をアセチル化し、DNA結合能の向上、核への局在化、タンパクの安定化などを引き起こし、結果としてさらなる転写活性の亢進を導くという“転写因子活性化のアセチル化制御機構”の存在が示されていた。我々は、①CBPはFOXO1による転写を活性化する、②FOXO1自身のアセチル化は転写活性を抑制する、という一見逆説的な知見を導いた。そこで我々は、「FOXO1はCBPを介して転写開始複合体をDNA上に形成し、ヒストンのアセチル化修飾を介して標的遺伝子の転写を活性化する一方、FOXO1自身もアセチル化されることで機能変化が生じ、その転写活性が減弱する」という二段階の転写制御モデルを提唱した。

NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素Sir2とFOXOの遺伝学的関連性

次に我々は、FOXO1の脱アセチル化による転写調節機構の存在を仮定し、「NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素であるSir2はFOXOを脱アセチル化することで、その転写活性を制御するのでは？」という作業仮説を立て、哺乳類細胞におけるマウスSir2とFOXO1の直接的な関わりを検証した。まずFOXO1とSir2の相互作用を検討したところ、*in vivo*、*in vitro*双方において両者の結合が認められた。さらにCBPでアセチル化したFOXO1を基質として脱アセチル化反応を行ったところ、Sir2はNAD⁺依存的にFOXO1のアセチル化リジン残基を脱アセチル化した。

FOXOの脱アセチル化とカロリー制限による寿命延長の分子機構

我々はFOXO1の多重修飾制御という観点から、確実な寿命延長の手段である“カロリー制限”の分子メカニズムを以下のように想定している。カロリー制限が始まると、個体レベルでは血糖値の低下と、それに応じた血中インスリン濃度の低下が観察される。すると各組織におけるインスリンシグナルは減弱し、PKB/Akt依存的な

FOXOのリン酸化が抑制されるため、その細胞内局在は核へと傾くことになる。このとき細胞レベルでは、グルコース代謝の減少によってNAD⁺/NADH比に変化が生じ、これを受けてSir2/SIRT1の活性化が引き起こされる。こうして脱リン酸化、脱アセチル化状態を維持したFOXOは、転写を介して細胞のストレス耐性を向上させる一方で、過剰なアポトーシスを抑制することで老化のスピードを遅らせるものと考えられる。

今後、タンパク質の“質”と“量”を調節する多重修飾という側面から「老化」研究を推進することで、細胞と個体の機能的関係を議論することができる新しい突破口を切り開けることを期待する。

参考文献

1. Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Aoyama, H., Yoshimochi, K., and Fukamizu, A. Acetylation of Foxo1 alters its DNA-binding ability and sensitivity to phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 11278-11283 (2005)
2. Daitoku, H., Hatta, M., Matsuzaki, H., Aratani, S., Ohshima, T., Miyagishi, M., Nakajima, T., and Fukamizu, A. Silent information regulator 2 potentiates Foxo1-mediated transcription through its deacetylase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 10042-10047 (2004)
3. Ide, T., Shimano, H., Yahagi, N., Matsuzaka, T., Nakakuki, M., Yamamoto, T., Nakagawa, Y., Takahashi, A., Suzuki, H., Sone, H., Toyoshima, H., Fukamizu, A., and Yamada, N. SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver. *Nature Cell Biol.* 6, 351-357 (2004)
4. Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Tanaka, K., and Fukamizu, A. Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 11285-11290 (2003)

酸化ストレス応答とフォークヘッド転写因子FOXO

国立長寿医療センター研究所・老年病研究部
 本山 昇、日比（古川）陽子、陳晨

線虫*C. elegans*において寿命制御及びストレス抵抗性獲得に重要な機能を果たす転写因子DAF-16の哺乳類ホモログであるフォークヘッド転写因子FOXOファミリー（FOXO1、FOXO3a、FOXO4）は、細胞周期・DNA修復・細胞死・酸化ストレス抵抗性・種々の代謝に関わる遺伝子の発現制御に重要な機能を果たしている。FOXOファミリーの活性は、主に細胞質-核間のシャトリングによって制御されている。FOXOファミリーは、Growth factorやsurvival factorのシグナル伝達経路であるPI3K-Akt (PKB) によってリン酸化され、核外に排出され転写因子として不活性化される。一方、過酸化水素処理などの酸化ストレスに応答して速やかに核内に移行し、転写因子として活性化されることを明らかにしてきた。酸化ストレスに応答したFoxo4の核内移行に伴って、Aktによるリン酸化部位のうちSer-197が選択的に脱リン酸化されることを明らかにした。また、網羅的相互作用解析（相互作用プロテオーム解析）を行うことにより、脱リン酸化酵素PP2Aと相互作用することを見出した。PP2Aの阻害剤であるOkadaic Acid、Calyculin Aや強力な阻害作用をもつSV40 small t antigenをアデノウイルスにより細胞に導入することによって酸化ストレスに応答したFOXOの核移行は阻害された。さらに、酸化ストレスによって誘導されるSer197の脱リン酸化も抑制された。これらの結果と一致して、酸化ストレスに応答したFOXOによるGADD45の発現誘導やCyclin Dの発現抑制が阻害された。以上の結果から、酸化ストレスにFOXOの核移行には、PP2Aによる脱リン酸化が重要な機能を果たしていることを見出した。生細胞は酸化的代謝に由来する活性酸素種などの酸化ストレスを持続的に受けている。即ち、FOXOタンパク質の細胞内局在と転写活性はPI3K-Aktシグナル経路と酸化ストレス-PP2Aシグナル経路の活性のバランスによって制御されている。

血管内皮細胞における老化シグナル分子FOXO1の役割

園田学園女子大学・人間健康学部
 古山達雄

FOXOファミリーは線虫の寿命延長に重要なインシュリンシグナルの下流で働いている転写因子である。その後の多くの研究から、この転写因子により発現調節されている遺伝子が同定され、酸化ストレス応答、アポトーシス、細胞分化、細胞周期、エネルギー代謝などの現象と深い関係にあることが明らかになってきた。我々は、個体でのFOXOの機能を明らかにするため、FOXOファミリーの一員であるFOXO1欠損マウスを作成し解析を行った。このマウスでは胎生11日前後で胎生致死となることが明らかになった。この異常の原因を解析したところ、胎生9日までの血管形成には野生型と差は認められないが、それ以後の血管の分岐が正常に進んでいないことが明らかになった。また、FOXO1欠損ES細胞から分化させた血管内皮細胞のVEGFに対する応答性の異常がみられた。この細胞は低濃度でみられるVEGFの増殖、生存に対する刺激には正常に応答し、正常細胞と同様の丸いコロニーを形成する。それより高濃度のVEGF刺激を外部から加えた場合には、正常細胞のコロニーではコロニーがばらけていく一方でFOXO1欠損内皮細胞のコロニーでは丸い形態を維持したままであった。VEGFの欠損マウスではヘテロ欠損の場合にも血管形成の異常で胎生致死となることから、ある濃度以上のVEGFが血管形成過程には必要であることが示唆されていることを考慮すると、FOXO1欠損マウスでは、高濃度でのVEGFの作用発現の過程のどこかに必要な分子の発現量が低下もしくは過剰になっている可能性が考えられた。そこで胎生9.5-10.0のFOXO1欠損マウスと正常マウスのyolk sacの遺伝子発現量の比較を行ったところ、血管形成に関わるとされるVEGF,ang1,2やその受容体の発現には有為な差は認められなかった一方、コネクシン37、40分子の発現低下が観察された。コネクシン40に関してはFOXO1欠損ES細胞から分化させた血管内皮細胞においても発現低下していた。しかし、これらのコネクシンの欠損マウスでは血管形成異常による胎生致死は認められないことから、それ以外の分子の発現変動が重要であると考えられた。

血管形成への関与は、これまでに報告されている他のFOXOファミリー分子欠損マウスでは認められないことから、FOXO1に特異的な生理機能である。

哺乳類Sirt1とNAD合成系酵素 Nampt/PBEF/visfatinの代謝・老化制御における役割

ワシントン大学医学部、分子生物学・薬理学部門

今井 眞一郎

世界の主要各国の中で我が国はイタリアとともに社会の高齢化が著しく、高齢者の健康を保持し生産的な老後を送れるようにすること (productive aging) が非常に重要な課題となりつつある。こうした社会的要請を背景に急速な進歩を遂げつつある老化・寿命の分子生物学的研究において、近年重要な制御因子として着目されているのが、NAD依存性脱アセチル化酵素Sir2 (silent information regulator 2) である。Sir2は酵母、線虫、ショウジョウバエにおいて老化・寿命を制御する重要な因子であることが知られている。またこれらの生物種で、Sir2がカロリー制限の寿命延長・老化遅延効果を媒介する制御因子であることも示されている。哺乳類においては、Sir2オルソログであるSirt1が栄養状態の変化に対する様々な代謝応答の制御に重要であることが明らかになりつつあり、代謝系疾患の創薬標的としても注目されつつある。

我々は、糖代謝調節に関わる主要臓器・組織におけるSirt1の機能と老化・寿命制御の関係に着目し、哺乳類Sirt1の各組織に特異的な機能、および哺乳類NAD合成系によるSirt1の機能制御について研究を進めている。我々は最近、膵β細胞特異的Sirt1高発現 (BESTO) トランスジェニックマウスの解析から、Sirt1がβ細胞の糖刺激によるインスリン分泌能を促進する機能を持つことを明らかにした。本講演ではさらに、18-24ヶ月齢の高齢BESTOマウスの解析結果もあわせて、インスリン分泌制御におけるSirt1の機能について検討する。またSirt1は、肝細胞において糖尿病の原因遺伝子産物の一つと相互作用しており、糖代謝制御におけるSirt1の重要性が強く示唆されつつある。一方哺乳類におけるSirt1の活性調節には、無脊椎動物には存在しない酵素ニコチナミド・フォスホリボシルトランスフェラーゼ (Nampt) によって触媒されるNAD合成系が重要である。興味深いことにNamptは血中に分泌されており、PBEF、visfatinとも呼ばれている。我々はマウスにおいて、褐色脂肪がNamptを高発現しており、褐色脂肪細胞が活性化されたNamptを産生・分泌していることを見いだした。現在、細胞内・外型Namptによる全身性のNAD合成調節の可能性を検討しつつある。本講演においてはこれらの研究成果をふまえ、哺乳類の老化・寿命制御におけるSirt1の機能、全身性のNAD合成調節によるSirt1の活性制御、さらにこれらの知見に基づく抗老化創薬の可能性について考察を進めたい。

シンポジウム 2

S-2-1

A Major Role for Glucocorticoids in the Anti-inflammatory and Lifespan-extending Actions of Calorie Restriction

James F. Nelson

Barshop Institute for Longevity and Aging Studies
University of Texas Health Science Center at San Antonio

Chronic calorie restriction (CR) which extends longevity in many species is associated with moderate hyperadrenocorticism. CR also attenuates inflammation. Given the anti-inflammatory action of glucocorticoids, we tested the hypothesis that the hyperadrenocorticism of CR contributes to the attenuated inflammatory response and prolongevity effect of CR. We used a corticotrophin-releasing-hormone knockout (KO) mouse, which is glucocorticoid deficient, and wildtype (WT) littermates as controls. Beginning at 3 mo, KO mice were fed *ad libitum* (AL) or CR and given vehicle or corticosterone (CORT) in their drinking water to mimic CORT status of WT AL and CR mice. Inflammation was measured as footpad edema induced by carrageenan injection. The CR-mediated attenuation of footpad edema seen in WT mice was significantly prevented in KO mice. Only replacement of CORT in KO mice to levels observed in WT mice could restore the anti-inflammatory effect of CR. In KO mice, the absence of CRH and CORT not only prevented the lifespan extending effect of CR, these deficiencies reduced median longevity to 50% of that of AL KO and WT mice. Replacement of CORT to AL levels in CR KO mice partly restored the prolongevity effect of CR, and replacement of CORT to CR levels resulted in a further extension of lifespan in CR mice. These results show that the hyperadrenocorticism of CR plays a major role in the anti-inflammatory action of CR, and that the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis is also critical for the lifespan extending actions of CR. Supported by NIA and the Ellison Medical Foundation.

Identification of longevity therapeutics using gene-expression biomarkers

Stephen R. Spindler

University of California, Riverside, Department of Biochemistry, 5478 Boyce Hall, Riverside, CA, 92521, U.S.A.

Evolutionary theory holds that caloric restriction (CR) evolved early in metazoan evolution as an adaptation to boom and bust cycles in the food supply. Thus, molecular-genetic studies should be able to identify a set of ancestral circuits established to regulate longevity. We have shown that CR acts within 8 weeks, even in late adulthood, to begin to extend the life- and healthspan of mice. We also closely linked this CR-induced physiological state to changes in the level of specific heart and liver gene transcripts, and to specific signal transduction pathways. Our results are consistent with the rapid effects of caloric intake on the lifespan and/or biochemistry and physiology of *Drosophila*, rodents, rhesus macaques and humans. Thus, pharmaceuticals capable of mimicking the signal-transduction and therefore the gene-expression effects of LTCR may have applications in human health. To test this hypothesis, we evaluated the effectiveness of glucoregulatory drugs and putative cancer chemopreventatives in reproducing the hepatic gene-expression profiles produced by LTCR. We found that eight weeks of metformin treatment was superior to 8 weeks of CR at reproducing the specific changes in transcript levels produced by LTCR. Consistent with these results, metformin reduces cancer incidence in diabetic humans and ameliorates the onset and severity of metabolic syndrome. Metformin extends the mean and maximum lifespans of female transgenic HER-2/neu mice by 8% and 13.1% in comparison with control mice. Phenformin, which is structurally and functionally closely related to metformin, extends the lifespan and reduces tumor incidence in C3H mice. These results indicate that gene-expression biomarkers can identify promising candidate CR mimetics.

Calorie restriction modulates redox-sensitive transcription factors during aging

Hae Young Chung

Department of Pharmacy, Pusan National University

Oxidative stress is considered to be the major cause of aging and many age-related diseases. Calorie restriction (CR) is known to retard the aging, and age-related deleterious processes. Recent studies documented that CR retards the aging process with its anti-oxidative ability by regulating the intracellular redox balance. Among key cellular components sensitive to the redox status are transcription factors such as NF- κ B, AP-1, PPARs, and HIF-1. In the present study, my major focus was to explore whether age affects the regulation of NF- κ B, AP-1, PPARs, and HIF-1, and further to delineate how the age-related changes are modulated by CR. It was found that the increased NF- κ B binding activity during aging is elicited through phosphorylation by IKK, resulting a cause for degradation of I κ B α and I κ B β . Additionally, CR inhibited IKK activation and down-regulated NF- κ B activation as evidenced by increased cytoplasmic I κ B α and I κ B β proteins. Results also showed that AP-1 binding activity markedly increased with age that was suppressed by CR. Since AP-1 is known to be modulated by MAPK, the investigation of MAPK activity was explored. Results showed that the aging process enhanced all MAPKs activities including ERK, JNK, and p38 MAPK, and importantly, CR markedly suppressed their age-related activations. Results further showed HIF-1 activity increased with age, which was blunted by CR. Increased HIF-1 activation during aging was accompanied by the stabilization and phosphorylation of HIF-1 α protein. Another redox transcription factors, PPAR α , γ have been implicated as regulators of pro-inflammatory responses and NF- κ B signaling pathway. Gene expression and DNA binding activity of PPAR α , γ decreased with age, while CR blunted the reduction. In conclusion, it is becoming clear that redox transcription factors are intricately involved in the oxidatively stressed aging process and anti-aging intervention.

Regulation of insulin and FGF signaling by the aging-suppressor gene *Klotho*

Makoto Kuro-o

Department of Pathology

The University of Texas Southwestern Medical
Center at Dallas

A defect in *klotho* gene expression in mice leads to a syndrome resembling aging, including a shortened life span, hypogonadism, growth arrest, hypoaactivity, skin atrophy, muscle atrophy, hearing loss, premature thymic involution, cognition impairment, motor neuron degeneration, arteriosclerosis, osteopenia, soft tissue calcification, and pulmonary emphysema among others. In contrast, overexpression of the *klotho* gene extends life span in the mouse. Thus, the *klotho* gene functions as an aging suppressor gene. It encodes a single-pass transmembrane protein whose extracellular domain share homology to glycosidases and is shed and secreted into the blood and urine.

Extended life span in transgenic mice that overexpress *Klotho* is associated with increased resistance to insulin/IGF1 and oxidative stress, mechanisms for suppressing aging evolutionarily conserved from worms to mammals. *Klotho* may affect aging processes partly through its ability to inhibit insulin/IGF1 signaling and to reduce oxidative stress.

Mice defective in fibroblast growth factor-23 (FGF23) exhibit aging-like phenotypes similar to those observed in *Klotho*-deficient mice, suggesting that *Klotho* and FGF23 may function in a common signal transduction pathway(s). My laboratory has shown that *Klotho* binds to multiple FGF receptors (FGFRs) and modifies their affinity to FGFs. Notably, *Klotho* enhances the ability of FGF23 to activate FGF signaling. FGF23 was originally identified as a hormone that inhibited phosphate reabsorption in the kidney and lowered serum vitamin D. Indeed, both *Klotho*-deficient mice and FGF23-deficient mice exhibit elevated serum phosphate and vitamin D levels. In addition, many aging-like phenotypes in these mice are rescued by ablation of vitamin D activity. These findings imply a novel concept that FGF signaling and phosphate/vitamin D metabolism may participate in the regulation of aging in mammals.

パネルディスカッション

PD-1 私見・基礎老化研究の未来

後藤佐多良
東邦大学薬学部

基礎老化学は、第一に生物学的老化のしくみを明らかにすることを目的としている。第二の目的は、ヒトの健康長寿の実現を目指すための信頼できる科学的知見を提供することである。本学会の英語名 Biomedical gerontology には、この二つの目的が含まれている。

基礎老化学では、しかし、ヒトを直接の研究対象とすることは多くない。研究には酵母・ゾウリムシ・線虫・ショウジョウバエ・ネズミなど多種類のモデル動物や細胞が使われている。大切なことはこれらモデルの研究から得られる知見がそれぞれに固有な老化を説明するものか、他の動物、ひいてはヒトの老化まで説明するものなのかを考えることである。動物種に固有な老化のしくみの研究が学問的な意味をもつことは言うまでもない。一方、現存するすべての生物は進化の所産であるから多くの共通点があるのは当然だが、自然淘汰の対象になりにくい老化現象が種を越えてどこまで共通であるかが問題となる。今後の重要な課題だろう。

「ヒトの健康長寿を目指す」という点については、最近社会現象といってもいいほど一般の人々や産業界から注目されている、いわゆる“アンチエイジング”に対する過度の期待との関連を考えざるを得ない。アンチエイジングという言葉は、化粧のようにうわべを装うこと(これももちろん QOL 向上の点で重要である)から生活習慣病対策にまで幅広く使われているが、生物学的老化を遅延させるといふ本来の「抗老化」という意味で使われることは少ない。老化学という現代社会と密接な関係をもつ学問に携わっている我々には、しっかりした学問に根ざした見識をもってアンチエイジングバブル現象に対処し、健康長寿社会の実現に貢献する責任がある。

PD-3 SAM 系統マウスが教えてくれること

細川昌則^{1,2}

¹愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

²老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会

SAM 系統マウスは、1976 年に老化過程の促進現象と老年性疾患のモデル動物として開発が開始された、1群の関連近交系マウスである。1981年に最初の論文が発表され、1982年に分与が開始されて以来、主に老年性疾患の自然発症モデル動物として多くの研究施設において利用され、今後も老化と老年性疾患の様々な研究に用いられてゆくと考えている。これまで SAM 系統から、老化に関連した病態に関わる多くの事を学んできたが、モデル動物を用いた実験病理学の立場から、以下に示すような基礎老化研究に広く有用と考えられる総論的メッセージを提示することで、SAM 系統が「基礎老化研究の未来」に寄与できる可能性を考えてみたい。

①老化モデルとしての SAM 系統の意味: SAM 系統は速く老化する。速い老化と、早い老化は同じではない。速い老化も、早い老化も相対的なものである。②老年性疾患の実験モデルの中での SAM 系統の意味: 老年性疾患は Age-related disorders と Age-dependent disorders に分けられる。Age-dependent disorders は老化のメカニズムと密接に関係する。SAM 系統が加齢とともに示す病態の多くが Age-dependent disorders の範疇に入る。③老化もしくは老年性疾患への介入の意味: 形質の発現に介入する事で系の中身を明らかにする事が期待できる。一方、中身が判らない系でも介入方法をスクリーニングする系としては利用できる可能性がある。④老化研究における実験モデル動物の意味: 老化の形質には複数の遺伝子が関与し、環境によって発現が変化する。研究の道具としては規格化する事が必要である。

Keywords: 老化、老年性疾患、モデル動物、SAM 系統マウス

PD-2 リソースとしての混沌

丸山直記・東京都老人総合研究所

他の学問領域と比較した時、老化学には重要な特徴がある。それは正常についての解析は殆ど対象にならないことである。例えば免疫学領域では非自己に対する生体応答は生理的な機能であるが自己成分に対する免疫応答は病理学的な研究対象となる。その学問領域はシステム(系)として認知されている。それでは老化のごときシステムの崩壊に起因する研究領域がシステム(系)として認知されるのであろうか? この疑問に対する解は現在持ち合わせてはいない。ただ免疫学の歴史をなぞってみると老化研究にとって幾つかの教訓が浮かびあがってくる。自己免疫病の克服は重要課題であったが、その本態の解明は基礎免疫学の発達により容易に解明すると思われていた。けれども現実極めて困難な過程をたどった。しかしその混沌とした自己免疫病解明の努力は他の医学生物学領域に多くの貢献をもたらしている。短いながらも老化研究の歴史を概観すると、これもまた他の学問領域に多くの貢献をしている。例えば Sd1-1 は老化研究から産出され癌研究において重要視されている。免疫学においては T 細胞のサブポピュレーションの発見をもたらしている。このように自己免疫病と同様に混沌とした研究対象は他の学問領域のリソースとなりうるのである。近い将来の学問潮流がどうなるかは現場の研究者には想像が及ばないと思われる。システムと(系)して老化学が成立するのを見届けると共に混沌さを利として眼前の研究対象を解明することが現実的な方向性と考えている。

PD-4 Research Activities at the National Institute for Longevity Sciences

□平武

国立長寿医療センター研究所

国立長寿医療センター研究所はその前身の長寿医療研究センターとして平成7年に国立療養所中部病院に8研究部21研究室の体制で設置された。平成16年3月にナショナルセンターに昇格したとき現在の名称となり、13研究部42研究室に拡充された。ここは厚生労働省の管轄であり、自ずから高齢者に多い疾病の研究が主たる研究テーマとなっている。しかし、2研究部では老化のメカニズムの解明とその制御法の開発という基礎研究にも取り組んでいる。また、3研究部では高齢者の QOL 向上に資する社会医学的あるいは医療工学的研究に取り組んでいる。疫学研究部では地域住民を対象に長期縦断疫学研究を実施しており、老化と老年病の要因探索を行っている。

高齢者に多い疾病としては認知症と骨粗鬆症を重点的に研究している。認知症ではアルツハイマー病を中心にその発症機序の解明をコレステロール代謝の面から試み、また、治療法の開発ではベータアミロイドワクチンの開発、アミロイドベータタンパク凝集阻害剤やオリゴマーの除去法の開発などを行っている。血管性認知症研究部では遺伝性血管性認知症カダシルの原因遺伝子 Notch3 変異による発症機序の解明、モデル動物の開発を行うとともに、虚血性神経細胞死を軽減させるためのワクチン療法の開発を行っている。骨粗鬆症の研究では新規骨吸収因子としてのガンマ GTP の研究、骨細胞特異的ノックアウトによる骨細胞機能の解明、破骨細胞と骨芽細胞のカップリング因子の同定などの研究が行われている。

Key Words

老化機構、老化制御、認知症、骨粗鬆症

口頭発表 1 日目

0-1 加齢に伴う骨髄、脾臓でのマウスB細胞分化について

石田佳幸⁽¹⁾、(2)、上田一仁⁽²⁾、樋田大輔⁽³⁾、水野大生⁽⁴⁾、伊藤佐知子⁽²⁾、羽根田正隆⁽²⁾、磯部健一⁽²⁾
(1)名古屋大学医学部アイソトープ分館、(2)名古屋大学医学部微生物・免疫、(3)名古屋大学医学部整形外科、(4)名古屋大学医学部歯科口腔外科

免疫B細胞は抗原に反応し、抗体を産生する。加齢に伴い特異的抗体産生が低下することが知られているが、B細胞分化のどの段階が障害されるか興味深い。また、B細胞分化過程の異常によって悪性腫瘍など様々な疾患が引き起こされる。このことからB細胞の分化について調べることは臨床的にも重要である。現在までB細胞の分化について多くの研究がなされてきた。しかし、加齢に伴う骨髄、脾臓での各分化段階のB細胞についての免疫組織化学的研究は少ない。今回、われわれは加齢に伴う骨髄、脾臓中のマウスB細胞の分化について免疫組織化学的手法を用いて観察を行った。その結果、以下のことを見出した。

- (1)CD117 陽性細胞とCD25 陽性細胞は骨髄中に散在している。IgM 陽性細胞と IgM+IgD 陽性細胞は骨周辺部に偏在しているものもある。加齢に伴い、これらの細胞は髄質中心部から減少する。
- (2)脾臓での IgM+IgD 陽性細胞はリンパ濾胞に存在している。一方で IgM 陽性細胞と CD138+IgM 陽性細胞は脾臓辺縁部に位置している。加齢に伴い、リンパ濾胞の構造が希薄になり、これらの細胞は減少する。

Keywords: B 細胞、分化、骨髄、脾臓、免疫組織化学

0-2 老化促進モデルマウス、SAMP8/TaSlc における脾臓 TCR^{int} 細胞の増加と胸腺機能との関連性の検討

西村泰光¹⁾、和田安彦²⁾、西池珠子³⁾、井口弘¹⁾、若林一郎³⁾、三浦由恵¹⁾、大槻剛巳¹⁾、細川友秀⁴⁾
1)川崎医科大学 衛生学、2)関西労災病院 医療情報部、3)大手前短期大学 ライフデザイン総合学科、4)兵庫県産業保険推進センター、5)兵庫医科大学 環境予防医学、6)京都教育大学 生命科学

【緒言】老化促進モデルマウスの1系統 SAMP8 は寿命短縮、学習記憶障害、免疫機能低下を示す。昨年、SAMP8 では脾臓中に CD3^{intermediate}CD122⁺ の特徴を持つ胸腺外分化 T 細胞 (TCR^{int} 細胞) が加齢に伴い著しく増加すること、同時に胸腺退縮が早いことを報告した。今回、胸腺除去を行い、SAMP8 の TCR^{int} 細胞数増加が直接的・間接的に胸腺機能と関連する可能性を検討した。【材料と方法】4 週齢雄性 SAMP8/TaSlc 及び C3H/HeSlc に Nembutal 麻酔下で胸腺除去 (TMX) 又は疑似手術 (sham) を行った。17 週後、flow cytometry により脾臓中の各細胞の比率を測定し脾臓細胞より脾臓あたりの各細胞数を求めた。【結果】SAMP8、C3H/He 共に TMX 群で CD3^{high}CD122⁺ の胸腺内分化 T 細胞 (TCR^{int} 細胞) 数が顕著に減少していたが、TCR^{int} 細胞数は sham 群と差が無かった。SAMP8 では TMX 群、sham 群ともに TCR^{int} 細胞数が著しく多いが、両者に差は無かった。さらに、SAMP8 では CD8⁺ TCR^{int} 細胞が顕著に多いが、CD4⁺ TCR^{int} 細胞は C3H/He と同様に少なかった。【考察】SAMP8、C3H/He 両系統において、胸腺除去は TCR^{int} 細胞数に影響しなかった。このことは SAMP8 における脾臓 CD8⁺ TCR^{int} 細胞数の増加は胸腺機能と関連せず独立した現象であることを示す。C3H/He では加齢に伴う TCR^{int} 細胞数の増加は緩やかである。胸腺外分化 T 細胞の著しい増加が SAMP8 の免疫機能低下に関与している可能性が示唆される。

Keywords:

SAM mice, immunosenescence, extrathymic T cell, thymus

0-3 ミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生するモデル動物 (*mev-1* マウス) の作製と解析

石井恭正、宮沢正樹、小野寺章、安田佳代、石井直明

東海大学・医学部・分子生命科学

過剰な生体内酸化ストレスは、老化現象を促進するとともに、癌、神経変性疾患、生活習慣病などの老年性疾患を引き起こすことが報告されている。我々は、これまでに、*C. elegans*、*mev-1* 変異株をもちいた研究から、ミトコンドリア内部から過剰発生する活性酸素が、短寿命や神経変性疾患の原因となることを報告してきた。現在、この線虫 *mev-1* 変異株と同様にミトコンドリア電子伝達系複合体 II SDHC サブユニットのアミノ酸変異 (V69E) を有する SDHC E69 細胞株および、*mev-1* コンディショナルトランスジェニックマウスを樹立し、ミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生するモデル動物の作成にせいでこうした。本大会では、このマウスの表現型解析の結果を中心に生体内酸化ストレスの生体への影響について報告する。

mev-1 コンディショナルトランスジェニックマウスには、テトラサイクリンシステムをもちい、生体成熟後に変異遺伝子の発現を誘導することで、ミトコンドリアからの活性酸素発生量を制御することが可能なモデル動物とし、現在解析を進めている。一方で、変異遺伝子の発現が、テトラサイクリン依存的に制御されない *mev-1* マウスでは、その発現量に応じて胚性致死や早老化現象の表現型が確認された。その表現型には、脊椎の異常な湾曲や視覚異常、筋肉の組織異常、さらには卵子成熟の不安定化から不妊の症状が確認された。以上の研究結果から、哺乳動物における生体内酸化ストレスの生体への影響を、線虫と比較し、細胞レベル、個体レベルでの相違について議論する。

Keywords: 活性酸素、ミトコンドリア、コンディショナルトランスジェニックマウス、テトラサイクリンシステム、老化

0-4 酸化ストレスと老化におけるミトコンドリア融合の役割

安田佳代¹⁾ Philip Hartman²⁾ 須田 齋³⁾ 正山哲嗣³⁾ 赤塚明¹⁾ 石井恭正¹⁾ 石井直明¹⁾

¹⁾東海大学医学部 ²⁾Texas Christian Univ. ³⁾東海大学開発工学部

ミトコンドリアは、老化の原因として注目されているエネルギー代謝とその副産物である活性酸素の両者に関わっている細胞内小器官である。*C. elegans* の酸素感受性短寿命突然変異体 *mev-1* では、ミトコンドリアから過剰に産生される活性酸素によって、ミトコンドリアの膨化様の融合が多く観察された。さらに昨年の本大会において、このミトコンドリアの膨化様の融合は老齢野生株でもみられること、加齢とともにミトコンドリアの機能低下およびエネルギー代謝が低下することを報告してきた。ミトコンドリアは、融合・分裂を繰り返すことで恒常性を保っていると言われていた。そこでミトコンドリアの融合が酸化ストレスと老化に影響を及ぼすかどうか検討するため、今回はミトコンドリア融合に関与している遺伝子の一つである *fzo-1* の変異体を用い、*mev-1* 変異体との二重変異体を作製し、*mev-1* 変異体と二重変異体の酸素感受性および寿命について検討した。その結果、二重変異体は酸素に対して発現期で高感受性となった。しかし、寿命においては *mev-1* 変異体より短くなることはなかった。さらに、これらの変異体の成虫段階での酸素消費量を測定したところ、二重変異体では他の変異体よりエネルギー代謝が低下していることが分かった。

以上の結果から、融合を阻害する *fzo-1* 遺伝子が寿命短縮には直接関係がなかったが、これはエネルギー代謝が低下しているために寿命を短縮させることはなかったのではないかと考えられる。そして、代謝が活発な発生段階では、融合の阻害が酸素ストレスに高感受性をもたらしたのではないかと考察される。

Keyword: Mitochondria fusion, oxidative stress, aging, *C. elegans*

0-5 RNA 干渉ライブラリーを用いたマウス線維芽細胞酸化ストレス耐性スクリーニング

長岡(安田)利栄^{1,2}、松尾直毅²、Brian Perkins²、Mark Mayford²、¹大阪大学生命機能研究科、² Department of Cell Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla,

酸化ストレスを与えられた細胞は、内在の修復、防御機構によりストレスに適応し生存するか、細胞死を引き起こすかの選択を迫られる。一般に、この生死選択は細胞内に蓄積したダメージの深刻さに応じているとされるが、いったい何がダメージの度合いを感受し最終決断を下すのか殆ど分かっていない。しかしながらこの生死選択の不備は、多くの加齢性疾患の発症や進行に関与していると報告されている重要な問題である。本研究では、既存の酸化反応系や細胞死シグナルに捕らわれず酸化ストレスによる細胞死誘導の分子メカニズムを解明するために、培養細胞における酸化ストレス耐性スクリーニングを行った。ランダムな遺伝子機能抑制を行うために、15,000 クローンを含むマウス cDNA ライブラリーをもとに、いくつかの酵素と PCR 反応を組み合わせることで short hairpin RNA (shRNA) ライブラリーを作製した。ライブラリーはレトロウイルスを介して細胞に導入し、様々な遺伝子機能抑制をもつ細胞集団に対し、致死量の *tert*-Butylhydroperoxide (t-BHP) を繰り返し与えることにより、酸化ストレス耐性が上昇している細胞を選別した。生存した細胞からウイルス挿入部分を回収し塩基配列を解析したところ、細胞死誘導活性をもつ遺伝子を含むいくつかの候補遺伝子に対する shRNA が同定できた。これらのうち、最も強く t-BHP による細胞死から細胞を保護する shRNA は、ビタミン A の代謝酵素の一つを mRNA レベルで抑制していた。同様の作用が、同遺伝子の異なる部分を標的とする shRNA によってもひきおこされたことから、メカニズムは不明であるが、この酵素が t-BHP によって引き起こされる細胞死に必要であることが示唆される。

0-7 細胞老化関連遺伝子 TARSH/Abi3bp の機能解析

上川奈都子・若生武・杉本昌隆・丸山光生(国立長寿医療センター・老化機構研究部)

[背景]

我々は、マウス胎児繊維芽細胞(MEF)の細胞老化に伴って遺伝子発現が促進する遺伝子として TARSH /Abi3b を同定した。TARSH 遺伝子は2つの fibronectin type IIIドメイン及び複数の SH3ドメイン結合部位を持つ約 130kDa のタンパクをコードしており、その機能は未知である。近年、生体内において細胞老化が癌抑制機構として機能しているという知見が示されていることから、本研究では TARSH の生理的機能について、特に細胞周期制御・細胞癌化との関連に着目して解析を行った。

[方法・結果]

定量 RT-PCR 法で TARSH 遺伝子発現について解析した。TARSH は MEF 細胞老化に伴って発現が促進される一方、ヒト癌由来細胞株や肺癌腫瘍部では正常細胞と比較して著しく転写が抑制されており、この事実より TARSH が細胞老化と発癌抑制の両方で機能している可能性が強く示唆された。さらに TARSH の機能を調べるために shRNA を用いて MEF における TARSH 遺伝子発現を抑制したところ、細胞老化が誘導され、細胞増殖が停止した。この結果から、我々は TARSH が正常細胞の細胞周期の進行に重要な役割を果たしている可能性を考えている。現在、TARSH 遺伝子発現抑制株による細胞増殖能低下に関与する分子機構について解析を行い、TARSH の分子機能と細胞老化、さらには個体老化につながる接点を検討している。

Keywords: 細胞老化・TARSH/Abi3bp・細胞周期

0-6 加齢に伴う活性酸素生成の変化：リアルタイムバイオラジオグラフィによる解析

佐々木徹、田原正一、海野けい子¹、金子孝夫
都老人研・老化制御マーカー、¹静岡県大薬・生物薬品化学

[目的] 昨年の本会では、加齢促進モデルマウス(SAMP-10)および C57BL/6 マウスの脳生切片において、 O_2^- 依存性化学発光が加齢に伴い著しく増強することを報告した。本研究は、この増強が加齢に伴う普遍的現象が明らかにする目的で、同様の検討を Wistar ラット、ハトより作成した脳生組織について行った。また、 O_2^- の消去に関わる SOD の酵素活性の加齢変化についても調べた。

[方法] C57BL/6 マウス、Wistar およびハトの脳組織生切片を作成、Lucigenin を含む Krebs-Ringer 液中で酸素供給下、暗箱内で培養した。15 分間の無酸素(窒素)処理ののち、再度酸素供給下で 120 分間培養した。この間、切片から放出される微弱光を標記システムで二次元分子画像として実時間で収集、解析した。SOD の酵素活性は、脳組織ホモジネート上清について亜硝酸法で測定した。

[結果および考察] 脳生組織の化学発光は、酸素存在下(定常状態)に再酸素処理時に増強した。定常、再酸素下いずれにおいても、化学発光は加齢に伴って増加した。ハトの化学発光はげっ歯類に比べ低値であった。一方、SOD 酵素活性レベルには加齢に伴う有意な変化は認められなかった。一昨年の本会で、SOD 欠失により O_2^- 依存性化学発光が増加することを報告した。しかし、今回の化学発光の増強は SOD 酵素活性の変化では説明が困難であり、活性酸素の生成そのものが加齢に伴い増加することを示していると考えられる。また、この現象は生物に普遍的なものであると推察された。今後、活性酸素が増加した場所、機序と意味に関する研究を進めたい。

Keywords: 加齢、酸化ストレス、リアルタイムバイオラジオグラフィ

0-8 TIG-1 細胞に認められた PDL 増加に伴う X 染色体の不安定化

仲村賢一¹、近藤 昊²、下村七生貴¹、石井章雄¹、神森 眞^{1,3}、田久保海峯¹ (¹ 東京都老人研・老年病のゲノム、² 人間総合科学大学・人間科学部、³ 東京大・病院・乳腺内分泌外科)

[目的] 染色体末端に存在するテロメアは TTAGGG の 6 塩基の繰り返し配列で、染色体末端の安定や癒合の防止の役割をにない、細胞分裂に伴い短縮する。昨年報告した TIG-1 培養細胞で、PDL の増加に伴い認められたテロメア短縮と関連する染色体の変化の有無を明らかにすることを目的とした。

[材料と方法] 東京都老人総合研究所で樹立したヒト胎児肺組織由来の線維芽細胞 (TIG-1) の 60、62PDL について、Q-FISH 法と X 染色体動原体 FISH 法により X 染色体の TAS (Telomere Association) とその欠失 (XO) について検討した。Q-FISH 法ではテロメアを蛍光標識した PNA プローブを用いて染色し、高感度 CCD カメラを装着した蛍光顕微鏡にて撮影し各 PDL で 16 および 21 メタフェースについて TAS の有無について検討した。また、X 染色体の欠失については 62PDL の 1000 間期細胞について解析した。

[結果] TAS は 60PD では 12.5%、62PD では 19% の頻度で認められた。X 染色体との TAS は 1p、3q、9q、21q で認められた。また、X 染色体の欠失は 62PDL で 7.5% に認められた。

[考察] 昨年報告したように X 染色体長腕は一貫して各 PDL で有意にテロメア短縮しており、今回の結果から PDL 増加に伴うテロメア短縮により染色体の不安定化 (TAS、欠失) が生じることが明らかになった。

Key-words: telomere, X-chromosome, TAS

0-9 ヒト細胞の寿命決定における
テロメア結合タンパク質 TRF1 の役割について

中西真人・岡部潤
産業技術総合研究所・ジーンファンクション研究センター

正常ヒト線維芽細胞では分裂ごとにテロメア DNA が短くなり、一定の長さに達すると細胞老化が起こることから、テロメア DNA の長さが細胞寿命を決定しているという「テロメア仮説」が提唱されている。しかし、ヒト不死化細胞にはテロメア DNA が短いものも多く、この仮説を支える分子機盤は不明である。我々は、Telomere Seeding という手法を用いて細胞内でテロメア構造を維持する活性を定量的に測定し、テロメア DNA に結合する2つのタンパク質 (TR1, TRF2) のうち、TRF1 の発現量が細胞内のテロメア構造を維持活性と強い相関があることを見いだした。TRF1 はこれまでテロメア DNA の長さの調節因子とされてきたが、我々はさまざまなヒト細胞を解析した結果、TRF1 の発現量はテロメア DNA の長さやテロメラーゼ活性とは相関がまったく認められないが、不死化細胞では常に正常細胞の10倍以上高いことを見いだした。また、ヒト初代培養線維芽細胞では TRF1 を核マトリックスに結合する活性も非常に低いことも発見している。以上の事実から、我々は、発生初期胚や幹細胞などの細胞寿命が無限である細胞では、テロメア DNA を延ばす *cis* 因子 (テロメラーゼや ALT 機構) とテロメア DNA に結合してテロメア構造を維持する *trans* 因子 (TRF1 と核マトリックス上の TRF1 結合因子) が共に誘導されており、細胞分化の過程でこの両者が同時に抑制されることにより寿命が有限になり、この抑制機構が破綻すると細胞の不死化 (癌化) が起こるといって「細胞寿命二重支配仮説」を提唱している。講演ではこれまでに得られた結果と展望を紹介する。

Keywords: TRF1, テロメア, 細胞寿命, 細胞不死化

0-10 暑熱寒冷順化ラットの体温調節能力
1. 若齢および成熟ラットの場合

野本恵美¹、齋藤武斗²、石渡貴之³、田中英登¹、小谷泰則⁵、村上秀明⁶、相原康二⁷、野本茂樹¹(¹都老人研、²ダイキン、³東京福祉大、⁴横浜国大、⁵東京工大、⁶桐蔭横浜大、⁷首都大)

【目的】成人の平均体温が 36.89℃ に対して老人の平均体温は 36.66℃ と低い値を示す (入来ら、1975)。老人は体温調節能力が低下しているといわれている一方、最近では体温が 35℃ 台の低体温児が社会問題になっている。地球温暖化が進む中、今後ヒトの体温調節能力がどのように変化していくかが重要な社会問題となってくる。本研究では 4 週間 23℃ の一定環境温度で飼育したラット (対照群) と昼 32℃/夜 5℃ の暑熱寒冷環境温度で飼育したラット (暑熱寒冷群) の体温調節能力を比較検討した。今回は特に若齢ラットと成熟ラットの結果を報告する。

【方法】実験には Wistar 系雄ラットを用いた。生後 5 週～9 週目まで (若齢群) と生後 17 週～21 週目まで (成熟群) の 4 週間、各環境温度で飼育した。飼育開始する 1 週間前に体温と心拍数を測定するためにテレメーター送信機を腹腔内に慢性的に埋め込んだ。4 週間の順化後に 0℃～30℃ の範囲で環境温度を変動させ、体温と心拍数の変動を測定し各群の体温調節能力を調べた。

【結果および考察】4 週間の順化後、環境温度を 0℃～30℃ の範囲で変動させたとき、若齢群の体温の変動は成熟群より小さかった。また成熟群では特に寒冷環境において暑熱寒冷順化群の体温の変動が対照群より小さかった。心拍数の変動は暑熱寒冷群の方が対照群より小さかった。以上の結果から、若齢群は成熟群より体温を一定に保つ能力に優れていることが明らかになった。また暑熱寒冷順化群の方が対照群より体温および心拍数を一定に保つ能力が優れていることが明らかになった。すなわち体温を一定に保つためには快適環境ではなく、暑熱環境や寒冷環境に順化することが重要であることが分かった。

Keywords: 体温調節, 暑熱寒冷順化, 体温, 心拍数, ラット

0-11 熟年世代に対する食事指導と
インターバル速歩トレーニングの併用効果

澤下仁子¹、鬼塚さやか^{2,3}、源野広和³、立石紀彦¹、飯野文枝¹、石川忍⁵、長岩利幸³、村上武雄¹、関洋一¹、花岡正明³、濱澄男⁶、能勢博^{2,3}、樋口京一¹
¹信州大・院・医・加齢生物学、²NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター、³信州大・院・医・スポーツ医科学、⁴サニーヘルス(株)、⁵キッセイウエルコム(株)、⁶(株)アムネット

【目的】生活習慣病発症の危険因子のひとつである肥満に着目し、熟年世代の肥満～肥満予備軍に対してフォーミュラ食品を用いた食事指導とインターバル速歩トレーニングを16週間実施し、減量効果、血圧変化、筋力量や血中脂質量等の変化を運動指導のみの群と比較した。【方法】長野県松本市在住の40歳以上70歳未満、BMI 23.6以上、試験遂行に医学的問題が無く、試験についての同意が得られた男女84名を、無作為に「運動指導のみ(Cont群)」あるいは「食事+運動指導(MD群)」に割り付けた。両群とも、目標運動量を個別に設定したインターバル速歩トレーニングを実施するとともに、2週間毎に運動指導を行った。MD群には、さらに、昼食あるいは夕食をフォーミュラ食品に置き換え、残り2食を通常食とした食事制限を施行し、2週間毎の食事指導も行った。【結果】MD群の摂取カロリーは男女ともCont群の約87%で、総トレーニング量に有意な差は無かった。また、16週間の試験終了時には、両群いずれもBMIや血圧、血中脂質量・空腹時血糖値に明らかな改善がみられ、特に、MD群はCont群よりもBMI減少率が大きく、試験期間を含む半年間に要した医療費も有意に少なかった。さらに、MD群の女性は、Cont群と比べ、最高血圧の改善効果も有意に高かった。また、試験開始時に血圧が基準値を超えた被験者 (最高: 140 mmHg、最低: 90 mmHg) では、MD群の方がCont群よりもBMI、血圧のいずれも改善効果が高かった。【結論】食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用により肥満を効果的に改善し、高い一次予防効果が期待できる。

Key words: 食事制限, インターバル速歩トレーニング, 肥満, 熟年世代

0-12 カロリー制限による放射線誘発骨髄性白血病の減少
と標的細胞 (造血幹細胞) の動態

吉田 和子¹、平林 容子²、井上 達²

¹放射線医学総合研究所・放射線障害研究グループ

²国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター

放射線誘発骨髄性白血病はカロリー制限により減少し、その上カロリー制限により白血病の標的細胞であると考えられる造血幹細胞も減少する。そこで、カロリー制限と放射線照射のタイミングと造血幹細胞の動態について検討した。

骨髄性白血病の誘発は C3H/He マウスを用い、10 週齢で 3Gy 全身照射を行った。照射前の 6 週齢から全生涯 [3Gy-CalR(through)]・照射 (10 週齢) 後全生涯 [3Gy-CalR(post)]・照射前の 6 週から照射直前 (10 週齢) までの 4 週間のみ [3Gy-CalR(pre)] の 3 種の制限方法で検討した。3Gy-CalR(through) と 3Gy-CalR(post) の骨髄性白血病の発症率は対照食群 [3Gy-CalR(-)] と比べて有意に減少した (8.0%, 9.5% vs 22.2%)。3Gy-CalR(pre) は照射時に造血幹細胞が減少し、発症率も 16.3% と減少傾向したにもかかわらず、統計学的な有意差は認められなかった。脾臓あたりの造血幹細胞数は、対照食から制限食に変えた 4 週間後には 6 週より制限食群と同レベルまで減少し、制限食から対照食群に変えた群では 4 週間後には対照群とほぼ同レベルまで増加した。白血病が発症し始める 50 週齢での造血幹細胞の細胞周期内分画を脾臓における BUUV Assay 法で調べると、対照食の 31.4% に対して制限食群では 17.7% で、制限食群では造血幹細胞の回転が緩慢であった。これらの結果よりカロリー制限は白血病発症にて、3Gy-CalR(post) では epigenetic な、3Gy-CalR(pre) では genotoxic な、そして 3Gy-CalR(through) では両方から白血病発症を修飾すると考えられた。

Keywords: Caloric Restriction, Radiation-induced Leukemia, Hematopoietic Stem/Progenitor Cell, Cell Cycle

0-13 Zucker obese ラットに対する長期カロリー制限 による代謝関連転写因子とアディポサイトカイン 発現変化の解析

千葉卓哉、中山正彦、井上大輔、小松利光、林 洋子、林田隆広、山座
治義、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 探索病理学

【序論】食餌カロリー制限(Caloric Restriction; CR)は、老化および老化病態を抑制する最も確実な介入法であり、insulin/IGF-1 系、脂肪組織由来因子(アディポサイトカイン)および神経内分泌系因子の関与が示唆されている。今回我々は、レプチン受容体欠損による肥満モデルである Zucker ラット(Slc:Zucker-fa/fa)および対照ラット(Slc:Zucker-+/+)を6週齢よりALおよびCR(ALの70%)下において6ヶ月間飼育し、血清生化学、アディポサイトカイン発現、および肝臓における代謝関連転写因子の活性とその標的遺伝子の発現を解析した。CR 群は1日おきに給餌し、給餌後をCR1、給餌前をCR2とした。【結果および考察】CRはfa/fa ラットの1) 血中 insulin、グルコース濃度を低下させた。2) 体重を減少させたが、体重当たりの白色脂肪組織重量は有意に高かった。3) CR2 における血中の遊離脂肪酸(FFA)、ケトン体レベルが+/+と比較して有意に高かった。4) 血中 adiponectin を増加させ、TNF- α を減少させた。肝臓における PGC-1 α mRNA の発現は fa/fa, +/+とも CR1, 2 で増加したが、その標的遺伝子の発現は CR2 で高く、CR1 では抑制されていた。Foxo1 の転写活性は CR により変化しなかった。fa/fa は CR 下においても脂肪貯蔵能が高いことが考えられ、このことが CR2 における血中 FFA、ケトン体レベルの増加に関与していると考えられる。insulin 分泌を抑制し、脂肪酸の β 酸化を活性化することが CR による代謝の適応に重要な働きを持つと考えられ、代謝疾患の発症を抑制できれば、fa/fa ラットのような儉約遺伝子型をもつ動物の方が CR の効果がより強く表れる可能性が考えられる。

Keywords: caloric restriction, adipocytokine, PGC-1 α , Foxo1

口頭発表 2 日目

0-14 A-beta によるミクログリアからの matrix metalloproteinases (MMPs) の産生

伊藤佐知子, 羽根田正隆, 石田佳幸, 磯部健一
名古屋大学医学部分子細胞免疫学、アイトープセンター

Alzheimer 病では matrix metalloproteinases (MMPs) の発現が亢進していることが報告されている。MMP の Alzheimer 病における役割として、これまで MMP-9 が神経細胞から産生され、A-beta を分解することが報告されている。一方 MMPs はマクローファージ系細胞から炎症性刺激で放出され、動脈硬化、慢性関節リュウマチの病態形成に関与することが示唆されている。私たちは A-beta 刺激でミクログリアが炎症性サイトカイン、ケモカインを分泌することを報告してきた。今回は A-beta 刺激によるミクログリアからの MMPs 産生とそのシグナル伝達系を解析したので報告する。

(方法)

ミクログリア細胞 Ra2 を 10 μ M A β 1-42 で 16 時間刺激し、MMP の発現の変化を real-time PCR により調べた。MMP の発現へのシグナル伝達系を各種阻害物質、各種リン酸化抗体により検索した。

(結果)

A β 1-42 の刺激で MMP2, 3, 8, 9, 12, 13, 20 の発現を調べたところ、MMP3, MMP12, MMP13 が 10 倍以上上昇した。A β 25-35 でも A β 1-42 に比べて弱いがこれらの発現が上昇した。これらの発現はシグナル伝達系抑制剤の投与実験から、ERK と PI3K/Akt の系を通ることが判明した。

(考察)

マクローファージ系細胞刺激により発現が上昇することが知られている MMP が A β 1-42 で強く上昇することを見いだした。これが、老人斑の形成に関与することが考えられる。

0-15 β アミロイドによる bHLH 因子の発現変化は神経幹細胞死を誘導する

内口洋子 中野俊一郎 五味不二也
東京都老人総合研究所 老年病ゲノムチーム

Neurogenesis is enhanced in AD or a mutant APP transgenic mouse hippocampus. However, A beta action on neural stem cells has been controversial. Mash1 and Olig2 are bHLH factors, which are involved in initiating neurogenesis or gliogenesis. The regulation of these bHLH factors in AD has not known yet. Here we have demonstrated the up-regulation of Mash1 and down-regulation of Olig2 in cerebral cortical cultures treated with A beta1-42. Mash1 was expressed in nestin-positive immature cells but was rarely expressed in postmitotic neurons. Majority of Mash1-positive cells in the cortical culture co-expressed Olig2. A beta increased in the proportion of Olig2-negative/ mash1+ cells, which are lineage marker-negative cells. These results indicate that A beta may alter the gene expression of Mash1 and Olig2 in immature cells, possibly neural stem cells. Overexpression of Mash1 in neurosphere cells enhanced neural differentiation. However, co-expression of Mash1 and Olig2 siRNA in neurosphere cells accelerated cell death. These results indicate that A beta may alter the bHLH gene expression in neural stem cells toward cell death.

Keywords: Beta amyloid, bHLH factor, Neurogenesis, Cell death, Neural stem cells

0-16 脳に対する緑茶カテキンの老化抑制作用の検討

○吉田啓俊¹⁾, 海野けい子¹⁾, 岸戸崇浩²⁾, 丁場大輔¹⁾, 福富理恵¹⁾, 菊永奈徳美¹⁾, 松本一朗³⁾, 阿部啓子³⁾, 星野 稔¹⁾ (1)静岡県立大・薬・生物薬品化学, (2)静岡県立大・薬・医薬生命化学, (3)東京大・院・農学生命科学)

老化の一因として、酸化ストレスの重要性が指摘されている。我々は脳の酸化傷害による老化への影響に着目し、強力な抗酸化作用を有する緑茶カテキンについて、その継続的な摂取による脳内酸化傷害の防御効果、抗酸化酵素活性に対する影響、ならびに網羅的な遺伝子レベルでの発現変化について検討を行った。

実験には、加齢に伴い脳が萎縮し脳機能低下を示す老化促進モデルマウス(SAMP10)を用いた。緑茶カテキンは Polyphenon 70S(三井農林(株))を 0.02%の濃度でマウスに自由摂取させた。対照群には水を与えた。遺伝子解析には Affimetrix 社の GeneChip を用いた。

SAMP10 の脳内では、加齢に伴いカルボニル化タンパク質が有意に増加していたが、緑茶カテキンを摂取させた老齢マウスでは、タンパク質の酸化傷害が顕著に低下していた。また抗酸化酵素の中で、Glutathione peroxidase の活性が加齢に伴い有意に低下していたが、緑茶カテキン摂取群では活性低下が抑制されていた。これらのことから、緑茶カテキン摂取群では加齢に伴う酸化ストレスの増加が抑制されることが、脳の萎縮、学習・記憶能低下等の脳の老化を抑制する一因であると考えられる。また網羅的な遺伝子解析を行った結果、緑茶カテキン摂取群の嗅脳、海馬において対照群に比べ、発現が有意に増加あるいは減少した遺伝子が確認され、緑茶カテキン摂取が脳内遺伝子発現に影響を及ぼしていることが明らかとなった。

【Keywords】 緑茶カテキン、SAMP10、脳、酸化傷害、抗酸化酵素、マイクロアレイ

0-17 SH-SY5Y 細胞においてシトルリン化タンパク質が酸化ストレスにより誘導される

山本尚吾^{1,2)}, 浦野四郎²⁾, 久保幸徳¹⁾, 丸山直記¹⁾, 石神昭人¹⁾

1) 東京都老人総合研究所・老化制御, 2) 芝浦工業大学・生物化学

【目的】アルツハイマー病(AD)患者の脳にはシトルリン化タンパク質が多く蓄積している¹⁾。シトルリン化タンパク質の蓄積は、アルツハイマー病発症の原因となる可能性がある。そこで、シトルリン化タンパク質の生成・蓄積機構の解明が、アルツハイマー病発症メカニズムの解明に繋がると考えた。本研究では、SH-SY5Y 細胞(ヒトドーパミン神経芽細胞腫)に酸化ストレスを与えてシトルリン化タンパク質の動態を解析した。

【方法】SH-SY5Y 細胞に 6-hydroxydopamine (6-OHDA)を加え、酸化ストレスを与えた。24 時間後に細胞を回収し、ウェスタン法によりシトルリン化タンパク質を検出した。

【結果と考察】6-OHDA により酸化ストレスを与えた細胞では、シトルリン化タンパク質が増加した。これは、酸化ストレスによりタンパク質シトルリン化酵素(PAD; peptidylarginine deiminase)が活性化されたためと考えられる。これらの結果は、酸化ストレスにより PAD が活性化され、そこで生じたシトルリン化タンパク質は神経細胞に障害を与え、細胞死を誘導すると考えられる。このように、PAD の活性化は神経細胞死に深く関与している可能性が高い。

1) Ishigami A et al., *J. Neurosci. Res.* 80:120-128 (2005)

Keywords: Alzheimer's disease, Citrullinated protein, Oxidative stress, PAD

0-18 SMP30 はアスコルビン酸生成経路の重要な酵素である

佐藤安訓¹⁾, 井内陽子²⁾, 錦見盛光²⁾, 後藤佐多良³⁾, 丸山直記¹⁾, 石神昭人¹⁾ (1) 東京都老人総合研究所・老化制御 (2) 和歌山県立医科大学・生化学 (3) 東邦大学・薬学部・生化学

【目的】 SMP30 (Senescence Marker Protein-30/SMP30) は加齢に伴い肝臓や腎臓で減少する蛋白質として同定した。しかし、その本来の生体内機能は永らく不明であった。最近、我々は SMP30 がグルコノラクトナーゼ (GNL) であることを明らかにした。GNL は L-アスコルビン酸 (ビタミン C) 生成経路の最後から2番目に位置する酵素である。本研究では、SMP30 が *in vivo* で L-アスコルビン酸生成経路に働く重要な酵素であることを SMP30 ノックアウトマウスを用いて証明した¹⁾。

【方法】 SMP30 ノックアウトマウス (SMP30Y^{-/-}) と野生型マウス (SMP30Y^{+/+}) を生後 30 日で離乳させ、通常のマウス飼料を 10 日間与えて飼育した。その後、ビタミン C 欠乏食を与えた。肝臓、腎臓、血漿中のビタミン C 含量はヒドラジン法を用いた HPLC により定量した。

【結果および考察】 ビタミン C 欠乏食を与えて飼育した結果、SMP30 ノックアウトマウスは体重減少、歩行異常を示した。歩行異常を示した SMP30 ノックアウトマウスの X 線像では下肢の骨折と rachitic rosary (くる病じゆず) など典型的な壊血病の症状を認めた。また、SMP30 ノックアウトマウスは生後 175 日まですべて死亡した。死亡時の SMP30 ノックアウトマウス肝臓、腎臓、血漿中のビタミン C 含量は野生型マウスの 1.6% 以下に低下していた。以上の結果から、SMP30 が L-アスコルビン酸 (ビタミン C) 生成に必須の酵素であることが明らかになった。

1) *PNAS* 103 5723-5728 (2006)

Keywords: SMP30, gluconolactonase, ascorbic acid, scurvy

0-20 ダイオキシンの周生期曝露に対するラットの寿命への影響について

新海 正¹⁾, 小林 悟¹⁾, 浦野四郎²⁾, 吉澤 京^{1,2)}, 中島幸一^{1,2)}, 石丸昌彦¹⁾ (1) 都老人研, (2) 芝浦工大, (3) 桜美林大学)

【目的】 ダイオキシンは強い毒性を示すと同時に内分泌攪乱作用を持った化学物質としても知られ、ヒトを含む生物への影響が懸念されている。しかし、このようなダイオキシンの影響を最も受けやすい周生期での曝露とそれに係属した老化や寿命に観点をおいた研究報告はなく、ダイオキシンと老化・寿命との関係について不明な点が多い。そこで、これらを明らかにする目的で、周生期にダイオキシンを曝露したラットを継続飼育し、寿命について検討した。

【方法】 妊娠後期の Wistar ラットに急性毒性を示さない量のダイオキシン (TCDD: 体重 1kg あたり 100ng) を単回皮下投与し、生まれた新生仔ラットを実験に用いた。この仔ラットは母親の胎内では胎盤を通して、出生後は母乳により、TCDD 曝露を離乳期まで継続して受けることになる。その後、これらの動物を自由摂水・摂餌の条件下で雌雄別々に自然死に至るまで飼育し、寿命を計測した。また、体重変化、外部形態や行動の異常、死亡原因についても解析した。

【結果および考察】 TCDD 投与により雄の平均寿命は 92.5 ± 36.9 週齢、雌は 119.9 ± 15.4 月齢となった。対照として東京都老人総合研究所での同系統のラットの飼育結果を参照し、平均寿命は雄で 115.7 ± 20.1 週齢、雌で 132.0 ± 22.4 月齢のデータを得た。両者を比較すると、TCDD 曝露により雄は 20%、雌は 9% の寿命短縮が認められた。また、TCDD 処理群では雌の体重低下が見られたが、雄では増減は認められなかった。さらに、処理群では下痢等の消化器系の異常、皮膚異常、腫瘍等の外部形態的異常もあらわれた。これらの結果は、ラットへの TCDD の周生期曝露が、その後の成長、成熟および老化に影響をあたえ、寿命の短縮に関与していることを示している。

Keywords: ダイオキシン, 寿命, ラット

0-19 グルコノラクトナーゼ活性は加齢で低下する

近藤嘉高^{1,2)}, 岩佐嘉洋^{1,2)}, 島田信子¹⁾, 福田貞¹⁾, 下門頼太郎²⁾, 丸山直記¹⁾, 石神昭人¹⁾
1 都・老人研 老化制御 2 東京医歯大・院 血流制御内科学

【目的】 SMP30 は、ラット肝臓のプロテオーム解析により、雌雄共に加齢で減少するタンパク質として発見した。我々は最近、SMP30 がビタミン C (VC) 生成経路で働く唯一のグルコノラクトナーゼ (GNL) であることを証明した¹⁾。即ち、SMP30 と GNL は同一である。本研究では、老化と GNL の関係を明らかにするため、肝臓における GNL 活性の加齢変化を検討した。

【方法】 Fischer (F344) ラットメス (3, 6, 12, 24, 27-30 ヶ月齢、各 5 匹) の肝臓をホモジナイズし、可溶性分画を調製した。GNL 活性は、D-グルコノ-8-ラク톤を基質に比色定量法で測定した。GNL タンパク質は、ウェスタンブロット解析により、精製 SMP30 を用いた検量線から定量した。

【結果および考察】 肝臓中の GNL 活性は、3 ヶ月齢で最も高い値を示した。また、3 ヶ月齢での GNL 活性値を 100% とすると、6 ヶ月齢では 86%、12 ヶ月齢では 73%、24 ヶ月齢では 56% と 3 ヶ月齢に比べて加齢で有意に減少した。また、27-30 ヶ月齢では 24 ヶ月齢と同程度の活性を示した。一方、肝臓中の GNL (SMP30) タンパク質量は、3 ヶ月齢で最も多く、27-30 ヶ月齢まで加齢に伴い減少した。27-30 ヶ月齢では 3 ヶ月齢の 65% であった。加齢に伴う GNL (SMP30) タンパク質量と GNL 活性の減少は、ほぼ一致した。

1) *PNAS* 103 5723-5728 (2006)

Keywords: SMP30, gluconolactonase, vitamin C

0-21 宇宙空間における線虫の老化

本田陽子¹⁾, 東端晃²⁾, 石岡憲昭²⁾, 田中雅嗣¹⁾, 本田修二¹⁾
1 東京都老人総合研究所健康長寿ゲノム探索, 2 宇宙航空研究開発機構

宇宙においては地上とは異なるスペクトル・線量の放射線や微小重力に曝露されることになる。このような地上とは異なる環境における老化過程を見ることは老化機構に関する理解を深めることになると考えられる。現在まで宇宙における老化に関する研究は少ない。国際宇宙ステーションに線虫を滞在させる欧米日協同による第一回国際宇宙線虫実験に参加する機会を得、宇宙滞在による線虫の老化速度に及ぼす影響を調べる目的で実験を行った。地上において孵化したばかりの幼虫および成虫になったばかりの若成虫をロシア宇宙船ソユーズによって打ち上げ宇宙空間に 20℃にて 10 日間滞在させた。地上帰還直後に液体窒素にて凍結し老化指標を調べた。老化指標としては、導入された CAG 繰り返し配列遺伝子によるポリグルタミン (polyQ) が加齢に伴って凝集体を形成することによって、そのために 35mer polyQ と黄色蛍光タンパク質融合遺伝子を筋肉に発現するミオシン重鎖プロモーターにつなげ導入した線虫を用いた。この老化指標を宇宙滞在線虫と地上飼育線虫とで比較した。polyQ 凝集体形成数は宇宙滞在線虫では地上飼育線虫に比べて個体および体長、総蛍光輝度あたりのすべてで有意に低下した。この結果は宇宙空間においては線虫の老化速度が遅くなることを示唆する。宇宙滞在による遺伝子発現変化を調べるために DNA マイクロアレイ解析・RT-PCR 解析を行った。神経系、内分泌系の遺伝子発現の変化が認められた。これらの遺伝子発現変化と宇宙における老化との関わりを議論する。Keywords: 線虫, 宇宙, 老化, DNA マイクロアレイ

0-22 老人性白内障患者における前房水アルブミンの酸化・還元状態の病態生理

恵良聖¹, 林 知也², 松山幸枝¹, 河合憲司³

¹ 岐阜大学大学院医学系研究科 分子生理学分野, ² 明治鍼灸大学 生理学, ³ 東海大学医学部専門診療学系 眼科学

ヒト血清アルブミン(HSA)は、N末端から34番目に非常に反応性に富むSH基を1個有しているが、このSH基がフリーの状態のアルブミンを「還元型アルブミン(HMA)」とよび、一方このSH基が血中のシステインやホモシステインなどとS-S結合したアルブミンを「酸化型アルブミン(HNA)」とよんでいる。正常人では通常、約75%が還元型アルブミン、25%が酸化型アルブミンとして存在している。われわれは、この両アルブミンを分離・観測することが可能なHPLCシステムを開発したのち、このシステムを用いて各種疾患の患者血清を多数分析した。その結果、両アルブミンの割合の動的変化が生体内の酸化還元緩衝能を良く反映していること、さらにこの動態変化は老化によっても影響を受けることを見だし、本学会に発表してきた(基礎老化研究11, 57-58 (1987); ibid 12, 59-60 (1988))。

そこで今回われわれは、非常に微量かつ低濃度のアルブミンの場合でも分析可能なシステムを開発し、老人性白内障患者の前房水中のアルブミンの酸化・還元状態の解析を行って、患者血清中のそれと比較・検討した。前房水および血液は、肝・腎疾患、糖尿病などの合併症のない老人性白内障患者51名(平均年齢, 73.9歳)から採取・分析した。その結果、患者血清中の還元型アルブミン画分の割合の平均は66.4%であったのに対して、前房水中のそれは3.5%と極端に減少していた。それに対応して、患者前房水中のアルブミンは圧倒的に酸化型アルブミンであった。

水晶体タンパク質のSH基の酸化が白内障の成因の一つとして考えられているが、老人性白内障患者では、水晶体の混濁化に伴って、水晶体に直接接している前房水中のアルブミンは圧倒的に酸化型アルブミンに変化したものと推測される。このように、前房水中のアルブミンの酸化・還元状態の解析は、間接的ながらも、水晶体内の酸化・還元状態を反映する一つの指標になり得る可能性が示唆された。

Keywords: 血清アルブミン, 酸化還元, 老人性白内障, 前房水

0-23 下顎骨による近交系ラット“F344”群の比較

国立長寿医療センター 加齢動物育成室

田中 慎

目的

近交系ラットF344群では、その加齢特性において大きな亜系統差を示すことが知られている。下顎骨の形状は、動物の分類のみならず、実験動物の種や遺伝的な制御(近交系、リコンビナント近交系、クローズドコロニー)をこえて違いを検出でき、さまざまな情報が個体レベルで得られる。そこで、亜系統の中でわが国において入手できるもののうちF344/DuCrIjとF344/NSIcを用い、若齢雄で下顎骨の形状と骨密度を比較した。

材料と方法

CRLJとSLCから60日齢前後で雄ラットを購入し、下顎骨を晒骨標本とし、下顎骨の形態、骨密度、う蝕や歯周病、歯芽萌出等を観察している。今回は万能投影機とDXAで測定した下顎骨の形態と骨密度についてF344の主な亜系統F344/DuとF344/Nを比較した。

結果

形態: 下顎骨の13部位を測定した結果を主成分分析にかけ、3つの主成分を抽出して2つの亜系統を比較したところ、PC1で有意差が検出でき、F344/Duが大きかった。

骨密度: DXAで下顎骨を測定したところ、骨塩量・骨面積・骨密度の何れでも有意差が検出された。体重と下顎骨の重量も含め、何れもF344/Duが大きかった。

考察

体重から形態・骨密度にいたるまで、60日齢前後の比較ではF344/Duが有意に大きかった。この頃は成長期で、これらの亜系統では成長の速度に差のあることもうかがわれるので、加齢後も同様といえるか否かにはF344/1c1も加えた検討の余地がある。しかし、この日齢での明確な差は、注意を要すること、亜系統差の大きさを提示した。これらをもとに、実験に供する際には十分な注意が使用系統の選択にあつては必要であることが明らかとなった。

結論

F344の亜系統間では、60日齢前後下顎骨の形状と密度で違いがあった。日齢の違いによる検討も必要だが、亜系統差には注意して実験に供するべきである

Keywords : F344 group, Inbred strain of rats, Mandible, Substrain difference.

0-24 グライコプロテオミクスによる新規老化マーカー糖蛋白質の発見及びその性状解析

○佐藤雄治¹⁾, 早川雅人²⁾, 山本貴樹²⁾, 桜井洋子¹⁾, 戸田年総³⁾, 山本晴彦²⁾, 遠藤玉夫¹⁾

(1. 都老人研・老化ゲノム機能, 2. 神奈川大・理, 3. 都老人研・老化ゲノムバイオマーカー)

【目的】我々はこれまでに、アルツハイマー病患者脳より調製した細胞質タウ蛋白質がN-結合型糖鎖による修飾を受ける事を明らかにして来た。そこで自然老化に伴って細胞質中にN-結合型糖鎖による修飾を受けた蛋白質が増加するのかどうか、二次元電気泳動とレクチンを組み合わせた解析により検討した。発現量の増加した糖蛋白質の同定を行い、更に性状解析を行った。

【方法】9週齢の若齢及び34月齢の老齢ラット大脳皮質可溶性糖蛋白質を二次元電気泳動で分画後、PVDF膜に転写しConAにて糖蛋白質を抽出した。老化に伴い増加したスポットをConA-Sepharoseにて精製濃縮し、二次元電気泳動にて分画後スポットを回収した。トリプシン消化後、Nano-LC-ESI-Q-TOF/MSにより同定を行った。更に特異的抗体を用いてWestern blottingによる解析、および免疫組織化学的解析による発現部位の解析を行った。また初代培養細胞を用いて細胞外刺激による発現部位の変化を検討した。

【結果】老齢ラットで発現の高いスポットは、リソソームの蛋白質分解酵素であるCathepsin Dと同定された。さらに、老化に伴って可溶性画分中の発現量が増加している事が明らかとなったが、これは単なるリソソーム膜の破綻によるものではなかった。更に免疫組織化学的解析から、Cathepsin Dは神経細胞に高発現しており、その発現量が老齢では顕著に増加していた。また初代培養神経細胞に対する酸化刺激、プロテオソーム阻害剤によりCathepsin Dの細胞質への移行が観察された。

【考察】今後、細胞質Cathepsin Dは新たな老化のBiomarkerとして期待されるとともに、このような特定の糖蛋白質が細胞質に蓄積するという現象がなぜ起こるのかを明らかにしてゆくことは、新たな老化の分子機構の解明につながるのではないかと期待される。

Keywords: Glycoprotein, Aging, Brain, Glycoproteomics

ポスター発表

P-1 加齢に伴う骨髄、脾臓でのマウスB細胞分化について

石田佳幸(1)、(2)、上田一仁(2)、樋田大輔(3)、水野大生(4)、伊藤佐知子(2)、羽根田正隆(2)、磯部健一(2)
(1)名古屋大学医学部アイトープ分館、(2)名古屋大学医学部微生物・免疫、(3)名古屋大学医学部整形外科、(4)名古屋大学医学部歯科口腔外科

免疫B細胞は抗原に反応し、抗体を産生する。加齢に伴い特異的抗体産生が低下することが知られているが、B細胞分化のどの段階が障害されるか興味深い。また、B細胞分化過程の異常によって悪性腫瘍など様々な疾患が引き起こされる。このことからB細胞の分化について調べることは臨床的にも重要である。現在までB細胞の分化について多くの研究がなされてきた。しかし、加齢に伴う骨髄、脾臓での各分化段階のB細胞についての免疫組織化学的研究は少ない。今回、われわれは加齢に伴う骨髄、脾臓中のマウスB細胞の分化について免疫組織化学的手法を用いて観察を行った。その結果、以下のことを見出した。

- (1)CD117陽性細胞とCD25陽性細胞は骨髄中に散在している。IgM陽性細胞とIgM+IgD陽性細胞は骨周辺部に偏在しているものもある。加齢に伴い、これらの細胞は髄質中心部から減少する。
- (2)脾臓でのIgM+IgD陽性細胞はリンパ濾胞に存在している。一方でIgM陽性細胞とCD138+IgM陽性細胞は脾臓辺縁部に位置している。加齢に伴い、リンパ濾胞の構造が希薄になり、これらの細胞は減少する。

Keywords; B細胞、分化、骨髄、脾臓、免疫組織化学

P-3 老化促進モデルマウス SAMP1 腹腔細胞の NO 産生機能の加齢変化

細川友秀、越出千晶
京都教育大・理学科・生命科学

「目的」促進老化を示す系統である SAMP1 マウスでは加齢に伴う早期の免疫機能低下がみられ、特に抗体産生機能とNK活性の低下が顕著である。本研究では、SAMP1 マウスのマクロファージ機能における促進老化の有無を調べるため、各月齢のマウスから付着性腹腔細胞を得て、そのNO産生反応をC3H/Heマウスと比較した。

「材料と方法」通常環境飼育によるC3H/HeSlcとSAMP1/Kueマウスの、3-24ヶ月を使用した。各マウスから個体ごとに腹腔細胞を得て、96-wellプレート付着性細胞を接着させ10 ng/ml LPS、0.75 または 1.5 ng/ml IFN- γ 、10 ng/ml LPS + 0.75 ng/ml IFN- γ を含むRPMI1640完全培地で24時間培養後、上清中に含まれるNO₂⁻濃度を Griess 法により測定した。

「結果と考察」LPSの刺激によるNO産生反応は、C3H/Heマウスで3ヶ月齢から24ヶ月齢にかけてほぼ一定であり、SAMP1マウスでは3ヶ月齢から6ヶ月齢で低く9ヶ月齢から12ヶ月齢にかけて上昇しC3H/Heよりも高くなった。IFN- γ の刺激によるNO産生反応は、C3H/Heマウスで6ヶ月齢をピークとして24ヶ月齢まで減少したが、SAMP1マウスでは3ヶ月齢から6ヶ月齢で低く9ヶ月齢から12ヶ月齢にかけて上昇した。

腹腔マクロファージがNO産生細胞であると考えられ、老化促進とマクロファージ機能の亢進の関連が考えられる。

Keywords SAMP1、SPF、抗体産生機能、NK 活性

P-2 老化促進モデルマウス、SAMP8/TaSlcにおける脾臓 TCR^{int}細胞の増加と胸腺機能との関連性の検討

西村泰光¹⁾、和田安彦²⁾、西池珠子³⁾、井口弘¹⁾、若林一郎⁵⁾
三浦山恵¹⁾、大槻剛巳¹⁾、細川友秀⁶⁾

1)川崎医科大学 衛生学、2)関西労災病院 医療情報部、3)大手前短期大学 ライフデザイン総合学科、4)兵庫県産業保険推進センター、5)兵庫医科大学 環境予防医学、6)京都教育大学 生命科学

【緒言】老化促進モデルマウスの1系統 SAMP8 は寿命短縮、学習記憶障害、免疫機能低下を示す。昨年、SAMP8 では脾細胞中に CD3^{intermediate}CD122⁺の特徴を持つ胸腺外分化T細胞(TCR^{int}細胞)が加齢に伴い著しく増加すること、同時に胸腺退縮が早いことを報告した。今回、胸腺除去を行い、SAMP8のTCR^{int}細胞数増加が直接的・間接的に胸腺機能と関連する可能性を検討した。【材料と方法】4週齢雄性 SAMP8/TaSlc 及び C3H/HeSlc に Nembutal 麻酔下で胸腺除去(TMX)又は疑似手術(sham)を行った。17週後、flow cytometry により脾細胞中の各細胞の比率を測定し脾細胞数より脾臓あたりの各細胞数を求めた。【結果】SAMP8、C3H/He 共に TMX 群で CD3^{int}CD122⁺の胸腺内分化T細胞(TCR^{int}細胞)数が顕著に減少していたが、TCR^{int}細胞数は sham 群と差が無かった。SAMP8 では TMX 群、sham 群ともに TCR^{int}細胞数が著しく多いが、両者に差は無かった。さらに、SAMP8 では CD8⁺TCR^{int}細胞が顕著に多いが、CD4⁺TCR^{int}細胞は C3H/He と同様に少なかった。【考察】SAMP8、C3H/He 両系統において、胸腺除去は TCR^{int}細胞数に影響しなかった。このことは SAMP8 における脾臓 CD8⁺TCR^{int}細胞数の増加は胸腺機能と関連せず独立した現象であることを示す。C3H/He では加齢に伴う TCR^{int}細胞数の増加は緩やかである。胸腺外分化T細胞の著しい増加が SAMP8 の免疫機能低下に関与している可能性が示唆される。

Keywords:

SAM mice, immunosenescence, extrathymic T cell, thymus

P-4 老化した CD4T 細胞では脂質ラフトを介した「負」のシグナル制御系に異常がある

猪股光司¹⁾、嶋田有紀子¹⁾、林 昌美¹⁾、清水 淳²⁾、岩下淑子¹⁾
(¹東京都老人総合研究所・老化ゲノム機能研究チーム、²国立長寿医療センター・老化機構研究部)

【目的】加齢に伴ってT細胞の機能は低下するが、その機序は解明されていない。T細胞は抗原受容体(TCR)を介した情報を細胞内に伝達し、IL-2の産生や細胞増殖等の機能を発現する。TCRシグナリングは、細胞膜上の脂質ラフトに集積するLck、ZAP-70、LAT、PLC- γ 1等の分子による「正」の制御系とCskやPAG/Cbp(Csk結合蛋白質)等による「負」の制御系で厳密に制御されている。従って、加齢に伴うT細胞の機能低下は脂質ラフトで生ずる変質や異常を反映している可能性が高い。そこで、マウスCD4T細胞を用いて脂質ラフトに関連するシグナル分子の加齢変化を調べた。【方法】CD4T細胞はマウス脾細胞から調製した。シグナル分子の解析は、未刺激細胞をTriton X-100で処理した後、遠心操作で得られた可溶性画分と不溶性画分、並びに α 糖密度勾配遠心で得られた各画分についてWestern blottingで行った。【結果と考察】「正」の制御系のシグナル分子については明らかな加齢変化は認められなかった。しかし、「負」の制御系ではPAG/Cbpが加齢に伴って激減することが判明した。また、PAG/Cbpが激減した細胞では脂質ラフトに集積するCskも著しく減少していた。更に、老齢マウスの細胞では若齢に比べてチロシンリン酸化が亢進した蛋白質の存在が確認された。以上の結果から、老齢マウスCD4T細胞では脂質ラフトを介した「負」のシグナル制御系に異常があるものと予想される。

Keywords: CD4T細胞、脂質ラフト、PAG/Cbp、Csk

P-5 酸化ストレスと老化におけるミトコンドリア融合の役割

安田佳代¹⁾ Philip Hartman²⁾ 須田 齋³⁾ 正山哲嗣³⁾ 赤塚明¹⁾ 石井恭正¹⁾ 石井直明¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部 ²⁾ Texas Christian Univ. ³⁾ 東海大学開発工学部

ミトコンドリアは、老化の原因として注目されているエネルギー代謝とその副産物である活性酸素の両者に関わっている細胞内小器官である。*C. elegans* の酸素感受性短寿命突然変異体 *mev-1* では、ミトコンドリアから過剰に産生される活性酸素によって、ミトコンドリアの膨化様の融合が多く観察された。さらに昨年の本大会において、このミトコンドリアの膨化様の融合は老齢野生株でもみられること、加齢とともにミトコンドリアの機能低下およびエネルギー代謝が低下することを報告してきた。ミトコンドリアは、融合・分裂を繰り返すことで恒常性を保っていると言われていた。そこでミトコンドリアの融合が酸化ストレスと老化に影響を及ぼすかどうか検討するため、今回はミトコンドリア融合に関与している遺伝子の一つである *fzo-1* の変異体を用い、*mev-1* 変異体との二重変異体を作製し、*mev-1* 変異体と二重変異体の酸素感受性および寿命について検討した。その結果、二重変異体は酸素に対して発生期で高感受性となった。しかし、寿命においては *mev-1* 変異体より短くなることはなかった。さらに、これらの変異体の成虫段階での酸素消費量を測定したところ、二重変異体では他の変異体よりエネルギー代謝が低下していることが分かった。

以上の結果から、融合を阻害する *fzo-1* 遺伝子が寿命短縮には直接関係がなかったが、これはエネルギー代謝が低下しているために寿命を短縮させることはなかったのではないかと考えられる。そして、代謝が活発な発生段階では、融合の阻害が酸素ストレスに高感受性をもたらしたのではないかと考察される。

Keyword: Mitochondria fusion, oxidative stress, aging, *C. elegans*

P-7 SEX AND STRAIN-RELATED DIFFERENCES IN ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY CHANGES WITH AGE IN RATS

K.Kitani¹⁾, S.Kana²⁾, K.Miyasaka²⁾, M.C.Carrillo^{1,2)} ¹⁾Natl. Inst. Longevity Sci., ²⁾Tokyo Metropolitan Inst. Gerontology

Antioxidant enzyme activities (ACT) such as superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were compared between young (8-9 months) and old (27-29 months) BN/BiHsd rats. CAT ACT in brain regions were quite comparable between young and old rats of both sexes. SOD ACT changes with age also were not remarkable, with the exception of significantly lower Mn-SOD ACT in *S.nigra* of old male rats and significantly higher ACT of Cu,Zn-SOD in the same region of old female rats than respective ACT in young rats. CAT ACT in the liver tended to be lower in old male rats than young rats, while in females the opposite was observed. These new findings are in a marked contrast with our previous observations of marked (2-3 fold) increases in SOD ACT in old F344/DuCrj male rats in most brain regions studied, while in female rats SOD ACT remained essentially unchanged with age (Carrillo et al. Mech Ageing Dev 65:187-198,1992). We conclude that no generalization can be made in terms of age-related changes in antioxidant enzyme ACT, even in the same species, sex and organs. Key words: aging, antioxidant enzymes, strain-associated differences

References

- 1) Carrillo MC et al. (1992) Mech Ageing Dev 65:187-198
- 2) Semsei I et al. (1991) Mech Ageing Dev 58:13-19
- 3) Xia E et al. (1995) J Nutr 125: 195-201

P-6 RNA 干渉ライブラリーを用いたマウス線維芽細胞酸化ストレス耐性スクリーニング

長岡(安田)利栄^{1,2)}、松尾直毅²⁾、Brian Perkins²⁾、Mark Mayford²⁾、¹⁾大阪大学生命機能研究科、²⁾ Department of Cell Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla,

酸化ストレスを与えられた細胞は、内在の修復、防御機構によりストレスに適応し生存するか、細胞死を引き起こすかの選択を迫られる。一般に、この生死選択は細胞内に蓄積したダメージの深刻さに応じているとされるが、いったい何がダメージの度合いを感受し最終決断を下すのかほとんど分かっていない。しかしながらこの生死選択の不備は、多くの加齢性疾患の発症や進行に関与していると報告されている重要な問題である。本研究では、既存の抗酸化反応系や細胞死シグナルに捕らわれず酸化ストレスによる細胞死誘導の分子メカニズムを解明するために、培養細胞における酸化ストレス耐性スクリーニングを行った。ランダムな遺伝子機能抑制を行うために、15,000 クローンを含むマウス cDNA ライブラリーをもとに、いくつかの酵素と PCR 反応を組み合わせることにより short hairpin RNA (shRNA) ライブラリーを作製した。ライブラリーはレトロウイルスを介して細胞に導入し、様々な遺伝子機能抑制をもつ細胞集団に対し、致死量の *tert*-Butylhydroperoxide (t-BHP) を繰り返し与えることにより、酸化ストレス耐性が上昇している細胞を選別した。生存した細胞からウイルス挿入部分を回収し塩基配列を解析したところ、細胞死誘導活性をもつ遺伝子を含むいくつかの候補遺伝子に対する shRNA が同定できた。これらのうち、最も強く t-BHP による細胞死から細胞を保護する shRNA は、ビタミン A の代謝酵素の一つを mRNA レベルで抑制していた。同様の作用が、同遺伝子の異なる部分を標的とする shRNA によってもひきおこされたことから、メカニズムは不明であるが、この酵素が t-BHP によって引き起こされる細胞死に必要であることが示唆される。

P-8 The effects of Chinese prescription Kangen-karyu on aged kidney

○佐藤亜希子^{a)}、趙 恩珠^{b)}、横澤隆子^{a)}

^{a)} 富山大学和漢医薬学総合研究所、^{b)} Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

【目的】冠元顆粒が NF- κ B や PPAR α 、SREBPs などの転写因子を介して、加齢ラットにおける酸化ストレス状態の改善作用が認められることを、肝組織を中心として報告してきた。本研究では、腎組織について検討を行ったので報告する。

【方法】Wistar 系雄性ラットに 8 ヶ月齢から 4 ヶ月間、冠元顆粒エキスとその構成生薬の丹参エキスをそれぞれ 0.5%、1.0% 含有した餌を投与し、12 ヶ月齢の血液、腎臓を採取した。組織中の TBA-RS と抗酸化酵素 (SOD, Catalase, GSH-Px)、血液中の Cr, Urea-N は比色法で測定した。また、若齢対照群として 2 ヶ月齢のラットを用いた。

【結果】本実験において、投与群間の体重及び摂食量の変化は認められなかった。加齢により血清中の TBA-RS は増加したが、冠元顆粒と丹参投与群で低下していた。また加齢により増加した腎ホモジネートの TBA-RS は冠元顆粒投与群で有意に低下していた。一方、ミトコンドリア画分の TBA-RS は加齢による著しい変化は認められなかったが、冠元顆粒 0.5%、1.0% と丹参 0.5% 投与群で低下していた。抗酸化酵素では、Catalase 活性が加齢により低下したが、投与群で上昇傾向を示し、GSH-Px 活性も加齢により低下していたが、冠元顆粒 0.5% 投与群で有意に上昇していた。しかし、SOD 活性は、加齢および投与による変化は認められなかった。加齢による腎機能の低下はいずれの投与群においても改善していた。

【考察】冠元顆粒と丹参エキスは、腎組織の加齢による酸化ストレスを改善していた。なお、種々のタンパク発現についても併せて報告したい。

Keywords Kangen-karyu, oxidative stress, kidney

P-9 老齢ラットにおける定期的運動による肝臓 DNA の酸化傷害軽減

中本英子¹・金子孝夫²・田原正一²・林絵理¹・水島千尋¹・内藤久士³・後藤佐多良¹ ¹東邦大学薬学部²東京都老人総合研究所³順天堂大学スポーツ健康科学部

活性酸素 ROS は生体内でタンパク質・核酸・脂質を酸化修飾し細胞機能を障害する。傷害分子は修復あるいは分解除去されなければ老化を進め、各種の病態を引き起こす可能性がある。そのため抗酸化物質による介入で老化の進行を遅延させる試みが広く行われている。しかし ROS は有害なだけでなく状況によっては生体に必須である。したがって抗酸化物質が適切なタイミングで適量作用する条件を実現するのはむずかしい。

運動は酸素消費量高め、ROS を増加させて有害であるとの主張がある一方で、定期的運動の健康増進作用はよく知られている。われわれは 21 ヶ月齢雄ラットに週 5 日、1 日 30~90 分のトレッドミル運動を 2 ヶ月間させたのち、肝臓の核およびミトコンドリアの DNA 酸化傷害と傷害修復活性を調べた。比較のために運動をさせない老齢動物 (23 ヶ月齢) と若齢動物 (11 ヶ月齢) についても同様の解析を行った。

酸化修飾 8-oxo dG (8-オキシデオキシグアノシン) の正常グアノシン dG にたいする割合は、核・ミトコンドリア DNA でともに老齢で増加したが、定期的運動によって有意に低下した。修復酵素 OGG1 (8-オキシグアノシンリコシラーゼ) 活性は、核においては運動で上昇し、酸化修飾塩基の低下を説明できる結果だったが、ミトコンドリアでは逆に低下した。これは両オルガネラにおける DNA 修復酵素が異なる活性調節を受けていることを示唆する。ミトコンドリアでは傷害が減少したあと修復酵素の必要性が低下したのかもしれない。しくみの詳細は不明だが定期的運動による適度な酸化ストレスが結果的に DNA の酸化傷害を軽減したと考えられる。

P-11 Mechanism of Lysophosphatidylcholine in Upregulation of Endothelial Adhesion Molecules : involvement of GPR4

Yani Zou, Eun Kyung Go, Ji Young Kim and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes,

Lysophosphatidylcholine (LPC) is a derivative of phosphatidylcholine, acting as a cellular mediator involved in various biological processes and vascular aging. Although LPC has been shown to induce expressions of vascular adhesion molecules (AMs) during aging, the molecular mechanism underlying was not well elucidated. To delineate the signaling responsible for the up-regulation of VCAM-1 and P-selectin by LPC, rat endothelial cell (EC) line YPEN-1 were utilized. Results showed that LPC dose-dependently enhanced expressions of VCAM-1 and P-selectin, which occurred simultaneously with activation of transcription factor NF- κ B. However, NF- κ B inhibitors CAPE and SN-50, as well as antioxidant NAC only partially blocked LPC-induced activation of AMs. In further test, it was found that LPC treatment caused activation in transcription factor CREB through GPR4/cAMP/PKA pathway, which promoted upregulation of AMs. In conclusion, the current study demonstrated LPC-induced expression of AMs was mediated through both NF- κ B and GPR4-induced transduction pathways in YPEN-1.

Key words: lysophosphatidylcholine (LPC); adhesion molecules (AMs); NF- κ B; GPR4; signal transduction

P-10 Characterization of apoptosis-related gene, DAP3 in cellular senescence

Wakoh T, Murata Y, Uekawa N, Sugimoto M, Miyazaki T and Maruyama M. Dept. of Mechanism. of Aging, NLS, NCGG. Dept. of Bio. Res. Center for Zoonosis Control. Hokkaido Univ.

DAP3 (Death-associated Protein 3) was originally identified as an apoptosis-related molecule that mediates interferon-gamma-induced cell death. It has been reported that DAP3 is also involved in TNF- α , Fas or death receptor 4/5-mediated apoptosis. On the other hand, DAP3 is known to be localized in mitochondria and associated with mitochondrial ribosomes, suggesting that DAP3 may have some unknown function(s) besides cell death. We have already shown that DAP3 protein is down regulated in human diploid fibroblasts, MRC-5 and HE-1 during replicative senescence. On the basis of these findings, here we demonstrated that DAP3 was also decreased in the premature senescence induced by oxidative stress in those cells, therefore, DAP3 indicates to play a key role in the cellular senescence. To study further the function of DAP3 protein in the cellular senescence, DAP3 protein was knocked down in fibroblasts using short hairpin RNA. These results implicate that DAP3 has a potential role in determining the cell fate by inducing apoptosis or premature senescence after oxidative stress. Moreover, we now try to analyze the novel function of DAP3 in replicative senescence by using DAP3 knock-down MEFs. We should also investigate a possibility whether DAP3 is a regulator of the initiation of replicative senescence.

Key word: cellular senescence, oxidative stress, apoptosis.

P-12 Betaine modulates NF- κ B signaling pathway during aging

Eun Kyung Go and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes, Pusan National University, Busan, Korea

Betaine is an important human nutrient obtained from various foods. In the present study, we assessed the anti-inflammatory effect of betaine on NF- κ B during aging. Fischer 344 rats, ages 9 and 20 months, in this study fed betaine to the old rats. To elucidate the effect of betaine on oxidative stress-induced NF- κ B and its signal pathway at molecular levels, YPEN-1 cells were used. Results showed that betaine suppressed NF- κ B and its related gene expressions of COX-2, iNOS, VCAM-1, and ICAM-1 in aged kidney. Furthermore, betaine attenuated oxidative stress-induced NF- κ B via NIK/IKK and MAPKs in the YPEN-1 cells. Based on results, we concluded that betaine suppressed the age-related NF- κ B activities associated with upregulated NIK/IKK and MAPKs that was induced by oxidative stress. Thus, betaine might be useful as a preventive agent against the activation of NF- κ B induced during inflammation and aging.

Key words: betaine, NF- κ B, aging, NIK/IKK, MAPKs

P-13 Molecular modulation of the age-related Nuclear factor κ B (NF- κ B) pathway by hesperetin

Ji Young Kim and Hae Young Chung
College of Pharmacy, Longevity life Science and Technology Institutes,
Pusan National University, Busan, Korea

Nuclear factor- κ B (NF- κ B), a redox sensitive transcription factor, plays an important role in aging processes. Thus, developing and identifying specific components that modulate NF- κ B activity without adverse side effects, would be of major importance. Hesperetin, a flavanone abundant in citrus fruits, has variety of pharmacological properties such as antioxidant, cholesterol-lowering, and anti-inflammatory abilities.

In this current study, we investigated how hesperetin modulates NF- κ B in kidneys obtained from 6- and 24-month-old rats fed hesperetin. Results showed that hesperetin suppressed NF- κ B activation and related gene expressions. An even more interesting finding is that hesperetin suppressed the NF- κ B through four signal transduction pathways, NIK/IKK, ERK, p38, and JNK. Further evidence showed the remarkable efficacy of hesperetin to suppress the translocation of Trx/Ref-1, indicating its beneficial effect on the redox status. The most significant findings of the current study are presented by new information on the use of hesperetin as a potential anti-aging agent.

Key words: aging, anti-aging, hesperetin, nuclear factor kappa B, redox

P-14 The mechanisms underlying anti-aging activity of the persimmon polyphenols in human fibroblast cells

李英娥^a, 佐藤亜希子^a, 趙恩珠^b, 横澤隆子^a
^a 富山大学和漢医薬学総合研究所, ^bDepartment of Food Science and Nutrition, Pusan National University

【目的】柿の果皮から抽出したポリフェノール画分の抗老化作用を、ヒト線維芽細胞を用い検討した。

【方法】TIG-1 (PDL 37.2) に柿ポリフェノール画分 (0.2~5 μ g/ml) を加えて24時間培養し、次いで過酸化水素を60分間暴露した。形態学的変化は顕微鏡下で観察し、細胞生存率はMTT法、細胞内活性酸素、TBA-RS、ミトコンドリア膜電位は蛍光法、NF- κ Bは免疫染色法、細胞周期はフローサイトメーターで測定した。

【結果】過酸化水素添加群では、細胞老化と類似した形態学的変化を示したが、ポリフェノール画分を前処理した細胞では、過酸化水素非添加群と類似していた。また、過酸化水素添加によって生じた細胞生存率の低下は、ポリフェノール画分前処理により有意に上昇していた。細胞内活性酸素とTBA-RSレベルは過酸化水素添加によって増加し、ポリフェノール画分を前処理した細胞では有意に減少し、ミトコンドリア膜電位の低下も改善された。一方、過酸化水素処理群ではNF- κ Bの核への移行が観察されたが、ポリフェノール画分添加群では抑制していた。過酸化水素処理による細胞周期G₀/G₁期の停止はポリフェノール画分前処理により改善傾向を示していた。

【考察】酸化ストレスによって誘導される細胞老化が、ポリフェノール画分によって抑制されたが、NF- κ Bなどのシグナル抑制を介して遅延していることが示された。

Keywords persimmon, human fibroblast, hydrogen peroxide, NF- κ B

P-15 ヒト線維芽細胞の老化に伴う異常細胞分裂と核形態異常の発生について

大島 晋
埼玉医科大学・中央研究施設・形態部門

培養条件下で増殖を停止した老化細胞では、高い多倍体細胞比率に加えて核形態の不整や核断片化など、種々の核形態異常が見られる。しかしこれらの老化細胞における核形態異常発生機構は十分に解明されていない。近年、細胞老化に伴う細胞分裂制御因子の異常が報告されており、そのような異常が核形態異常を引き起こす可能性がある。今回の研究では、細胞分裂と核形態異常発生との関連を検討するためにヒト線維芽細胞を継代培養し、各継代齢の細胞についてmitosisの過程を観察した。mitosisの観察には細胞核をHoechst33342で染色し、タイムラプス蛍光顕微鏡を用いて観察した。その結果、継代が進むにつれて種々の異常なmitosisの頻度の上昇が観察された。異常なmitosisでは、①染色体が分離せず、細胞質分裂も起こらずに核の脱凝集を起こして多倍体細胞を生じる、②染色体は分離するが細胞質分裂が起こらず2核細胞を形成する、③染色体の不分離や不均等分離の結果、形態不整な核や核断片化などの異常な核形態を生じる、等の現象が観察された。染色体分離を伴わない異常なmitosisは紡錘体微小管を破壊する薬剤によって生じることが報告されており、mitotic slippageとして知られている。紡錘体微小管の形態をtubulin- α の免疫組織化学染色により観察すると、継代の進んだ細胞の分裂期細胞ではしばしば単極性の紡錘体が観察された。従って老化細胞に見られる核形態の不整や核断片化は染色体分離不全を伴う異常なmitosisの結果生じていること、および異常なmitosisには紡錘体形成不全が関与している可能性が示唆される。

Keywords; cellular senescence, abnormal mitosis, mitotic slippage, spindle microtubule, time-lapse video microscopy

P-16 熟年代に対する食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用効果

澤下仁子¹⁾, 鬼塚さやか^{2,3)}, 源野広和³⁾, 立石紀彦⁴⁾, 飯野文枝⁴⁾, 石川忍⁵⁾, 長岩利幸⁵⁾, 村上武雄¹⁾, 関洋一¹⁾, 花岡正明⁶⁾, 濱澄男⁶⁾, 能勢博^{2,3)}, 樋口京一¹⁾

¹⁾信州大・院・医・加齢生物学, ²⁾NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター, ³⁾信州大・院・医・スポーツ医科学, ⁴⁾サニーヘルス(株), ⁵⁾キッセイウェルコム(株), ⁶⁾(株)アムネット

【目的】生活習慣病発症の危険因子のひとつである肥満に着目し、熟年代の肥満-肥満予備軍に対してフォーミュラ食品を用いた食事指導とインターバル速歩トレーニングを16週間実施し、減量効果、血圧変化、筋力量や血中脂質量等の変化を運動指導のみの群と比較した。【方法】長野県松本市在住の40歳以上70歳未満、BMI 23.6以上、試験遂行に医学的問題が無く、試験についての同意が得られた男女84名を、無作為に「運動指導のみ(Cont群)」あるいは「食事+運動指導(MD群)」に割り付けた。両群とも、目標運動量を個別に設定したインターバル速歩トレーニングを実施するとともに、2週間毎に運動指導を行った。MD群には、さらに、夕食あるいは朝食をフォーミュラ食品に置き換え、残り2食を通常食とした食事制限を施行し、2週間毎の食事指導も行った。【結果】MD群の摂取カロリーは男女ともCont群の約87%で、総トレーニング量に有意な差はなかった。また、16週間の試験終了時には、両群いずれもBMIや血圧、血中脂質量・空腹時血糖値に明らかな改善がみられ、特に、MD群はCont群よりもBMI減少率が大きく、試験期間を含む半年間に要した医療費も有意に少なかった。さらに、MD群の女性には、Cont群と比べ、最高血圧の改善効果も有意に高かった。また、試験開始時に血圧が基準値を超えた被験者(最高: 140mmHg、最低: 90mmHg)では、MD群の方がCont群よりもBMI、血圧のいずれも改善効果が高かった。【結論】食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用により肥満を効果的に改善し、高い一次予防効果が期待できる。

Key words: 食事制限, インターバル速歩トレーニング, 肥満, 熟年代

P-17 コレシストキニン (CCK) A 受容体欠損マウスの加齢に伴う胆石形成と性差の有無

金井節子、太田稔、桜井千裕、秋本-高野紗恵子、関目綾子、細矢博子、宮坂京子
東京都老人総合研究所・老年病のゲノム解析研究チーム

胆石症は、ポピュラーな消化器疾患で、肥満女性に多いといわれてきたが、最近の国内の報告では男女比 1:1.2 程度に留まっている。コレステロール胆石は、胆汁中のコレステロールの増加に加え、胆嚢機能障害と胆汁滯留が関与することで、コレステロールの結晶化と析出を促進して生じるとされている。我々は CCK-A 受容体欠損 (-/-) マウスを作成し、雄マウスで胆石が形成されることを報告した (DDS2004)。今回は雌マウスで加齢に伴い胆石形成頻度が増加するか、雄マウスと差があるかどうかを検討した。[方法] 雌雄の野生型および CCK-AR(-/-)マウスを CRF-1 で飼育し 12ヶ月齢、24ヶ月齢で屠殺して、胆石形成頻度、血中コレステロール、中性脂肪濃度を測定した。[結果] 体重は genotype 間で差を認めなかった。胆石形成頻度は雄マウスでは 12ヶ月齢 38% (8匹中3匹)、24ヶ月齢で 35% (17匹中6匹)であったが、雌マウスでは、それぞれ 44% (9匹中4匹)、80% (5匹中4匹)であった。しかしカイ二乗検定で有意差を示すにはいたらなかった。血中コレステロール値、中性脂肪値も性差はなく、年齢差も有意ではなかった。[考察と結論] コレステロール胆石の形成には肥満の存否が非常に重要であるが、CCK-AR(-/-)マウスは肥満を形成せず、血中脂質濃度も有意には上昇しないことから、肥満の影響を除外することができるモデルである。24ヶ月齢雌マウスの数が5匹のみであったことから、統計上は有意差を得ることができなかったが、今後数を増やして確認をする予定である。しかし、少なくとも中年期における発生頻度に性差はなかった。

Key word 胆石、性差、CCK-AR、マウス

P-19 Zucker obese ラットに対する長期カロリー制限による代謝関連転写因子とアディポサイトカイン発現変化の解析

千葉卓哉、中山正彦、井上大輔、小松利光、林 洋子、林田隆広、山座治義、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 探索病理学

【序論】食餌カロリー制限(Caloric Restriction; CR)は、老化および老化病態を抑制する最も確実な介入法であり、insulin/IGF-1系、脂肪組織由来因子(アディポサイトカイン)および神経内分泌系因子の関与が示唆されている。今回我々は、レプチン受容体欠損による肥満モデルである Zucker ラット(Slc:Zucker-fa/fa)および対照ラット(Slc:Zucker+/+)を6週齢よりALおよびCR(ALの70%)下において6ヶ月間飼育し、血清生化学、アディポサイトカイン発現、および肝臓における代謝関連転写因子の活性とその標的遺伝子の発現を解析した。CR群は1日おきに給餌し、給餌後をCR1、給餌前をCR2とした。【結果および考察】CRはfa/faラットの1)血中 insulin、グルコース濃度を低下させた。2)体重を減少させたが、体重当たりの白色脂肪組織重量は有意に高かった。3)CR2における血中の遊離脂肪酸(FFA)、ケトン体レベルが+/+と比較して有意に高かった。4)血中 adiponectin を増加させ、TNF- α を減少させた。肝臓における PGC-1 α mRNA の発現は fa/fa、+/+とも CR1, 2 で増加したが、その標的遺伝子の発現は CR2 で高く、CR1 では抑制されていた。Foxo1 の転写活性は CR により変化しなかった。fa/fa は CR 下においても脂肪貯蔵能が高いことが考えられ、このことが CR2 における血中 FFA、ケトン体レベルの増加に関与していると示唆される。insulin 分泌を抑制し、脂肪酸の β 酸化を活性化することが CR による代謝の適応に重要な働きを持つと考えられ、代謝疾患の発症を抑制できれば、fa/fa ラットのような儉約遺伝子型をもつ動物の方が CR の効果がより強く表れる可能性が考えられる。

Keywords: caloric restriction, adipocytokine, PGC-1 α , Foxo1

P-18 老齢マウスにおけるグレリンによる摂食促進効果の欠如

太田稔、桜井千裕、秋本-高野紗恵子、金井節子、細矢博子、宮坂京子
東京都老人総合研究所 老年病のゲノム解析研究チーム

高齢者は活動量の低下により筋肉量とエネルギー消費量が低下し、その結果エネルギー必要量が減少し、食欲と摂食量が低下すると考えられている。老齢ラットでは、CCK の脳室投与による摂食抑制が、若齢ラットよりも少量で効果がえられ (AGG1995)、オレキシン、NPY の脳室内投与による摂食促進効果が消失し、グレリンの効果が減弱していることを報告した (AJP2004, Neuroend2006)。グレリンは胃で合成されホルモンとして循環血液中からも作用しうることから、末梢投与時の効果を若齢および老齢マウスで比較した。さらに胃内および血中グレリン濃度を測定した。[方法] 若齢および老齢雄マウス (C57BL) を用い、飽食状態で午前9時より実験を開始した。マウスは1週間前より一匹飼いとし、体重測定後既知量の飼料 (CRF-1) と水を投与し、20分、60分、120分、240分における餌の消費量を測定した。グレリン (0.3, 1, 3 nmol/mice) は 1%BSA/生理食塩水で溶解し、腹腔内に投与した。マウスを断頭屠殺し、血液を採取後、胃を摘出してグレリン濃度を ELISA Kit で測定した。[結果] グレリンの腹腔内投与は、若齢マウスでは、0.3 nmol のグレリンは有意の増加をしめさなかったが、1 および 3 nmol のグレリンは有意に摂食量を増加した (F = 3.23, p < 0.038)。一方老齢ラットでは、いずれの用量においても有意の摂食増加はみられなかった。血中グレリン濃度は老齢マウスで高い傾向がみられたが、有意差はなかった。一方胃内グレリン濃度は老齢マウスの方が有意に高値を示していた。[結論] 老齢マウスはグレリン受容体機能が低下していることが予測された。

P-20 カロリー制限・GH-IGF-1 抑制ラットのグルコース代謝: Akt, GLUT4 の解析

林 洋子、山座治義、朴 盛彦、林田隆広、小松利光、千葉卓哉、樋上賀一、下川 功
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 探索病理学

【目的】長寿モデル動物である GH-IGF-1 系抑制 (tg/-) ラットでは、カロリー制限 (CR) ラットと同様に寿命が延長する。対照群と比較してこれら 2 つのモデル動物では、耐糖能試験において血中インスリンが低いにもかかわらず正常な耐糖能を示した。これらのラットではインスリン非依存性に糖の取込みを行っている可能性がある。今回我々は糖代謝におけるインスリンシグナル系の主要な因子として Akt および GLUT4 の検索を行った。また IGF-1 を投与しその効果を解析した。【方法】ラットの皮下にミニポンプを埋め込み 2 週間の IGF-1 投与を行った。屠殺前にグルコースを腹腔内投与し、15 分後に肝臓と骨格筋を採取した。肝・骨格筋における Akt1 のリン酸化を ELISA で測定し、骨格筋の細胞膜における GLUT4 の発現をウエスタンブロット法により測定した。【結果】肝臓における Akt1 のリン酸化はインスリン受容体の結果を反映し、対照群ではグルコース投与により有意に増加し、CR ラットおよび tg/- ラットではその増加がみられなかった。しかし CR ラットの骨格筋では、予想に反して、グルコース投与によりリン酸化 Akt1 の有意な増加が認められた。一方 GLUT4 の膜へのトランスロケーションはいずれのグループにおいても有意差を示さなかった。【まとめ】CR ラットの骨格筋では、グルコース負荷後インスリン非依存性に Akt が活性化された。CR ラットは tg/- ラットとは異なった糖代謝のメカニズムを有している。

Keywords: カロリー制限, GH-IGF-1 系抑制ラット, Akt, GLUT4

P-21 カロリー制限における転写因子 FoxO1 の役割；
酸化ストレスについて

福本 有里¹, 真島 宏聡¹, 小松 利光¹, 朴 盛彦¹, 千葉 卓哉¹, 樋上 賀一¹, 古山 達雄², 下川 功¹

1. 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科医療科学専攻 探索病理学
2. 園田学園女子大学 人間健康学部食物栄養学科

【背景】カロリー制限(CR)による寿命延長効果や酸化ストレス増強効果は様々な生物種で確認されている。一方、線虫(長寿命変異種)の解析から、insulin シグナル減弱により転写因子 DAF-16 への抑制がはずれ、長寿命になることが示されている。哺乳類でこの DAF-16 に相当するのがフォークヘッド転写因子 FoxO1 である。FoxO1 は ROS 除去・抗酸化ストレスに関与する Manganese super oxide dismutase (MnSOD)や、細胞周期停止・DNA 修復に関与する Growth arrest and DNA damage inducible α (Gadd45 α) 発現を制御すると言われる。CR によっても insulin シグナル減弱が起こることから、CR による抗老化・寿命延長効果や酸化ストレス耐性増強効果は、FoxO1 を介して起こるのではないかと仮説を立て、実験を行った。【方法】それぞれ自由摂食群(AL)と CR に分けて飼育した生後 28-32 週齢の雄 FoxO1-KO マウス(+/-)と野生型マウス(+/+)にミトコンドリア呼吸鎖を阻害する 3-NPA (3mg/100gBW)を腹腔内投与し、投与後 0, 15, 30, 60 分における肝臓の FoxO1 とその下流遺伝子発現を RNA 及びタンパクレベルで定量した。【結果・考察】0 時間での FoxO1-mRNA とタンパクレベルは KO マウスで有意に減少した。また投与後 0-60 分を通して野生型、KO 共に CR が AL よりも高く、KO-CR は野生型 CR よりも低い傾向にある。しかし、MnSOD 発現は野生型と KO の CR に有意差が見られなかった。c-fos などの early response genes の発現は酸化ストレスにより増加したが、CR では初期の発現が AL よりも抑制的で KO による差はなかった。これらのことから、CR における酸化ストレス耐性効果に FoxO1 の果たす役割は少なく、他の経路の関与も考えられる。

Keywords: カロリー制限, 酸化ストレス, FoxO1

P-22 Calorie restriction initiating at a middle age improved glucose tolerance without affecting age-related insulin resistance in rat skeletal muscle

Park Seongjoon, Komatsu Toshimitsu, Hayashi Hiroko, Yamaza Haruyoshi, Chiba Takuya, Higami Yoshikazu, Shimokawa Isao

Department of Investigative Pathology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science

Calorie restriction (CR) may affect glucose tolerance via modulation of the insulin action in skeletal muscle. The present study investigated the effect of CR initiated at middle age in rats bearing glucose intolerance and insulin resistance in skeletal muscle, in comparison with CR at a younger age. Male F344 rats at 2.5 and 18 months (mo) of age were fed ad libitum (AL) or 30% CR diets for 4-4.5 mo, subjected to glucose tolerance testing, and then sacrificed 15 min after intraperitoneal glucose or saline injection to evaluate glucose-stimulated insulin response and subsequent activation of insulin signaling molecules. The protein abundance of phosphorylated (p) insulin receptors, p-Akt, and p-atypical PKC and the membrane fraction of glucose transporter 4 in hindlimb muscle were analyzed by EIA or immunoblotting. CR initiated either at young or middle age improved glucose tolerance with a lower serum insulin response to glucose. However, middle-aged CR did not improve aging-related impairments in insulin signaling, i.e., insulin resistance in skeletal muscle. The present results emphasized the possibilities of CR activation of an insulin-independent mechanism in skeletal muscle and also of the involvement of non-muscle tissues in glucose uptake.

Keywords: Calorie restriction, Aging, Insulin resistance

P-23 食餌制限の骨密度の加齢変化に対する効果と
成長ホルモン分泌抑制の影響の検討

富田雅人¹⁾, 本川 哲²⁾, 樋上賀一³⁾, 下川 功³⁾

- 1) 長崎県離島医療圏組合対馬いづはら病院整形外科
- 2) 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター整形外科
- 3) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科、探索病理学

Key words: bone mineral density, aging, caloric restriction, GH-IGF-1

目的: 加齢に伴い骨密度が減少する。げっ歯類に食餌制限を行うと、寿命が延長し様々な加齢変化の発生が抑制される。加齢に伴い成長ホルモン (GH) やインスリン様増殖因子 (IGF-1) 分泌が低下することが知られており、食餌制限の抗老化効果と GH-IGF-1 系の関連が注目されている。今回、食餌制限と GH 分泌抑制の骨密度の加齢変化に対する影響を調査した。

対象及び方法: GH 遺伝子の anti-sense 遺伝子を挿入し、遺伝子的に GH 分泌を抑制したラット (mini) を用いた。対照として、mini の野生種である Wistar rat (WT) と、mini と WT の F1 交雑ラット (F1) を用いた。ラットは 6 週齢から自由摂食 (AL) 群と食餌量を AL の 60% に制限した食餌制限 (CR) 群に分け飼育した。6, 15, 24 ヶ月齢でラットを屠殺し大腿骨を摘出し pQCT で骨密度を測定した。

結果: 1) 皮質骨骨密度: WT, F1, mini の間に有意差は認めなかった。加齢変化は明らかではなく食餌制限の効果も認めなかった。2) 海綿骨骨密度: WT, F1, mini の順に高く、いずれも加齢に伴い低下した。CR 群では、AL 群に比べ WT, F1, mini いずれも低かった。3) F1-AL 群と WT-CR 群は骨密度が各月齢で近似していた。考察: 食餌制限, GH の遺伝子の分泌抑制ともに海綿骨骨密度の加齢変化を抑制出来ず、骨密度が更に低下していた。WT-CR 群と F1-AL 群がほぼ同程度の骨密度の低下を示していたことから、IGF-1 の血中濃度の低下が骨密度の低下と関連している事が示唆された。

P-24 カロリー制限ラットと成長ホルモン (GH) 抑制トランスジェニックラットの類似した表現型: リコンビナントヒト IGF-1 投与に対する内因性 GH-IGF-1 系の反応

Fang Ping, 小松利光, 山座治義, 千葉卓哉, 樋上賀一, 下川 功

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 探索病理学

成長ホルモン (GH) 抑制トランスジェニック (Tg-AL) ラットは、自由摂食状態でも、血中 IGF-1 の低下、寿命延長を含めて、野生型カロリー制限 (W-CR) ラットと類似した表現型を示す。このことは、GH-IGF-1 系の抑制がカロリー制限 (CR) の効果を部分的に生み出していることを示唆している。我々は、W-CR, Tg-AL, 対照群の W-AL ラットにおいて、リコンビナントヒト (rh)IGF-1 を 2 週間持続投与した後、血中ラット IGF-1、ヒト IGF-1 濃度、下垂体 GH-mRNA、肝臓、白色脂肪の IGF-1 mRNA 発現レベルを検討することによって、内因性 GH-IGF-1 系の変化を比較した。血中ラット IGF-1 は、W-AL, W-CR, Tg-AL 群の順序で高かった。rhIGF-1 投与によりいずれの群でもラット IGF-1 濃度は低下した。下垂体 GH-mRNA レベルは、W-AL, W-CR, Tg-AL の順で高かったが、rhIGF-1 投与によって有意に発現レベルが低下した。白色脂肪においては、W-AL, Tg-AL, W-CR の順で IGF-1 mRNA レベルが高かった。rhIGF-1 の投与によって IGF-1 mRNA レベルは W-AL 群において低下したが、W-CR, Tg-AL 群では変化しなかった。下垂体 GH-mRNA の抑制程度と末梢組織の IGF-1 mRNA の変化は必ずしも一致しないが、W-CR と Tg-AL ラットの rhIGF-1 投与への内因性 GH-IGF-1 系の反応は類似していた。これらの結果は、Tg-AL ラットの GH-IGF-1 系の反応のそれと類似していることを示唆し、CR の抗老化機構における GH-IGF-1 系の役割を検討する動物モデルとして適することを示している。

Keywords: カロリー制限, GH 抑制トランスジェニックラット, IGF-1

P-25 A-beta によるミクログリアからの matrix metalloproteinases (MMPs) の産生

伊藤佐知子、羽根田正隆、石田佳幸、磯部健一
名古屋大学医学部分子細胞免疫学、アイントープセンター

Alzheimer 病では matrix metalloproteinases (MMPs) の発現が亢進していることが報告されている。MMP の Alzheimer 病における役割として、これまで MMP-9 が神経細胞から産生され、A-beta を分解することが報告されている。一方 MMPs はマクロファージ系細胞から炎症性刺激で放出され、動脈硬化、慢性関節リウマチの病態形成に関与することが示唆されている。私たちは A-beta 刺激でミクログリアが炎症性サイトカイン、ケモカインを分泌することを報告してきた。今回は A-beta 刺激によるミクログリアからの MMPs 産生とそのシグナル伝達系を解析したので報告する。

(方法)

ミクログリア細胞 Ra2 を 10 μ M A β 1-42 で 16 時間刺激し、MMP の発現の変化を real-time PCR により調べた。MMP の発現へのシグナル伝達系を各種阻害物質、各種リン酸化抗体により検索した。

(結果)

A β 1-42 の刺激で MMP2,3,8,9,12,13,20 の発現を調べたところ、MMP3, MMP12, MMP13 が 10 倍以上上昇した。A β 25-35 でも A β 1-42 に比べて弱いこれらの発現が上昇した。これらの発現はシグナル伝達系抑制剤の投与実験から、ERK と PI3K/Akt の系を通ることが判明した。

(考察)

マクロファージ系細胞刺激により発現が上昇することが知られている MMP が A β 1-42 で強く上昇することを見いだした。これが、老人斑の形成に関与することが考えられる。

P-26 脳に対する緑茶カテキンの老化抑制作用の検討

○吉田啓俊¹⁾、海野けい子¹⁾、岸戸崇浩²⁾、丁場大輔¹⁾、福富理恵¹⁾、菊永奈穂美¹⁾、松本一朗³⁾、阿部啓子³⁾、星野 稔¹⁾ (1)静岡県立大・薬・生物薬品化学、(2)静岡県立大・薬・医薬生命化学、(3)東京大・院・農学生命科学)

老化の一因として、酸化ストレスの重要性が指摘されている。我々は脳の酸化傷害による老化への影響に着目し、強力な抗酸化作用を有する緑茶カテキンについて、その継続的な摂取による脳内酸化傷害の防御効果、抗酸化酵素活性に対する影響、ならびに網羅的な遺伝子レベルでの発現変化について検討を行った。

実験には、加齢に伴い脳が萎縮し脳機能低下を示す老化促進モデルマウス(SAMP10)を用いた。緑茶カテキンは Polyphenon 70S(三井農林(株))を 0.02%の濃度でマウスに自由摂取させた。対照群には水を与えた。遺伝子解析には Affimetrix 社の GeneChip を用いた。

SAMP10 の脳内では、加齢に伴いカルボニル化タンパク質が有意に増加していたが、緑茶カテキンを摂取させた老齢マウスでは、タンパク質の酸化傷害が顕著に低下していた。また抗酸化酵素の中で、Glutathione peroxidase の活性が加齢に伴い有意に低下していたが、緑茶カテキン摂取群では活性低下が抑制されていた。これらのことから、緑茶カテキン摂取群では加齢に伴う酸化ストレスの増加が抑制されることが、脳の萎縮、学習・記憶能低下等の脳の老化を抑制する一因であると考えられる。また網羅的な遺伝子解析を行った結果、緑茶カテキン摂取群の嗅脳、海馬において対照群に比べ、発現が有意に増加あるいは減少した遺伝子が確認され、緑茶カテキン摂取が脳内遺伝子発現に影響を及ぼしていることが明らかとなった。

【Keywords】緑茶カテキン、SAMP10、脳、酸化傷害、抗酸化酵素、マイクロアレイ

P-27 SH-SY5Y 細胞においてシトルリン化タンパク質が酸化ストレスにより誘導される

山本尚吾^{1,2)}、浦野四郎²⁾、久保幸穂¹⁾、丸山直記¹⁾、石神昭人¹⁾

1 東京都老人総合研究所・老化制御、2 芝浦工業大学・生物化学

【目的】アルツハイマー病(AD)患者の脳にはシトルリン化タンパク質が多く蓄積している¹⁾。シトルリン化タンパク質の蓄積は、アルツハイマー病発症の原因となる可能性がある。そこで、シトルリン化タンパク質の生成・蓄積機構の解明が、アルツハイマー病発症メカニズムの解明に繋がると考えた。本研究では、SH-SY5Y 細胞(ヒトドーパミン神経芽細胞腫)に酸化ストレスを与えてシトルリン化タンパク質の動態を解析した。

【方法】SH-SY5Y 細胞に 6-hydroxydopamine (6-OHDA)を加え、酸化ストレスを与えた。24 時間後に細胞を回収し、ウェスタン法によりシトルリン化タンパク質を検出した。

【結果と考察】6-OHDA により酸化ストレスを与えた細胞では、シトルリン化タンパク質が増加した。これは、酸化ストレスによりタンパク質シトルリン化酵素(PAD; peptidylarginine deiminase)が活性化されたためと考えられる。これらの結果は、酸化ストレスにより PAD が活性化され、そこで生じたシトルリン化タンパク質は神経細胞に障害を与え、細胞死を誘導すると考えられる。このように、PAD の活性化は神経細胞死に深く関与している可能性が高い。

1) Ishigami A et al., *J. Neurosci. Res.* **80**: 120-128 (2005)

Keywords: Alzheimer's disease, Citrullinated protein, Oxidative stress, PAD

P-28 低酸素ストレスのヒト神経芽細胞(SH-SY5Y)膜表在ネプリライシン活性におよぼす影響

大橋憲太郎¹⁾、平田洋子¹⁾、磯部健一²⁾、木内一壽¹⁾

¹⁾岐阜大学工学部生命工学科生命情報工学講座1、²⁾名古屋大学医学部分子細胞免疫学講座

アミロイド β タンパク質(A β)の蓄積は、アルツハイマー病の原因の一つと考えられる。近年、脳内における A β の蓄積はその生成と分解のバランスが崩れた結果であると考えられるようになった。一方で、A β 分解の主要なペプチダーゼであるネプリライシンは、ニューロン間のシナプスに局在することが報告されている。しかしながら、脳・神経系でのネプリライシン活性は微量であることから、アルツハイマー病の予防・治療法を確立する上で、その簡便かつ高感度な測定法の開発が不可欠である。

本研究では、96 穴培養プレートを用いる条件下での細胞膜表在ネプリライシン活性の測定系を確立し、さらに脳神経変性疾患の要因の一つと考えられる低酸素ストレスの本酵素活性への影響をヒト神経芽細胞(SH-SY5Y)を用いて検討した。

急性低酸素条件として、1% O₂のもと 2 または 4 h 細胞を培養したところ、低酸素誘導遺伝子の一つ Glut1 遺伝子が誘導されたもののネプリライシン遺伝子および膜表在性活性には変化がみられなかった。一方、慢性的低酸素条件として、5% O₂のもと 24 h 培養したところ、ネプリライシン遺伝子発現には変化がみられなかったものの膜表在性ネプリライシン活性が有意に低下していた。

以上より、加齢に伴う脳血管系の機能低下・障害による慢性的低酸素ストレスはネプリライシン活性を低下させ孤発性アルツハイマー病の発症および進行に関与する可能性が示唆された。

P-29 海馬神経細胞の *in vitro* エイジング：過興奮、生存と
スパインアクチン制御

白石-山口 陽子^{1,2}, Shelley Halpain², 森 望¹

¹長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・発生分化機能再建学講座(形態制御解析学/解剖学第一教室)、²米国スクリプス研究所

老化は、脳の機能性、特に神経可塑性の減退を伴う。老化脳では、興奮性神経細胞の樹状突起スパイン形態の異常やスパイン数の減少が多く観察されることから、脳の可塑性とスパイン形態の相互連関が示唆されている。スパイン形態の分子基盤をなす主たる細胞骨格はアクチン繊維である。我々はこれまでに、初代培養した成熟期の海馬神経細胞(培養3週目)を用い、急性脳障害のモデルとしてイオントロピックグルタミン酸受容体である NMDA 受容体を過剰興奮させると、その結果一部の神経細胞群(全体の約 20-30%)において、スパインアクチン繊維が数分のうちに一時的に消失し、その後1日経過すると再び元に戻る現象を見いだしてきた。そのアクチン繊維消失の際には、シナプス接合部位は保持されていたものの、スパイン形態の変化とともに NMDA 受容体や、可塑性に関わる他のイオントロピックグルタミン酸受容体である AMPA 受容体、そして他のシナプス分子もスパイン構造から一時的に消失し脱感作した状態であった。この状態は更なる興奮毒から細胞を保護する防御効果が誘導されたものと考えられる。我々は、長期生存能力を持つ神経細胞における神経保護能力をアクチン制御の観点から解析するため、さらに長期間培養した海馬神経細胞(培養4-10週目)における NMDA 受容体の過剰興奮によるスパインアクチン繊維の変化を解析した。これは中枢神経細胞の *in vitro* 老化モデルともいえる。その結果、上記反応を示す細胞群の比率は、培養日数とともに増加し、長期培養に耐えた 10 週目の細胞では約 50-60%を占めた。したがって、長期生存能力の高い神経細胞は、スパインアクチン繊維の消失が誘導されやすく興奮毒から自己防御できる能力が高いと考えられた。

Keywords: 海馬, 神経シナプス, スパイン, アクチン, NMDA 受容体

P-30 モデルマウスを用いた中枢神経細胞の加齢変性における
neuroinflammation の役割の検討
-ミクログリアの加齢変化-

熊谷直子^{1,2}, 千葉陽一², 島田厚良², 細野正道¹, 藤井庄人¹,
佐藤 衛², 齊藤優子², 河村則子², 慶野裕美², 細川昌則²
¹新潟大学大学院・自然科学研究科・免疫生物、
²愛知県心身障害者コロニー・発達障害研究所・病理学部

【背景・目的】多くの急性・慢性中枢神経病変の研究から、中枢神経系において、免疫担当細胞(ミクログリア等)やサイトカインが、神経変性過程に関わることが明らかになり、神経変性がいわゆる neuroinflammation の概念の枠組みの中で捉えられようとしている。我々は、脳の加齢変性のモデル動物とされている SAMP10 マウス(P10)を用い、neuroinflammation が神経細胞変性に関わる際の、免疫担当細胞の役割、及びその分子基盤の解明を目指している。今回は、ミクログリアの加齢変化を検討した。

【材料と方法】コンベンショナル条件飼育下の P10 及び対照系統として SAMR1 (R1) 雄マウスの脳を摘出し、10%緩衝ホルマリンで浸漬固定し、パラフィン包埋後、6 μm 薄切標本を作製した。ミクログリアの活性化状態を形態学的に分類するために、抗 Iba-1 免疫染色に基づく分類基準を作成した。加齢と共に最も大脳が萎縮する、運動野皮質と前嗅核を含む面において、resting 及び activated ミクログリアの細胞数を計測した。

【結果と考察】大脳の萎縮好発部位において、3ヵ月齢の P10 は R1 よりも resting ミクログリアの数が有意に多かった。予備的所見であるが、14ヵ月齢の P10 では activated ミクログリアの数が多かった。最近、Nimmerjahn A. らは、静止状態にあると考えられているミクログリアが、非常に活発に、絶えず周囲の微小環境の監視をしていることを見出した(Science 308, 1314-1318, 2005)。3ヵ月齢で有意に多かった P10 のミクログリアの役割を調べるために、サイトカイン mRNA の発現をリアルタイム RT-PCR により解析している。さらに、P10 では大脳辺縁系で、加齢に伴いプロテアソーム活性の低下とユビキチン化封入体の増加を認めており、サイトカイン mRNA の発現の部位選択性を検討している。

Keywords; neuroinflammation, microglia, neurodegeneration, SAMP10 mice

P-31 MAP1B の N 末端に結合する物質の探索 III

五味不二也 内田洋子

東京都老人総合研究所・老年病ゲノム研究グループ

MAP1B を神経細胞に過剰発現すると細胞死が誘導され、その神経細胞死の誘導には MAP1B の N 末端 126 アミノ酸残基が必要であった。そこで、MAP1B の発現を介した神経変性や神経細胞死がどのような分子機構でおこるのかを解明するために、MAP1B の N 末端 126 アミノ酸残基に結合する分子を探索したところ α-tubulin が見つかった。MAP1B の N 末端 126 アミノ酸残基は tubulin への結合部位とは未だ報告されていない。β-tubulin および β III-tubulin

との結合を調べたところ β-tubulin に対しても MAP1B の N 末端 126 アミノ酸残基は結合したが、β III-tubulin との結合は極めて弱いものであった。

MAP1B の tubulin 結合部位の神経細胞死への影響を調べるため、N 末、中央、C 末の結合部位を欠いた MAP1B を作成し神経細胞へ強制発現させその影響を見る。

[Key words] MAP1B, tubulin, neuronal death.

P-32 老化脳と神経再生：脳梗塞モデルラットにおける
間葉系幹細胞の役割

大神和子¹, 秋野公造¹, 森 望¹

¹長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・発生分化機能再建学講座(形態制御解析学/解剖学第一教室)

老化とともに種々の細胞の分化形態が損なわれる一方で、各組織中の幹細胞からの分化誘導能が、部分的にはあれ保持されていることが知られてきている。骨髄細胞の多分化能は骨髄間質細胞の中に含まれる間葉系幹細胞(MSC)がその主役である。この MSC は骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、筋肉細胞、血管内皮細胞のみならず、最近の研究では中枢神経細胞へも分化することが明らかになり、老年性神経変性疾患等における新たな再生医療の担い手として期待されるようになっている。そこで我々は、脳梗塞モデルラットを作成し、脳内に GFP 標識したヒト MSC を直接移植して、その機能的実態や分化制御機構を解析し、MSC の役割と可能性について検討した。免疫不全成体ラットの両側総頸動脈を 15 分結紮した後、GFP 標識ヒト MSC を海馬 CA1 周辺に移植し、2 日または 8 日後、海馬および梗塞巣における MSC および神経特異的分子マーカーの発現を観察した。げっ歯類では脳虚血により海馬 CA1 において遅延性神経細胞死が起こることが知られている。虚血 2 日目では神経特異的マーカーおよび MSC、KB 染色像での形態的な変化は認められなかったが、8 日目の海馬 CA1 でネクロシスと MSC の集積が観察された。集積した MSC はほとんどがネスチン、GFAP 陽性であった。このことは、MSC が神経やグリアに分化することを示すとともに、異種動物間でも MSC が機能することから、ヒト MSC の脳梗塞治療に対する臨床応用の可能性を示唆している。また本実験での MSC は組織障害部位を認識し、障害部位特異的に遊走した。これらの結果は骨髄幹細胞の多能性と細胞遺伝子治療の可能性を示唆している。

Keywords: 老化, 脳虚血, 間葉系幹細胞, 神経幹細胞, 神経再生

P-33 SAM マウスをモデルとした脳の老化変性に関わる遺伝子の探索

島田厚良、慶野裕美、森 政之*、樋口京一*、佐藤 衛、千葉陽一、齊藤優子、細川昌則 (愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部、*信州大学大学院医学研究科 加齢生物学)

老化促進モデルマウス(SAM)の1系統である SAMP10 系(P10)は、前頭前野・大脳辺縁系を主体とした脳萎縮等の老化変性を加齢に伴い自然発症する。我々は P10 における脳老化変性の遺伝的背景を明らかにすべく、量的形質遺伝子座(QTL)解析を進めている。促進老化を示さず、脳萎縮を呈さないSAMR1系(R1)とP10とを交配して得た雑種第2世代(F₂)325匹を16ヵ月齢まで飼育し、脳萎縮度を測定した後、DNAを抽出した。F₂の中から、萎縮度の高い方、低い方よりそれぞれ20個体ずつを選び、マイクロサテライトマーカーを用いてシングルマーカー解析を行ったところ、第2番および第15番染色体上にQTLが存在する可能性が示唆された。第15番染色体上のマーカー5種を用いてF₂からランダム抽出した117個体についてインターバルマッピングを行った結果、セントロメアより54.5cMと57.9cMの間の3.4cM領域にLRSスコア12.1のQTLを見出した。現在この位置に存在する候補遺伝子のシーケンシングを行っている。一方、最近、SAMP10マウスの遺伝子発現プロファイリング結果から線維芽細胞成長因子1の遺伝子Fgf1に変異があることが報告された(Genome Biology 2005, 6:R48)。現在この遺伝子異常と脳萎縮の関連についてF₂マウスを用いた解析を進めている。今回は、これら遺伝子解析の途中経過を報告する。

Key words: brain, neurodegeneration, QTL, SAM

P-35 SMP30 はアスコルビン酸合成経路の重要な酵素である

佐藤安訓¹⁾、井内陽子²⁾、錦見盛光³⁾、後藤佐多良³⁾、丸山直記¹⁾、石神昭人¹⁾ (1)東京都老人総合研究所・老化制御(2)和歌山県立医科大学・生化学(3)東邦大学・薬学部・生化学)

【目的】SMP30 (Senescence Marker Protein-30/SMP30) は加齢に伴い肝臓や腎臓で減少する蛋白質として同定した。しかし、その本来の生体内機能は永らく不明であった。最近、我々は SMP30 がグルコノラクトナーゼ(GNL)であることを明らかにした。GNL は L-アスコルビン酸(ビタミン C) 合成経路の最後から2番目に位置する酵素である。本研究では、SMP30 が *in vivo* で L-アスコルビン酸合成経路に働く重要な酵素であることを SMP30 ノックアウトマウスを用いて証明した¹⁾。

【方法】SMP30 ノックアウトマウス (SMP30Y^{-/-}) と野生型マウス (SMP30Y^{+/+}) を生後 30 日で離乳させ、通常のマウス飼料を 10 日間与えて飼育した。その後、ビタミン C 欠乏食を与えた。肝臓、腎臓、血漿中のビタミン C 含量はヒドラジン法を用いた HPLC により定量した。

【結果および考察】ビタミン C 欠乏食を与えて飼育した結果、SMP30 ノックアウトマウスは体重減少、歩行異常を示した。歩行異常を示した SMP30 ノックアウトマウスの X 線像では下肢の骨折と rachitic rosary (くる病じゅず) など典型的な壊血病の症状を認めた。また、SMP30 ノックアウトマウスは生後 175 日まですべて死亡した。死亡時の SMP30 ノックアウトマウス肝臓、腎臓、血漿中のビタミン C 含量は野生型マウスの 1.6% 以下に低下していた。以上の結果から、SMP30 が L-アスコルビン酸(ビタミン C) 合成に必須の酵素であることが明らかになった。

1) PNAS 103:5723-5728 (2006)

Keywords: SMP30, gluconolactonase, ascorbic acid, scurvy

P-34 アストロサイトにおける PAD 活性化機構の解明

○遊長由希^{1,2)}、半田節子¹⁾、島田信子¹⁾、福田貢¹⁾、町田武生²⁾、丸山直記¹⁾、石神昭人¹⁾

(1) 東京都老人総合研究所・老化制御 (2) 埼玉大学・院・理工

【目的】シトルリン化蛋白質は、ペプチジルアルギニンデイミナーゼ (PAD) により蛋白質中のアルギニン残基がシトルリン残基に変換された蛋白質の総称である。PAD の活性化には高濃度のカルシウムイオンを必要とする。我々は、今までにアルツハイマー病 (AD) の脳ではシトルリン化蛋白質が多く蓄積していることを明らかにした¹⁾。本研究では、シトルリン化蛋白質の生成、蓄積がアルツハイマー病の原因となるか確かめるため、培養アストロサイトをを用いて人為的に細胞内のカルシウム濃度を高め PAD を活性化させ、シトルリン化蛋白質の動態を詳細に観察した。

【方法】マウス胎児由来アストロサイトにイオノマイシンを加え 1 時間処理した後、細胞を回収した。細胞抽出液を用い、ウェスタン法によって PAD2、シトルリン化蛋白質、GFAP、ビメンチンを検出した。

【結果および考察】マウス胎児由来アストロサイトは、イオノマイシン処理により PAD2 が活性化してシトルリン化蛋白質が増加した。しかし、高濃度のイオノマイシン処理ではシトルリン化蛋白質が逆に減少した。この時、GFAP やビメンチンも高濃度のイオノマイシン処理により減少した。これは、生じたシトルリン化蛋白質がプロテアーゼによって積極的に分解されたためではないかと考えられる。GFAP やビメンチンがシトルリン化されることは以前に報告している¹⁾。これらの結果は、シトルリン化された蛋白質は分解を受けやすくなる可能性を強く示唆している。

1) Ishigami A et al., J. Neurosci. Res. 80:120-128 (2005)

Keywords: Alzheimer's disease, Citrullinated protein, PAD

P-36 グルコノラクトナーゼ活性は加齢で低下する

近藤嘉高^{1,2)}、岩佐嘉洋^{1,2)}、島田信子¹⁾、福田貢¹⁾、下門顕太郎²⁾、丸山直記¹⁾、石神昭人¹⁾

1 都・老人研 老化制御 2 東京医歯大・院 血流制御内科学

【目的】SMP30 は、ラット肝臓のプロテオーム解析により、雌雄共に加齢で減少するタンパク質として発見した。我々は最近、SMP30 がビタミン C (VC) 生合成経路で働く唯一のグルコノラクトナーゼ(GNL)であることを証明した¹⁾。即ち、SMP30 と GNL は同一である。本研究では、老化と GNL の関係を明らかにするため、肝臓における GNL 活性の加齢変化を検討した。

【方法】Fischer (F344)ラットメス (3, 6, 12, 24, 27-30 ヶ月齢、各 5 匹)の肝臓をホモジナイズし、可溶性分画を調製した。GNL 活性は、D-グルコノ-δ-ラクトンを基質に比色定量法で測定した。GNL タンパク質は、ウェスタンブロット解析により、精製 SMP30 を用いた検量線から定量した。

【結果および考察】肝臓中の GNL 活性は、3 ヶ月齢で最も高い値を示した。また、3 ヶ月齢での GNL 活性値を 100% とすると、6 ヶ月齢では 86%、12 ヶ月齢では 73%、24 ヶ月齢では 56% と 3 ヶ月齢に比べて加齢で有意に減少した。また、27-30 ヶ月齢では 24 ヶ月齢と同程度の活性を示した。一方、肝臓中の GNL (SMP30) タンパク質量は、3 ヶ月齢で最も多く、27-30 ヶ月齢まで加齢に伴い減少した。27-30 ヶ月齢では 3 ヶ月齢の 65% であった。加齢に伴う GNL (SMP30) タンパク質量と GNL 活性の減少は、ほぼ一致した。

1) PNAS 103:5723-5728 (2006)

Keywords: SMP30, gluconolactonase, vitamin C

P-37 老化促進マウスからの骨髄内骨髄移植により
骨髄環境の老化を誘導させた動物モデルの検討

上口祐輔¹⁾²⁾ 稲葉宗夫¹⁾ 高口敏藏¹⁾²⁾ 飯口寛和²⁾ 池原進¹⁾
1) 関西医科大学第一病理 2) 関西医科大学整形外科

【目的】老人性骨粗鬆症の発症機序については加齢によるホルモン動態の変化などの全身性因子や骨代謝に関わる細胞自身の老化という局所因子が複雑に相関し寄与しているものと考えられているが、現時点ではその詳細は完全には明らかにされていない。今回、我々は老人性骨粗鬆症が、骨髄の加齢性変化のみによっても発症することを老人性骨粗鬆症のモデルマウスである SAMP6 から通常の B6 マウスへの骨髄内骨髄移植法 (Intra-Bone Marrow-Bone Marrow Transplantation: 以下 IBM-BMT) による異系骨髄移植により検討した。【方法】4ヶ月齢の SAMP6 から2ヶ月齢の B6 マウスへ放射線分割照射後 IBM-BMT を行い、骨粗鬆症の発症を腰椎椎体部の組織標本、大腿骨骨密度、尿中 Dpd 量により評価した。【結果】IBM-BMT 施行群において移植後早期に骨粗鬆症の発症を支持する所見が得られた。骨芽細胞/ストローマ細胞も donor 由来細胞への置換が確認された。

【考察】IBM-BMT では造血幹細胞と間葉系幹細胞を同時に直接骨髄腔内へ移植可能であり、donor の骨髄環境を従来の経静脈的な骨髄移植法よりも効率よく再現できることから、老人性骨粗鬆症の発症をコントロールできるものと考えられた。若齢 B6 マウスにおいても骨髄環境の加齢性変化のみにより老人性骨粗鬆症を発症し得るものと推察された。

Key words: senile osteoporosis, IBM-BMT, SAMP6

P-39 ラット腎臓のアルブミンエンドサイトーシス受容
体の加齢変化とアルブミン尿症

大寺恵子、後藤佐多良、高橋良哉
東邦大学薬学部生化学教室

F344 ラットは加齢に伴いアルブミン尿症を頻発する。アルブミン尿症の原因は、糸球体機能低下に伴う原尿へのアルブミン過剰増加や過アルブミンの近位尿細管における再吸収・分解能低下によると考えられる。近位尿細管におけるアルブミン再吸収はアルブミン受容体である cubilin と megalin を介したエンドサイトーシスにより行われる。私達は一昨年の本大会において重篤なアルブミン尿症を呈した老齢ラットほど腎臓の megalin 量が低下し、cubilin 分解産物が増加する傾向にあることを報告した。本大会では cubilin と megalin の近位尿細管細胞における局在と加齢に伴うアルブミン尿症発症との関係について報告する。特異的抗 cubilin と megalin 抗体を用いた免疫組織染色の結果、若齢では cubilin, megalin ともに近位尿細管の刷子縁付近に主に局在していた。しかし、アルブミン尿症を発症している老齢では若齢と比べ刷子縁付近の局在が不明瞭になり、細胞質全体に分布する傾向にあった。一方、抗アルブミン抗体による免疫染色では、若齢に比べ老齢で刷子縁および細胞体が濃染された近位尿細管が多く観察された。加齢に伴う近位尿細管細胞のアルブミン染色性の増大は、糸球体ろ過アルブミン量増加に伴う cubilin, megalin へのアルブミン結合量と細胞内取り込み量の増加によると考えられる。しかし、エンドサイトーシスやリサイクリング速度が低下することでアルブミンが刷子縁や細胞体に蓄積している可能性がある。今後、加齢に伴う cubilin, megalin の量的質的変化がアルブミン結合能やエンドサイトーシス活性に及ぼす影響およびエンドサイトーシスに関わる他のタンパク質の加齢変化について調べていきたい。

Keywords: albuminuria, cubilin, megalin, F344, kidney

P-38 高年齢 F344 ラット肝臓における mouse vas
deferens protein (MVDP) mRNA 発現誘導

川上恭司郎、後藤佐多良、高橋良哉
東邦大学薬学部生化学教室

Mouse vas deferens protein (MVDP) は雄マウス、ラットの輸精管や副腎に発現するアルドケトレダクターゼの一種であり、肝臓や脳などの組織では発現がみられないとされている。ところが、雄ラットが高齢期に入ると MVDP mRNA が肝臓で急激に発現を開始することを本研究ではじめて見出した。MVDP mRNA 発現開始時期は、性ホルモンにより発現制御を受けている major urinary protein (MUP) 遺伝子の発現が消失する時期とほぼ同じであったことから、MVDP 遺伝子発現制御に性ホルモンの関与が考えられた。そこで本研究では、高年齢ラット肝臓における MVDP 遺伝子発現誘導機構を明らかにする研究の一環として、既知の性ホルモン制御遺伝子発現の加齢変化、MVDP 遺伝子発現の性差や性ホルモン投与が発現量に及ぼす影響を調べた。

雄ラット肝臓では、MVDP mRNA は 22~700 日齢では検出されず 800 日齢を過ぎたところから急激に増加する。ところが雌では、若齢期から高齢期に至るまで高いレベル (高年齢雄ラットの約 2 倍) で比較的安定に発現していた。性ホルモンにより雌雄で特異的に制御を受けて発現している cytochrome P450 (CYP) の mRNA 発現レベルの加齢変化を調べたところ、雌特異的 CYP mRNA は MVDP mRNA と同様の発現変化を示した。さらに、高齢期の雄の MVDP mRNA 発現誘導時期に血漿中のエストロゲン濃度の上昇が見られ、若齢雄ラットにエストロゲンを投与することにより MVDP mRNA が誘導されることがわかった。これらの結果は、高年齢雄ラット肝臓における MVDP mRNA 発現誘導は高齢期における血漿エストロゲン濃度上昇に伴う影響による可能性を示唆している。

Keywords: F344, liver, mouse vas deferens protein, major urinary protein, cytochrome P450, sex hormone

P-40 活性型 hHSF1 トランスジェニックマウスにおける
AApoAII アミロイドーシスの抑制

張 倍茹、付 笑影、葛 鳳霞、巖 景民、姚 俊深、張 恒宇、澤下 仁子、森 政之、中井 彰*、樋口 京一
信州大学医学研究科加齢生物学分野*山口大学医学研究科生化学第二

【目的】アミロイドーシスは、タンパク質のミスフォールディング病である。マウス老化アミロイドーシスでは apoA-II が アミロイド線維(AApoAII)を形成して全身に沈着する。Heat shock proteins (Hsps)は、分子シャペロンとしてタンパク質のフォールディングを調節する。Hsp の発現は HSF1 が誘導できる。今回我々は、活性型 hHSF1 トランスジェニック(Tg)マウスを用いて、マウス AApoAII アミロイドーシスに対する hHSF1 の抑制機構について検討した。【方法】活性型 hHSF1 を発現した雌 Tg マウスとアミロイドーシスを発症する apoA-II の対立遺伝子 (Apoa2^o) を持つ雄 R1.P1-Apoa2^o マウスを交配した。第2世代における、Apoa2^o アリルを持つ hHSF1^{+/+} 及び hHSF1^{-/-} 雌マウスを使用した。2ヶ月齢のマウスに、AApoAII アミロイドーシスを誘導するために、1µg の AApoAII アミロイド線維を尾静脈に投与した。投与後、2ヶ月及び4ヶ月にマウスのアミロイド沈着程度 (Amyloid Index; AI) を観察した。同時に、hHSF1 と Hsps 発現も観察した。【結果】① hHSF1^{+/+} マウスで心臓のみに hHSF1 タンパク質の発現が認められた。② hHSF1^{-/-} マウスの心臓において、Hsp27 及び Hsp70 タンパク質の発現量が著しく増加していた。③ AI は hHSF1^{-/-} マウスより hHSF1^{+/+} マウスの方が有意に低くなった。しかし、それぞれの臓器を比較すると hHSF1^{+/+} マウスのアミロイド沈着程度は心臓のみで有意に低いことが認められた。④ アミロイド線維投与後、心筋細胞の主な構造タンパクである α -actin の量が顕著に減少した。【結論】①心臓での活性型 hHSF1 の過剰発現により AApoAII アミロイド沈着が抑制された。この沈着抑制は発現増加した Hsp27 及び Hsp70 タンパク質などのシャペロン効果によるものと考えられた。②AApoAII アミロイドの沈着により心筋細胞のアクチンの量が減少した。

Keywords: heat shock protein アミロイドーシス HSF1

P-41 MANDIBULAR ADVANCEMENT AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE MANDIBLE OF FEMALE MICE OF DIFFERENT AGES

Maria Leticia Rassi Guimarães (1), Dalva Maria Pereira Padilha (2), Sidia Maria Callegari-Jacques (3), Emilio Antônio Jeckel-Neto (4) (1) Biomedical Gerontology Post-graduate Program, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil. (2) Gerontology and Geriatrics Institute, PUCRS. (3) Statistics Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). (4) Bioscience Faculty, PUCRS.

The mandibular advancement (MA) by means of functional orthopedic techniques is currently used in young patients to stimulate the mandibular growth. This study aimed to evaluate the mandible morphological changes in 2, 7 and 16 months female mice after MA. Every three days during a month, the lower incisors were trimmed in one millimeter to exceed the protrusion movement when the animal was feeding. The left mandibles of the 30 experimental and 28 control animals were dissected and analysed linear/angular measurements. The condylar microstructure was analysed by Scanning Electron Microscopy. The MA produced a growth response in different regions in 2 and 16 months and a cartilage regeneration in 7 months. Thus, confirming different morphological responses to MA in different ages of female mice.

P-43 グライコプロテオミクスによる新規老化マーカー糖蛋白質の発見及びその性状解析

○佐藤雄治¹⁾、早川雅人²⁾、山本貴樹³⁾、桜井洋子¹⁾、戸田年総³⁾、山本晴彦²⁾、遠藤玉夫¹⁾

(1、都老人研・老化ゲノム機能、2、神奈川大・理、3、都老人研・老化ゲノムバイオマーカー)

【目的】我々はこれまでに、アルツハイマー病患者脳より調製した細胞質タンパク質が N-結合型糖鎖による修飾を受ける事を明らかにして来た。そこで自然老化に伴って細胞質中に N-結合型糖鎖による修飾を受けた蛋白質が増加するのかどうか、二次元電気泳動とレクチンを組み合わせた解析により検討した。発現量の増加した糖蛋白質の同定を行い、更に性状解析を行った。

【方法】9 週齢の若齢及び 34 月齢の老齢ラット大脳皮質可溶性糖蛋白質を二次元電気泳動で分画後、PVDF 膜に転写し ConA にて糖蛋白質を検出した。老化に伴い増加したスポットを ConA-Sepharose にて精製濃縮し、二次元電気泳動にて分画後スポットを回収した。トリプシン消化後、Nano-1LC-ESI-Q-TOF/MS により同定を行った。更に特異的抗体を用いて Western blotting による解析、および免疫組織化学的解析による発現部位の解析を行った。また初代培養細胞を用いて細胞外刺激による発現部位の変化を検討した。

【結果】老齢ラットで発現の高いスポットは、リソソームの蛋白質分解酵素である Cathepsin D と同定された。さらに、老化に伴って可溶性画分中の発現量が増加している事が明らかとなったが、これは単なるリソソーム膜の破綻によるものではなかった。更に免疫組織化学的解析から、Cathepsin D は神経細胞に高発現しており、その発現量が老齢では顕著に増加していた。また初代培養神経細胞に対する酸化刺激、プロテオソーム阻害剤により Cathepsin D の細胞質への移行が観察された。

【考察】今後、細胞質 Cathepsin D は新たな老化の Biomarker として期待されるとともに、このような特定の糖蛋白質が細胞質に蓄積するという現象がなぜ起こるのかを明らかにしてゆくことは、新たな老化の分子機構の解明につながるのではないかと期待される。

Keywords: Glycoprotein, Aging, Brain, Glycoproteomics

P-42 成長ホルモンを欠如する矮小体軀症ラット (SDR) に見られた寿命延長

倉本和直²⁾、新海正¹⁾、田原正一¹⁾、佐々木徹¹⁾、松本茂信¹⁾、金子孝夫¹⁾、近藤昊³⁾、矢鍋誠¹⁾、高木勝平¹⁾(都老人研¹⁾、老化制御マーカー²⁾動物施設、³⁾人間総合科学大、⁴⁾日本エスエルシー(株))

【目的】GH、PRL、TSH を遺伝的に欠く Ames 矮小マウスおよび Snell 矮小マウスは長寿となり、その機序として、抗酸化酵素活性上昇が示唆されている。我々は、ラットでの同種モデルとして、SD ラットより自然発生した、GH を欠く矮小ラット、SDR (Spontaneous Dwarf Rat) を検討している。本ラットについて、第 27 回本学会では、肝、心、腎における GPx 活性上昇を、また第 28 回本学会では、酸化ストレス抵抗性増大を報告した。今回は、本ラットの寿命、加齢性疾患などについて報告する。

【方法】SDR の繁殖タイプ動物雌雄各 34 匹 (24~32 週齢) を、2003 年 4 月~12 月に日本エスエルシー(株)より都老人研動物施設に導入し、その後、自然死するまで飼育し、寿命を測定した。死亡動物は剖検した。

【結果および考察】SDR の平均寿命±標準偏差は、雄は 29.2±3.3 月齢であり、雌は 26.8±5.3 月齢であった。対照動物としては、本ラット開発時点の由来 SD が最適と考えられたので、その寿命を文献的に調査し、雄 22.4±4.6 月齢、雌 24.3±5.8 月齢のデータを得た (Muraoka, Y. et al., 1976, 一部改変)。このデータを用いると、SDR の寿命比率は、雄 130.4%、雌 110.3% となり、雌雄とも寿命延長が見られた。剖検結果からは、この寿命延長は、雄では重度腎疾患 (慢性腎症) の減少、雌では下垂体腫瘍の減少と関連すると思われた。本ラットの死亡時病変としては、切歯咬合不全 (過剰伸長) (雌雄)、心疾患 (雌雄)、脳出血 (雌) などが多く認められた。SDR は、Ames 矮小マウスおよび Snell 矮小マウスに類似する寿命延長が見られることから、GH 抑制による寿命延長機序の解明に有用な動物モデルと考えられる。

【Keywords】矮小体軀症ラット、寿命、加齢性疾患

P-44 ラット部分的膀胱排出路狭窄モデルにおける膀胱排尿筋の Angiotensin II type 1 (AT1) 受容体の発現変化検

長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・腎泌尿器病態学

東武昇平、野口 満、畑口鉄平、松尾朋博、森 健一、松尾 学、金武 洋

【目的】高齢男性の多くが前立腺肥大症 (BPH) による排尿障害を呈し、これによる膀胱機能障害が認められる。長期になると排尿筋収縮不全となり、それに対する有効な薬剤もない。臓器障害の病態生理にレニン-アンジオテンシン系 (RAS 系) が深く関与していることが知られているが、膀胱機能障害に対する RAS 系に関する検討は少ない。我々は膀胱機能障害における RAS 系の関与について BPH モデルであるラット部分的膀胱排出路狭窄モデルを使用し排尿筋における Angiotensin II type 1 (AT1) 受容体発現変化を検討した。【対象と方法】12 週齢の雌 Wistar ラットを用い、尿道内にポリエチレンカテーテルを留置し、4-0 糸にて尿道を結紮した部分的膀胱排出路モデル (BOO 群) とコントロール群 (Sham 群) の 2 群を対象とした。モデル作製後 2, 4, 8 週目に膀胱内圧を測定したのち膀胱を摘出。摘出膀胱について抗 AT1 受容体抗体を用いて、免疫組織染色を行った。【結果】Sham 群と比較して、BOO モデルでは 2 週後に排尿筋圧の上昇を認めたが、4 週後には排尿筋力は低下し、8 週後には排尿筋圧は消失しており、溢流性尿失禁の状態であった。免疫組織染色において、AT1 受容体は Sham 群では各週で排尿筋の細胞膜に発現を認めた。しかし、BOO 群では 2 週後より AT1 受容体の発現低下を認め、8 週後には AT1 の発現は確認できなかった。【結論】BPH による膀胱機能障害の病態に RAS 系の関与が示唆された。このことは、高齢男性の膀胱機能低下に対する新たな治療法開発につながる可能性があるものと思われる。

P-45 抗酸化物質によるラット認識機能障害の改善

芝浦工大・生化 浦野四郎、大和田 敬、武田広宣、山崎真樹子
エーザイ 阿部皓一

脳神経系の老化に関して、酸化的ストレスにより発生する活性酸素が神経系に傷害を与え、神経の退行性変化を誘発するとの説がある。この考えからすれば、ビタミンEをはじめとする抗酸化物質により防御できる事が期待される。ラットへの抗酸化物質の投与によって認識機能が改善されるという報告はなされていない。本研究ではこの点を明らかにする目的で、若齢ラットに酸化的ストレスを与え記憶能の低下の有無、正常な飼育による老齢ラットとの比較、抗酸化物質の認識機能改善効果について検討した。

3月齢、23月齢のWistarラットを用い、モーリス水迷路装置を用いたプラットフォーム位置の学習を行った後、若齢ラットには酸化的ストレスとして高濃度酸素を48時間負荷した。老齢ラットは48時間大気下で飼育した。一方、学習3週間前から抗酸化物質として、ビタミンE、コエンザイムQ10、ピロキノリキノン(PQQ)含有飼料を投与し、学習記憶能を測定した。

その結果、酸化的ストレスにより若齢ラットの記憶能が低下し、老齢ラットでは大気下飼育でも低下した。それぞれの物質による、若齢群の学習能は改善されなかったが、酸化的ストレス後の記憶低下は改善された。興味あることに、老化したラットへのビタミンEの投与により学習能が改善され、記憶の低下も防御された。従来から老齢ラットへのビタミンE投与による認識機能改善は否定的であったが、本研究では明確な改善効果を示した。この要因の一つとして、ビタミンEにより認識機能を司る海馬領への傷害が軽減された可能性が考えられる。したがって、認識機能低下が、抗酸化物質によって予防効果を示すものと考えられた。

*****サテライトシンポジウムのお知らせ*****

AACL-Nagasaki Symposium

ASIAN AGING 2006: The Regional Aging Connection and the Future

日時：平成18年6月17日（土）9：30～17：30

会場：やすらぎ伊王島 海に見えるホテル 浜風のホール

長崎市伊王島町 電話 095-898-2202

討論主題：アジアの老化研究動向、老化における遺伝子発現とシグナル伝達、記憶・可塑性と脳の老化および神経変性疾患、栄養代謝とカロリー制限と老化

招待講演：Sang Chul Park, Bill P Chan, Eun Seong Hwang, In Kwon Chung, Makoto Kuroo, Kyu Won Kim, Eun-Kyoung Choi, Stephan Spindler, Hae Young Chung, Jim Nelson, 田平武、丸山直記、遠藤昌吾、坂口末広、岩坪威、他

プログラム：

9:30-9:45

Welcome Remarks: Shigeru Katamine

General Introduction Nozomu Mori

9:45-10:30

Perspectives on Aging in Japan and Asia

Sang Chul Park (SNU, Seoul)

Bill P. Chan (AIB, Beijing)

Takeshi Tabira (NILS, Oobu)

10:40-12:00

Gene regulation and Signal transduction in Aging

Eun Seong Hwang (Seoul, Seoul)

In Kwon Chung (Yonsei, Seoul)

Naoki Maruyama (TMIG, Tokyo)

Makoto Kuroo (Dallas, TX)

13:20-15:20

Memory, Plasticity and Brain Aging

Shogo Endo (OIST, Okinawa)
Nozomu Mori (Nagasaki)
Kyu Won Kim (SNU, Seoul)
Suehiro Sakaguchi (Tokushima)
Eun-Kyoung Choi (Hallym, Seoul)
Takeshi Iwatsubo (Tokyo)

15:50-17:10

Nutrition and Neuroendocrine Controls of Aging

Stephan Spindler (Riverside, CA)
Hae Young Chung (Pusan)
Jim Nelson (San Antonio, TX)
Isao Shimokawa (Nagasaki)

参加費：一般 2000 円、学生 500 円

参加申込方法：下記へメールにて連絡。当日参加も可能ですが、なるべく事前参加申込をして下さい。

会場について：伊王島は長崎駅から路面電車で二つ目の電停「大波止」の港からフェリーで20分足らずの温泉付きリゾートです。フェリーポートから8:50に出航しますので当日の朝8:40分までには乗り場にお越し下さい。伊王島への「日帰り入浴券」980円で往復のフェリー代金と温泉入浴（タオルセット付）を含みます。港から左手へ徒歩2分の「海に見えるホテル」の2階「浜風のホール」がシンポジウムの会場となります。帰りのフェリーは伊王島の港を17:26発17:45大波止着、あるいは20:30発20:49着、21:57発22:16着があります。島にはホテルがありますので宿泊も可能です。詳しくはホームページ <http://www.ioujima.jp/> をご覧下さい。

問合せ・申込先：

〒852-8523 長崎市坂本 1-12-4 長崎大学医学部解剖学第一教室（森崎）

電話：095-849-7019 ファックス：095-849-7017 E-mail: morisaki@nagasaki-u.ac.jp

AACL-Nagasaki Symposium

ASIAN AGING 2006:

The Regional Aging Connection and the Future

June 17, Saturday, 2006
Ioujima Isld., Nagasaki

*Organized by Nozomu Mori and Isao Shimokawa
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences*

See <http://www.tmig.or.jp/ljsbg/> for more information
Registration: E-mail tomorisaki@nagasaki-u.ac.jp
Questions: call +81-95849-7019

9:30-9:45

Welcome Remarks: Shigeru Katamine
General Introduction: Nozomu Mori

9:45-10:30

Perspectives on Aging in Japan and Asia (Chair: S. Goto, N. Mori)
Sang Chul Park (SNU, Seoul)
Xiaomin Wang (CUMS, Beijing)
Takeshi Tabira (NILS, Oobu)

10:40-12:00

Gene regulation and Signal transduction in Aging (Chair: N. Maruyama, E.S. Hwang)
Eun Seong Hwang (Seoul)
In Kwon Chung (Yonsei, Seoul)
Naoki Maruyama (TMIG, Tokyo)
Makoto Kuroo (Dallas)

13:20-15:20

Memory, Plasticity and Brain Aging (Chair: N. Mori, E. K. Choi)
Shogo Endo (OIST, Okinawa)
Nozomu Mori (Nagasaki)
Kyu Won Kim (Seoul)
Suehiro Sakaguchi (Nagasaki/Tokushima)
Eun-Kyoung Choi (Hallym, Seoul)
Takeshi Iwatsubo (Tokyo)

15:50-17:10

Nutrition and Neuroendocrine Controls of Aging (Chair: I. Shimokawa, H.Y. Chung)
Stephan Spindler (Riverside)
Hae Young Chung (Pusan)
Jim Nelson (San Antonio)
Isao Shimokawa (Nagasaki)

Round Table Discussion on the Connection and Future of Asian Aging and Longevity



ホテル、温泉、アクティビティなどが充実。
リゾートアイランド「やすらぎ伊王島」



正面ゲート



メインエントランス フロント



やすらぎ市場



客室バルコニー



客室



創作旬味「うららか」



テニスコート



キッズガーデン



「やすらぎ伊王島」全景



「やすらぎ伊王島」夜景



網焼き旬味「ほむら庵」



檜風呂



露天風呂

第 二 部

【総 説】

解糖系代謝亢進による細胞老化抑止効果：

ワーバーク効果の知られざる側面

近藤 祥司

京都大学医学部附属病院 老年内科

要約

活性酸素による酸化ストレスは細胞あるいは個体老化に深く関わる事が知られている(フリーラジカル仮説)。活性酸素は生理的シグナル伝達のみならず、様々な疾患(動脈硬化、神経変性疾患、代謝異常、癌など)の病態形成に深く関わる。酸化ストレス耐性の獲得により、個体あるいは細胞寿命延長することも報告されている。最近、我々は、解糖系代謝亢進により、酸化ストレスが軽減し、細胞老化が抑止されることを報告した。解糖系阻害により細胞老化促進することも判明した。ヒトやマウスの細胞老化の課程では解糖系代謝が減弱する。さらに癌抑制遺伝子p53は解糖系酵素ホスホグリセリン酸ムターゼ(PGM)のタンパク量を転写後制御することも判明した。解糖系代謝亢進は、多くの癌細胞で観察される特性(ワーバーク効果)である。本稿では、老化と酸化ストレスの観点より、ワーバーク効果の知られざる側面について概説する。

1. はじめに

癌化した細胞の特性は、いくつか知られている。無限の細胞増殖能、増殖因子非依存性細胞増殖、アポトーシス誘導に対する耐性、血管形成能、遠隔転移能などである[1]。解糖系代謝亢進もまたよく知られた癌細胞の特性である。この特性を生かして、がん患者での転移巣の画像描出に、FDG-PET (2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucoseの取り込み評価)がよく用いられる。ほとんどの癌細胞では解糖系代謝亢進しているため、癌の原発巣や転移巣はアイソトープの取り込みの多いホットスポットとして描出される。

解糖系代謝亢進を癌細胞が示すことは、ワーバーク効果と呼ばれる[2]。およそ70年以上前に、オットー・ワーバーク博士が最初に癌細胞でのこのような解糖系亢進を報告したことによる。ワーバーク効果の従来の解釈では、癌組織が生体内で支配血管を超えて大きくなった場合に、固形癌組織中心部の低酸素条件に対する細胞適応として解糖系亢進すると考えられてきた(低酸素適応仮説)。しかし、癌細胞は20%酸素下(通常細胞培養条件)でも、解糖系亢進を維持する事が判明し、低酸素適応だけではワーバーク効果は説明できないという謎が残った[3]。

癌細胞増殖における解糖系亢進と血管新生の両者の制御は、低酸素により誘導される転写因子HIF-1がその一部を担う[4]。低酸素刺激により、ほとんどの細胞でHIF-1は誘導される。HIF-1は組織酸素化に関わる遺伝子発現を担う。血管新生や赤血球新生、細胞呼吸などに関わる遺伝子群が、HIF-1により直接発現制御されてい

る[5]。解糖系酵素のほとんども、HIF-1により発現制御を受ける。HIF-1や解糖系酵素の多くは、多くの癌組織や癌細胞で大量発現されている。HIF-1の発見により、低酸素による癌細胞での解糖系代謝亢進のメカニズムの解明は大きく進んだ。しかし、癌細胞が20%酸素下でも解糖系亢進を維持する事実は、HIF-1だけでは説明できない。

最近我々は、解糖系亢進が細胞老化抑止する一方、解糖系阻害が細胞老化促進することを報告した[6]。また、解糖系亢進により、酸化ストレスが軽減することを見つけた。これは、細胞老化阻止において果たすワーバーク効果の知られざる側面と考えられる[7]。さらに解糖系代謝亢進が、癌形成における比較的早い段階の生物学的現象である可能性も示唆する。本総説では、細胞老化と酸化ストレスの観点より、ワーバーク効果の新しい側面について概説する。

2. 酸化ストレスによる細胞老化

多くの通常体細胞は、細胞培養条件では細胞増殖能に限界があり、継代中に複製老化と呼ばれる恒久的に細胞周期が停止する(ハイフリックの成長限界)[8]。老化細胞は、巨大な単一核、平坦に広がった細胞質、PAI-1発現増加、SA-ベータガラクトシダーゼ活性などの特性を示す[9]。つまり複製老化した細胞は、代謝の観点からは生存しているが、DNA複製は停止した状態にある。

ヒト初期線維芽細胞において、主要な細胞老化の誘起因子の一つは、染色体末端のテロメア構造の破綻である。細胞培養では、継代中の細胞分裂ごとに起こるテロメア反復配列の短縮が恒常的細胞周期停止を引き起こす。テロメア配列延長は、特異的RNA逆転写酵素であるテロメララーゼが担う。テロメララーゼ大量発現によりヒト初期

連絡先：〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54

Tel:075-751-3777

E-mail:hkondoh@kuhp.kyoto-u.ac.jp

線維芽細胞の細胞老化は抑止される[10]。興味深いことにテロメア長には種間に大きな違いがある。マウスのテロメア長は約60kbであり、ヒトのそれに比べて(約12kb)非常に長い。非常に長いテロメアにもかかわらず、マウス初期線維芽細胞(MEF; mouse embryonic fibroblast)は、ヒト初期線維芽細胞に比して、急速に細胞老化し増殖停止する。このようにテロメア長が十分長いにもかかわらず細胞老化することより、テロメア長以外に細胞老化に影響する因子の存在が考えられる。実際、細胞がいかなる時期であろうと(老化直前か、最初期か)、テロメア非依存的に細胞老化が励起されることが確認されている[11]。例えば、発癌遺伝子発現が早期細胞老化誘導することが知られている[12]。このようなテロメア非依存的細胞老化では、その表現形は複製老化に非常に酷似する。発癌遺伝子発現により細胞老化誘導するという現象より、細胞老化には抗発癌機構としての側面もあることが判明した[9]。

テロメア構造以外の細胞老化誘起因子として、活性酸素蓄積による酸化ストレス障害がよく知られている[13,14](図1)。スーパーオキシドやヒドロキシラジカルのような活性酸素は、ミトコンドリアにおける代謝活動により主に産生される。紫外線、放射線、化学物質、高酸素濃度、過酸化水素などの環境因子によっても活性酸素は産生される[15]。通常、活性酸素は生体内シグナル伝達のセカンドメッセンジャーとしての機能も果たすが、異常な量の活性酸素は、生体内蛋白、脂質、DNAなどの大分子に対して酸化効果を発揮し、細胞、組織、あるいは個体レベルに障害をもたらす。

通常、細胞内に取り込まれた約90%の酸素は、ミトコンドリア呼吸鎖におけるエネルギー産生に用いられる。この反応で、酸素1分子に対し、4電子が付加されプロトン2分子とともに水2分子が放出される。細胞内に取り込まれた酸素の1-4%が部分還元型酸素あるいは活性酸素になると考えられている。ホルマンがフリーラジカル仮説を提唱して以来[16]、個体老化と酸化ストレスの

密接な関係が注目されてきた[17-19]。最近の報告より、酸化ストレスは細胞老化にも大きく影響することが判っている[20,21]。興味深いことに、発癌遺伝子発現による細胞老化も酸化ストレスと深い関係にある。

さらに、活性酸素蓄積は、複製老化でも観察される。低酸素での培養条件では、ヒトおよびマウスの初代線維芽細胞の細胞老化が抑止される[22]。不死化した細胞は、通常の培養条件でも酸化ストレス蓄積が少ない。不死化した細胞は、酸化ストレスに対する耐性も示す[6,23]。このように酸化ストレス耐性は、細胞不死化(老化抑止)の重要因子である。不死化細胞が酸化ストレス耐性を如何にして獲得するかそのメカニズムを知るために、通常細胞が細胞老化の過程でどのように酸化ストレスに対処適応するのか理解することが重要となる。

3. 酸化ストレス耐性による細胞老化抑制

通常の細胞では、酸化ストレスによる有害な効果为了避免するため、効率よく活性酸素除去する機構が働く。活性酸素を除去するいくつかの酵素が細胞内で産生される。スーパーオキシド・ジスムターゼ(SOD)により、スーパーオキシドは過酸化水素に変換される。過酸化水素は、カタラーゼ、グルタチオン・ペロキシダーゼ(GP)、ペロキシレドキシシン(PRX)などにより、水に変換される[24]。PRXやGPによる化学反応には、それぞれチオレドキシシン(TRX)や還元型グルタチオン(GSH)の触媒を必要とする。TRXやGSHはNADPHにより還元型に維持される。

これらの抗活性酸素酵素は、細胞老化にも影響することが知られている。SODの大量発現は初期線維芽細胞で細胞老化抑止効果を発揮する[25]。一方、SODの不活性化はp53の蓄積と共に細胞老化を促進する[26]。ガンマ・グルタミルシステイン・シンセターゼ(γ-GCS)の特異的阻害により、細胞内GSHプールが減少し、ある条件では細胞の酸化ストレスに対する感受性が増強する。

個体老化の観点からも、活性酸素除去は重要なステップである。SODあるいはカタラーゼを発現するトランスゲニック・ハエの個体寿命は延長される[27,28]。TRX発現トランスゲニックマウスでも寿命延長が観察された[29]。以上のように、活性酸素除去は細胞あるいは個体老化の両方に深く関わるので、その制御メカニズム解明が注目される。

細胞癌化においても、抗活性酸素機構がどのように制御されているのかは、重要な問題だ。興味深いことに、GSHやTRXの還元状態は、NADPHにより維持される。NADPHは、主にペントース・フォスフェート経路(PPP)を介して産生される。PPPは、解糖系代謝経路から派生する代謝経路である。よって、これらの代謝経路を通じて、細胞内の抗酸化ストレス能や細胞老化への影響が調節されうると推測されるが、その詳細は謎のままだった。後述する解糖系代謝と細胞老化の密接な関係を示唆する我々の最近の発見は、細胞老化抑止における抗活性酸素機構の解明に寄与するものと考えられる。

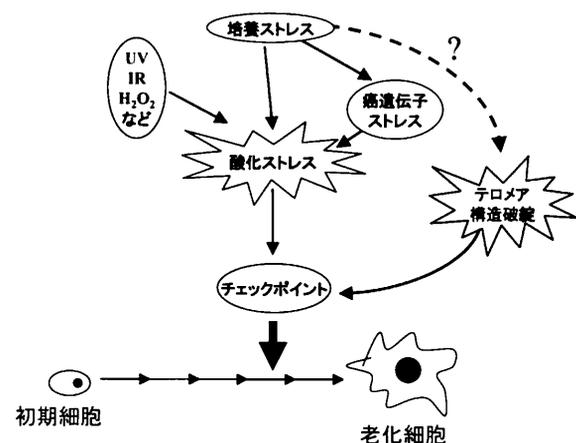


図1. 酸化ストレスによる細胞老化。

様々な刺激が酸化ストレスを励起することが知られている。酸化ストレスやテロメア構造の破綻は、非可逆的細胞周期停止である細胞老化を引き起こす。

4. 解糖系代謝亢進による細胞老化抑止効果

解糖系酵素が、マウス初代繊維芽細胞 (MEF) の細胞老化に大きく影響することを、我々は最近報告した[6]。レトロウィルスcDNAライブラリーを用いてMEFの細胞老化抑止スクリーニングを行い、解糖系酵素の一つであるホスホグリセリン酸ムターゼ (PGM) を単利した。PGMは3-ホスホグリセリン酸を2-ホスホグリセリン酸に変換する。他の解糖系酵素のなかで、グルコースリン酸イソメラーゼ (GPI) も同様の効果があることを見つけた。PGMやGPIの強発現により解糖系の代謝が亢進し、酸化ストレスが軽減しMEFの細胞寿命が延長する。逆にPGMやGPIのsiRNAによる不活性化は細胞老化を促進する (図2)。解糖系代謝はヒトやマウスの細胞で、細胞老化の課程で減弱する[6,30]。

解糖系代謝亢進が細胞老化を抑止するメカニズムは何か。解糖系代謝亢進により様々な酸化ストレスが減弱することが確認された (細胞質ROS染色やゲノムDNAの8-OHdG測定)。よって我々は、従来のワーバーク効果の解釈 (低酸素適応仮説) と異なり、解糖系代謝亢進は酸化ストレス軽減を通じて細胞老化抑止するという新しい仮説 (酸化ストレス軽減仮説) を提唱している[7]。

興味深いことにマウスES細胞も解糖系亢進を示した[6]。よって癌細胞同様、ES細胞もワーバーク効果を示す。ES細胞での解糖系代謝亢進は、ES細胞の酸化ストレス耐性や不死化に寄与しているのかもしれない。このような代謝特性は、ES細胞がゲノム改変を受けずに初期細胞として不死化能を保ちつつ、万能分化能も維持するのに重要かもしれない。

解糖系代謝亢進がいかんして酸化ストレスを軽減するかというメカニズムは謎のままだ。一つの可能性として、PPPを通じて、解糖系代謝が抗酸化ストレス効果を発揮するという仮説である。例えば、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD) は細胞増殖において重要であることが知られている[31]。G6PDはペントース・

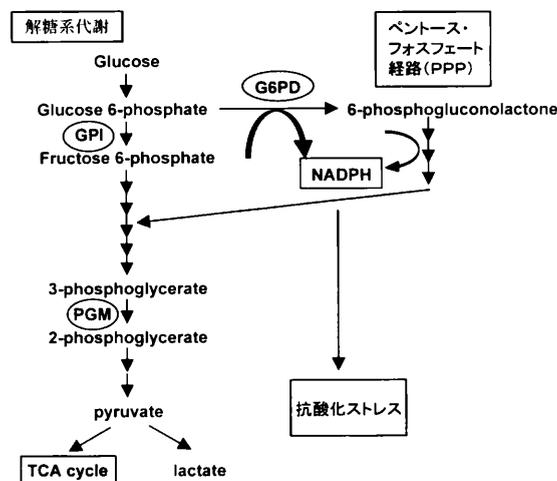


図2. 解糖系代謝経路とペントース・フォスフェート経路 (PPP)。

細胞老化に関わることが知られている酵素を、丸で囲んで示す。PPPはNADPHの供給により、生体内の活性酸素除去にも関与する。

ス・フォスフェート経路PPPの律速酵素である。G6PD欠損細胞は、細胞老化促進し、酸化ストレス蓄積する[32,33]。G6PD活性やNADPHプールは、細胞老化とともに減少する。G6PD欠損ES細胞は、酸化ストレスに著しい感受性を示し、アポトーシスを起こす[34]。解糖系代謝亢進はPPPを通じてNADPH産生を促進し、抗老化効果を発揮するのかもしれない。

5. 解糖系代謝の制御メカニズム

約70年以上前、オットー・ワーバーク博士により、癌細胞における解糖系代謝亢進が報告された。しかしながら、以下のようないくつかの理由より、ワーバーク効果は低酸素に対する細胞適応だけでは説明できない (低酸素適応仮説)。まず第一に、癌細胞は、通常の細胞培養条件である20%酸素下でも解糖系亢進を示す。これは解糖系亢進を維持するために癌細胞ではゲノム上あるいはエピジェネティックに安定した変異がすでに起こっていることを示唆する[3]。第二に、HIF-1の大量発現は細胞周期停止を示すことより、HIF-1を通じた低酸素適応では細胞増殖を促進できない。第三に、ミトコンドリア呼吸鎖反応によるATP36分子産生 (グルコース1分子当たり) に比べ、嫌氣的解糖系代謝は著しくエネルギー産生効率が悪いので (ATP2分子)、解糖系代謝亢進してもエネルギー効率が上がるとは断定できない。そして4番目に、我々は解糖系代謝亢進による細胞老化抑止効果を報告した事。

以上より、ワーバーク効果は、低酸素適応のみならず、知られざる生物学的側面をもつことが示された。細胞老化は、癌化の最初のバリアーとも考えられているので、解糖系代謝亢進は細胞癌化の比較的早期のイベントなのかもしれない。

最後に、ワーバーク効果の知られざる側面が明らかとなった今、解糖系代謝の制御機構の解明は今後重要である。解糖系阻害剤は、抗癌剤として検討されはじめている[35]。いくつかの癌遺伝子 (ras, c-myc, srcなど) やシグナル伝達キナーゼ (Akt, AMPKなど) が解糖系制御することが判明した[4,36,37] (図3)。癌抑制遺伝子p53も

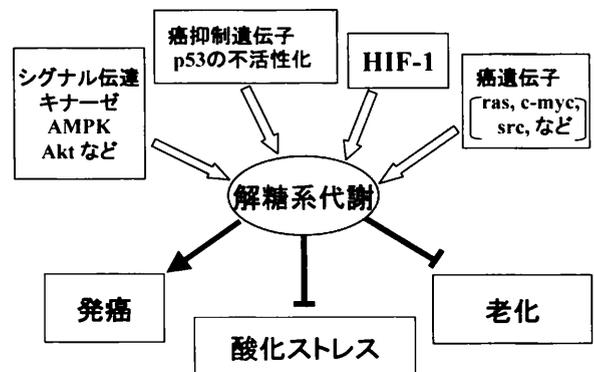


図3. ワーバーク効果の知られざる側面。

解糖系代謝の制御因子が数多く報告されている。解糖系代謝は、発癌機構だけではなく、抗細胞老化や抗酸化ストレスなどの生物学的効果にも関与する。

解糖系制御することがわかった[6]。p53の下流にある細胞老化制御遺伝子は、解糖系代謝を制御するのかもしれない。

転写因子HIF-1は、ほとんどの解糖系酵素を直接転写制御する。唯一の例外がPGMである[38]。PGMはp53により転写後制御を受けることが判明した[6]。PGMは、ある細胞種においては、解糖系の律速酵素として機能するので、抗癌治療のターゲットとなる可能性がある[39]。PFKは解糖系の律速酵素と信じられてきたが、PFKの大量発現は解糖系代謝にはほとんど影響しない[6,40]。解糖系代謝制御の複雑なメカニズム解明は今後の課題である。

謝辞

ここに記述された一連の研究成果は、David Beach教授 (ICMS, London) の指導のもと、近藤祥司が実験を行い coresponding author として発表したものである。その他にも、下記の助力いただいた数多くの研究者各位にも、深謝いたします。Gordon Peters博士 (CRUK, London), Jesus Gil 博士 (Imperial College, London), Jing Wang博士, Dolores Martinez (UCL, London), Amancio Carnero博士 (CNIO, Madrid), Matilde E Lleonart博士 (Hosp. Vall de'Hebron, Barcelona), Paolo Degan 博士 (NCRI, Genova), David Bernard博士 (Free Univ. Brussels), Scott Lowe教授 (Cold Spring Harbor lab, New York)。

文献

1. Hanahan, D. & Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57-70, 2000.
2. Warburg, O. The metabolism of tumours. Constable, 1930.
3. Gatenby, R.A. & Gillies, R.J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 4, 891-9, 2004.
4. Dang, C.V. & Semenza, G.L. Oncogenic alterations of metabolism. *Trends in Biochemical Sciences* 24, 68-72, 1999.
5. Semenza, G.L. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 588-594, 1998.
6. Kondoh, H. et al. Glycolytic enzymes can modulate cellular life span. *Cancer Res* 65, 177-85, 2005.
7. Kondoh, H., Lleonart, M.E., Gil, J., Beach, D. & Peters, G. Glycolysis and cellular immortalization. *Drug Discovery Today* 2, 263-267, 2005.
8. Hayflick, L. & Moorhead, P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25, 585-621, 1961.
9. Campisi, J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends in Cell Biology* 11, S27-31, 2001.
10. Bodnar, A.G. et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279, 349-52, 1998.
11. Wright, W.E. & Shay, J.W. Historical claims and current interpretations of replicative aging. *Nat Biotechnol* 20, 682-8, 2002.
12. Serrano, M., Lin, A.W., McCurrach, M.E., Beach, D. & Lowe, S.W. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 88, 593-602, 1997.
13. Lee, A.C. et al. Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. *J. Biol. Chem.* 274, 7936-40, 1999.
14. Parrinello, S. et al. Oxygen sensitivity severely limits the replicative lifespan of murine fibroblasts. *Nat Cell Biol.* 5, 741-7, 2003.
15. Beckman, K.B. & Ames, B.N. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev.* 78, 547-81, 1998.
16. Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11, 298-300, 1956.
17. Dillin, A. et al. Rates of behavior and aging specified by mitochondrial function during development. *Science* 298, 2398-401, 2002.
18. Larsen, P.L. & Clarke, C.F. Extension of life-span in *Caenorhabditis elegans* by a diet lacking coenzyme Q. *Science* 295, 120-3, 2002.
19. Rea, S. & Johnson, T.E. A metabolic model for life span determination in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell* 5, 197-203, 2003.
20. Chen, Q., Fischer, A., Reagan, J.D., Yan, L.J. & Ames, B.N. Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 92, 4337-41, 1995.
21. Chen, Q.M., Prowse, K.R., Tu, V.C., Purdom, S. & Linskens, M.H. Uncoupling the senescent phenotype from telomere shortening in hydrogen peroxide-treated fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 265, 294-303, 2001.
22. Itahana, K. et al. Control of the replicative life span of human fibroblasts by p16 and the polycomb protein Bmi-1. *Mol Cell Biol* 23, 389-401, 2003.
23. Lee, M.K., Hande, M.P. & Sabapathy, K. Ectopic mTERT expression in mouse embryonic stem cells does not affect differentiation but confers resistance to differentiation- and stress-induced p53-dependent apoptosis. *J Cell Sci*

- 118, 819-29, 2005.
24. Barzilai, A., Rotman, G. & Shiloh, Y. ATM deficiency and oxidative stress: a new dimension of defective response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 1, 3-25, 2002.
 25. Serra, V., von Zglinicki, T., Lorenz, M. & Saretzki, G. Extracellular superoxide dismutase is a major antioxidant in human fibroblasts and slows telomere shortening. *J Biol Chem* 278, 6824-30, 2003.
 26. Blander, G., de Oliveira, R.M., Conboy, C.M., Haigis, M. & Guarente, L. Superoxide dismutase 1 knock-down induces senescence in human fibroblasts. *J Biol Chem* 278, 38966-9, 2003.
 27. Parkes, T.L. et al. Extension of *Drosophila* life span by overexpression of human SOD1 in motorneurons. *Nat Genet* 19, 171-4, 1998.
 28. Orr, W.C. & Sohal, R.S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 263, 1128-30, 1994.
 29. Mitsui, A. et al. Overexpression of human thioredoxin in transgenic mice controls oxidative stress and life span. *Antioxid Redox Signal* 4, 693-6, 2002.
 30. Zwerschke, W. et al. Metabolic analysis of senescent human fibroblasts reveals a role for AMP in cellular senescence. *Biochem J* 376, 403-11, 2003.
 31. Tian, W.-N. et al. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity for cell growth. *J. Biol. Chem.* 273, 10609-10617, 1998.
 32. Cheng, M.L., Ho, H.Y., Wu, Y.H. & Chiu, D.T. Glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient cells show an increased propensity for oxidant-induced senescence. *Free Radic Biol Med* 36, 580-91, 2004.
 33. Ho, H.-Y. et al. Enhanced oxidative stress and accelerated cellular senescence in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient human fibroblasts. *Free Rad. Biol. Med.* 29, 156-169, 2000.
 34. Filosa, S. et al. Failure to increase glucose consumption through the pentose-phosphate pathway results in the death of glucose-6-phosphate dehydrogenase gene-deleted mouse embryonic stem cells subjected to oxidative stress. *Biochem J* 370, 935-43, 2003.
 35. Garber, K. Energy boost: the Warburg effect returns in a new theory of cancer. *J Natl Cancer Inst* 96, 1805-6, 2004.
 36. Elstrom, R.L. et al. Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer Res* 64, 3892-9, 2004.
 37. Carling, D. The AMP-activated protein kinase cascade—a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 29, 18-24, 2004.
 38. Iyer, N.V. et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes & Development* 12, 149-62, 1998.
 39. Xu, R.H. et al. Inhibition of glycolysis in cancer cells: a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. *Cancer Res* 65, 613-21, 2005.
 40. Urbano, A.M., Gillham, H., Groner, Y. & Brindle, K.M. Effects of overexpression of the liver subunit of 6-phosphofructo-1-kinase on the metabolism of a cultured mammalian cell line. *The Biochemical Journal* 352 Pt 3, 921-7, 2000.

Enhanced glycolysis extends cellular life span.

Hiroshi Kondoh

Department of Geriatric, Graduate school of Medicine, Kyoto University, 54 Kawara-cho,
Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8507, Japan

Abstract

Enhanced glycolysis is the prominent feature of most cancer cells in vivo and in vitro, called as the Warburg effect. This property can not be simply explained by the cellular adaptation to hypoxic condition in the core of tumor formation in vivo, because cancer cells maintain enhanced glycolysis under 20% oxygen in vitro. Our recent findings suggest enhanced glycolysis can protect primary cells from senescence effect of oxidative stress. Enhanced glycolysis via ectopic expression of phosphoglycerate mutase (PGM) can extend cellular life span, while PGM inactivation through specific siRNA can induce premature senescence. PGM protein level is posttranscriptionally regulated by p53 status. We will overview the novel aspect of the Warburg effect, linking to senescence and oxidative stress.

Key words: Glycolysis, phosphoglycerate mutase (PGM), The Warburg effect, senescence, oxidative stress

【随 筆】

基礎老化研究あれこれ (7)

アンチエイジングフレンチメニューの創作に挑戦

白澤 卓二

東京都老人総合研究所・老化ゲノムバイオマーカー研究チーム

これからはアンチエイジングライフで疾患を予防する時代

日本人の平均寿命は女性が85歳、男性が79歳で世界でも有数の長寿国になりました。過去1世紀の間に先進諸国では、平均寿命は30歳も延長しました。100年前の平均寿命50歳の時代に比べると、高齢期が30年間も延長したことになります。長い高齢期を活動的に、そして生き甲斐のある人生を全うするためには、病気の治療や療養の期間をなるべく少なくして、いわゆる健康寿命を延伸することが肝心です。そのためには、高齢期の生活の質を下げってしまう糖尿病、高血圧、心筋梗塞、脳卒中などの生活習慣病、あるいは高齢期に発症が増えるガン、また介護の原因となる骨粗鬆症、関節疾患、認知機能に障害をきたす認知症などの病気を予防することが重要になります。これらの病気の発症には10-20年もの無症候期があり、発症前の食生活や生活習慣が病気の発症に大きく関わっていることが明らかとされています。従って、中年期の食生活が高齢期に発症してくる病気の予防に極めて重要と考えられます。今後、平均寿命80歳の時代を健康に生き抜いて行くためには、自分自身の食事内容をアンチエイジング効果の観点から見直し、十分な栄養素を日々の食事の中で確保し、カロリーの取りすぎを予防し、抗酸化食材や植物化学物質(フィトケミカル)を食材に使うことにより、生活習慣病、ガンの発症を予防する時代がやって来ると予測されます。

アンチエイジングライフの実践では、食事と同様に定期的なエクササイズが重要です。最近、運動による生活習慣病やメタボリック症候群の予防効果が分子レベルで研究されています。また、実際の介護のフィールドでは、足腰の強化のための筋肉トレーニングが転倒予防や介護予防に有効であることが疫学調査や介入研究から明らかにされています。実際に、ヨガなどのストレッチやスタジオエクササイズは深部筋のトレーニングに有効です。骨盤底筋を中心とした深部筋のトレーニングは尿失禁予防に有効であることが示されています。これからは定期的なエクササイズを食事とともに、アンチエイジングライフの柱と位置づけることができます。

疾患予防のためのアンチエイジング食材

アンチエイジング食材として、最初に注目すべき栄養素が野菜、果物の中に含まれている植物化学物質(フィトケミカル)です。一般に我々が、毎日、食べている野菜の中に、数千種類以上のフィトケミカルが存在していると考えられています。これらのフィトケミカルは抗酸

化作用(サビを防止する作用)が認められるだけでなく、ガン細胞の増殖を抑制する作用である抗腫瘍作用も認められます。例えば、ブロッコリーの中には約200種類ものフィトケミカルが含まれているといわれています。最近、赤ワインで注目されているポリフェノールも本来、赤ブドウの中に含まれているフィトケミカルです。その他にも、緑茶の中に含まれるカテキンやカレー粉の中に含まれるクルクミン、キノコに含まれるβグルカン、緑黄色野菜に含まれるβカロチンなどすべてフィトケミカルです。野菜をベースにして、なるべくたくさんの種類の野菜や果物を食材として使うことが、アンチエイジングメニューの組み立ての基礎となります。

それでは、動物の肉の中には抗酸化物質がないかということではありません。魚や家畜の肉の中にも強力な抗酸化物質が含まれています。例えば、サーモンの中に含まれている微量成分の中にはビタミンB2、ビタミンE、ビタミンA、ビタミンB12、ビタミンDなどの身体に必要なビタミン類に加えて、アスタキサンチンという抗酸化物質が含まれています。アスタキサンチンはトマトに含まれているリコピンに構造が類似していますが、リコピンよりも強力な抗酸化作用が認められ、脳に移行することが知られています。このために、認知症など高齢期に発症してくる病気の予防に適した食材と考えられています。また、サーモンの中にはEPAといった、動脈硬化を予防するタイプの脂肪も含まれていることから、上手く料理に使えば様々な疾患を予防する食事を組み立てることが可能です。このように食材の基礎知識を持っていると、自らの健康増進する食事を組み立てることが可能になります。アンチエイジングライフを実践するにはまずアンチエイジング食材の選択から始めてみましょう。

スパイスやハーブを上手に使う事がアンチエイジングクッキングのコツ

料理の香りや味付けには、アンチエイジング効果の高いスパイスやハーブを使ってください。これらのスパイスやハーブの中には、微量の成分で健康を増進させる薬理作用を持つ化学成分が含まれています。野菜や果物の中に含まれているフィトケミカルにくらべ、スパイスやハーブの成分は薬理作用がはっきりしている点が特徴的です。料理に使う量が限られているのも、その薬理作用のためであるとも考えられます。しょうが、胡椒、シナモン、ターメリックなどは、少量で十分に味付けなどの役割を果たしていて、健康維持のためにも微量で作用し

うる成分が明らかにされています。例えばカレー粉として汎用されているターメリックのなかの化学成分、クルクミンには様々な薬理作用が実験室レベルで確認されています。ハツカネズミにクルクミンを毎日摂取させると、年を取ったネズミの死亡率を下げる効果があることが示されています。高齢期の認知症のなかでも、治療法が確立されていない病気として知られるアルツハイマー病は、アミロイドβというタンパク質が脳の中で病的に凝集を起こしてしまう病気であることが最近の研究で明らかにされています。驚いたことに、カレー粉の成分であるクルクミンを加えると、試験管の中のアミロイドβタンパク質の凝集が抑制されることが最近、明らかにされました。認知症の発症には10-20年の長い年月が必要なので、予防薬となると20年もの長期に渡り副作用を心配しながら薬を服用しなければなりません。もし、カレーの様な身近な親しみやすい食材を選択することにより、認知症予防効果のあるアンチエイジングメニューを組み立て日々実践することが出来れば、副作用もなく脳の中の病的変化を抑制し、アルツハイマー病の発症を予防することが可能となります。まさしく、自らの努力と知識とアンチエイジングライフの実践により自分の健康を作り上げていく予防医学の典型的なライフスタイルであると考えられます。

歴史から学ぶアンチエイジングクッキング

中国では秦の始皇帝が不老長寿を目指していたことは有名です。そのために「不老長寿の薬」を研究させていました。クコの実や蓮根、古代米などのアンチエイジング食材はこのような観点から秦の時代に登場してきた食材です。また、西洋ではローズマリーやタイムなどのハーブで肉の臭みを取ったり味付けする料理法はギリシャ時代やローマ時代に登場した料理法だといわれています。その点、オスマントルコは東洋のスパイスを西洋料理に導入するという役割をはたしたといわれています。クミンやコリアンダーなどの東洋系のスパイスを魚やサラダに使った料理がオリエント風、アラビア風と呼ばれるのはこのためです。メディチ家は現代フランス料理の原型を創ったといわれていますが、赤ワインを料理に使う手法もこの時代に登場したアンチエイジング調理法ですし、料理のレシピを残すという料理の文化もこの時代に生まれたやり方です。ナポレオン1世の時代にはいり、イタリア遠征でマレンゴの戦いで勝利をおさめた夜

にナポレオンのお抱え料理人デュナンが、手元にあった鶏を即席でオリーブとトマトで煮込んで創作した鶏のマレンゴ風は有名です。遠征から持ち帰った南国イタリアの食材が抗酸化に富んでいたために、当時アンチエイジングな料理がフランスで流行りました。

以下、昨年の秋から、麻布十番のフランス料理店「ユリス」とのコラボレーションで創作したアンチエイジングフレンチを紹介します。ユリスでのメニューではアンチエイジングの科学的エビデンスが蓄積しつつある食材や、歴史の中で健康に対する効果が経験的に実証されているきた食材を使い、抗酸化活性や抗炎症効果が失活しないような調理法で仕上げるように試行錯誤しています。下記に紹介した創作メニューは体の抗酸化と抗炎症によるアンチエイジングがテーマでした。

レストラン「ユリス」での創作アンチエイジングメニュー (秋の季節限定)

お食事前の一皿

Small appetizer

海老の燻製 トマトと紅玉のコンフィと共に 有機野菜のサラダを添えて

Starter

有機 春人参のポタージュ ハンティングハニーの香り
Soup

スコットランド産 極上サーモンのロースト ベジタブルカレーソース

Fish

バリアーニ社 グリーンオリーブオイルのアイスクリーム

Inter mezzo

千葉産 黒豚こんがりロースト クルミソース
Meat

紅玉リングのコンポートグラタン ローズマリーのアイスクリームを添えて

Dessert

【老化研究施設紹介】

「東京都老人総合研究所」

丸山 直記

東京都老人総合研究所 副所長

東京都老人総合研究所は1972年に東京都が将来の高齢化社会に対応するために設立された。当時、我が国において老化・老年学の研究基盤は決して十分なものではなく研究者の充足は極めて困難であったとのことである。初代研究所長には太田邦夫先生（故人、名誉会員）が就任され、養育院付属病院（現東京都老人医療センター）と連携して研究活動が開始された。発足当初は東京都の直営であったが1981年からは東京都が100%出資する財団法人となった。その後東京都の部局改編に伴い名称が様々に変遷したが現在の正式名は「財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団」に属する「東京都老人総合研究所」である。このような名称変更は昨今の大学の名称変更よりはまだましなようである。2003年に当学会設立25年を記念して発行された基礎老化研究には各国の研究者が寄稿していたが、全ての方が東京都老人総合研究所の設立が日本の老化研究においてエポックメイキングなことであったと述べており、非常に誇らしく思った。

当研究所のメンバーも多数参加して本学会が設立され、また現在も事務局が置かれていることもあり日本基礎老化学会への貢献は定められた使命であると自覚している。現在、東京都老人総合研究所における本学会の会員数は65名であるが新規採用の停止と退職者の増加により学会全体の会員数に影響を与えていることは残念である。

30年以上にわたり大学の講座制に類似した研究体制を維持してきたが、いわゆる「改革」の荒波を受けた。先年、外部委員の評価を受けて2005年度からは研究所の組織が大幅に改編された。30余りの研究グループを4つのチームにまとめてコア研究「老化ゲノムの解明」を推進することになった。半ば強制的にまとめられた様にも見えたので、発足当初は所員にかなり抵抗があったように見受けられたが、次第にグループの枠を超えた共同研究

や社会科学系の研究グループあるいは東京都老人医療センターとの共同研究が以前より活発になったように感じている。その4つの研究チームとは①老化バイオマーカー、②老年病のゲノム解析、③老化ゲノム機能、④健康長寿ゲノム探索である。5年後には再び外部評価を受けなければならないが、その後はどのような研究体制になるのかはわからないが当研究所に対する期待は大きいであろうと確信している。

当研究所の研究活動の特徴は社会科学の研究部門が含まれていることである。また東京都老人医療センターに隣接して、兼任の研究者もいることである。私自身もこのような環境が自分の老化研究へのモチベーションを著しく高めていると感じている。特に老人医療センターの診療に付随する研究リソースが永年にわたり蓄積され、利用が可能となっている事は特筆すべきである。私自身が属するグループでもプロテオーム研究グループの協力を得てブレインバンクに収集されたアルツハイマー病脳を解析して論文を発表できて喜んでいる。私が感じているもう一つの特徴は先日亡くなられた名誉会員である佐藤昭夫先生が中心となっていた電気生理学的老化研究である。国外の老化に関する学会に参加してしばしば感じるのは「細胞増殖能の低下」と老化の結びつきに関する研究が多い事である。この点で東京都老人総合研究所は日本基礎老化学会により幅広い研究のスペクトラムを提示していると思っている。平成7年に設立された国立療養所中部病院長寿医療研究センターは平成16年3月より国立長寿医療センター研究所となり老化研究への一層の貢献が期待されており、当研究所としても個性ある老化研究を展開し長寿医療センターとも協力し本学会の発展に尽くしたいと考えている。

【書 評】

「不老不死のサイエンス」新潮新書
三井 洋司著 新潮社 2006年03月発行

田中 雅嗣
東京都老人総合研究所 健康長寿ゲノム探索

日本の細胞老化研究のパイオニアの一人である著者が、最新の老化研究データに基づいて書き下ろした啓蒙書である。新書の帯には「老化はなぜ起こるのか？ヒトの寿命の限界は？」「ES細胞、再生医療……最新知識をやさしく解説」と書かれている。さらに帯には「ヒトが200歳まで生きられるようになるのも、そう遠い未来ではないと言ってもいいと思います。少なくとも、今年よりは来年、来年よりは再来年の方が、その展望ははるかに開けてくるでしょう。50年先には、病気というものは世の中からなくなっているかもしれない。100年先には、自由に寿命を選べる時代が来て、150年先には二百寿者が現れているかも知れません。」と本文からの引用がある。

楽観的な見解だとの印象を受けつつ、第3章 未来の知識編「こうすれば寿命をグングン延ばせる」から読み始めた。そこには、「寿命の延長に未来はあるか」、「再生医療技術は実用化に向かっている」、「人工臓器は可能性に満ちている」との節が設けられ、現在進められている研究の延長線上にある未来技術が紹介されている。著者の仮説として「成熟後期には有害となる遺伝子が発現してくる可能性がある。それを同定して、特異的に制御できれば、長寿動物を作り出せるだろう」という見通しが提示されている。さらに「個である自分が長寿を求めるのは種の進化の歴史に矛盾しないか」という疑問に対して、著者は「すでに生まれている者の生存権を優先するのが、人間の知恵でしょう。現在の個としてのあなたは思いつき幸せで、長寿でいいのです」と答えている。それ故に「思いつき、長寿の技を学んでみましょう。その後で最後に、種との調和を考えてみましょうか」と読者に呼びかけている。「再生医療技術は実用化に向かっている」の節では、「老化した内皮細胞を不死化細胞で置き換えたり、動脈硬化を予防したりする基礎実験が現在も進んでいる」と紹介している。これらの新技術紹介においては、著者の鋭い倫理観に裏付けられた記載が随所にみられる。「クローン技術からの応用」あるいは「人工臓器は可能性に満ちている」では、クローン動物が短寿命であることやES細胞の限界などが取り上げられている。さらに「遺伝子治療、そして遺伝子改変とは」においては、遺伝子改変によってヒトを変える発想に対して、「種が存続するために大事なものは、現在すぐれていると思わ

れる遺伝子に統一されてゆくことではなく、あらゆるタイプの、あらゆる特性を持った遺伝子が、今後も生き続けているということではないでしょうか」と説いている。

第3章の後半では、「アンチエイジング療法に効果はあるか」が論じられ、「サプリメントの功罪」の項では、ビタミン系および抗酸化系サプリメントの不自然さや過剰摂取の危険性に警鐘を鳴らしている。また「ホルモン療法は危険がいっぱい」の節では、成長ホルモンや性ホルモンの危険性を指摘し、「完全なデータが揃っていないうちに服用するのは、自分が実験モデルになるのと同じことなのです」と断罪している。それでは、どうすれば良いか、著者の最終的な結論については、「真のアンチエイジングはこれだ」の節があるので、お読み頂きたい。最後の「100歳でも青春を謳歌できる」の節では、生殖可能期間が延長すると予言し、「その時までには社会の中で二百年人生を支える態勢が整備されるだろう」「病気を克服した後の長寿を恐れることはありません。思う存分生きた後の長寿者には、死を受け入れる心の準備もできているのです」と飽くまでも楽観的に論議が展開されている。長寿を達成するための知識と手段「賢者の石」が獲得されたときに、どの手段を使うかについては「どう生きたいか」という個人の選択の問題になると指摘している。我々、基礎老化学者の役割としては、安心して寿命延伸の研究を続けていけば良さそうである。

第1章 基礎知識編「老化の謎にご招待」では老化に関するいくつかの基本的学説が紹介されている。第2章 最新の知識編「ここまでわかってきている」では、はじめに著者自身の血管内皮細胞の研究が紹介され、東京都老人総合研究所の設立当初の苦労や、エンドセリン発見の経緯が語られている。これを端緒として、細胞寿命、アポトーシス、テロメア、不死化細胞、早老症、活性酸素、カロリー制限の効果、レスベラトロールなど、多方面にわたって最近の話題が網羅されている。これらの知識に基づくと、第3章における著者の自信に満ちた明快な論理展開が理解できる。

このように、本書は「不老不死」を基本テーマとして最新の研究成果が紹介されているに止まらない。著者の老化研究におけるバランス感覚を吸収させていただくことができる好著である。

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30巻 第2号

平成18年（2006）5月26日

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

編集 編集委員会

印刷所 三陽工業株式会社

基礎老化学会サーキュラー 第70号

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

2006年5月26日 発行

会員異動.....2

【会員異動】

平成18年2月1日～平成18年4月27日

(入会者)

| 氏名 | 所属 | 〒 | 住所 |
|-------|---|----------|---------------|
| 早川 和生 | 大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻 総合ヘルスプロモーション科学講座 | 565-0871 | 吹田市山田丘1-7 |
| 本山 昇 | 国立長寿医療センター研究所 老年病研究部早期老化症研究室 | 474-8522 | 大府市森岡町源吾36-3 |
| 上田 祐輔 | 関西医科大学整形外科・第一病理 | 570-8506 | 守口市文圃町10-15 |
| 中西 真人 | 独立行政法人産業技術総合研究所・ ジーンファンクション研究センター・ 遺伝子治療技術開発チーム | 305-8562 | つくば市東1-1 中央第4 |
| 長岡 利栄 | 大阪大学生命機能研究科 心生物学グループ | 565-0871 | 吹田市山田丘1-3 |
| 遊長 由希 | 東京都老人総合研究所老化制御 | 173-0015 | 板橋区栄町35-2 |
| 吉田 啓俊 | 静岡県立大学大学院薬学研究科 製薬学専攻生物薬品化学教室 | 422-8526 | 静岡市駿河区谷田52-1 |
| 丸山 光生 | 国立長寿医療センター研究所 老化機構研究部 | 474-8522 | 大府市森岡町源吾36-3 |
| 古澤 元 | 東京都老人総合研究所老化制御 | 173-0015 | 板橋区栄町35-2 |

(所属変更)

| 氏名 | 所属 | 〒 | 住所 |
|-------|---|----------|-----------------|
| 熊谷 直子 | 新潟大学大学院自然科学研究科 基礎生命科学大講座 免疫生物学研究室 | 950-2181 | 新潟市五十嵐2の町8050番地 |
| 石田 佳幸 | 名古屋大学医学部 アイソトープ分館 | 466-8550 | 名古屋市昭和区鶴舞65 |
| 羽根田正隆 | 名古屋大学大学院医学系研究科 分子細胞免疫学 | 466-8550 | 名古屋市昭和区鶴舞町65 |
| 近藤 昊 | 人間総合科学大学 人間科学部健康栄養学科 | 339-8539 | さいたま市岩槻区馬込1288 |
| 井出 利憲 | 広島国際大学薬学部井出研究室 | 737-0112 | 呉市広古新開5-1-1 |
| 中島 光業 | 松山大学薬学部薬理学研究室 | 790-8578 | 松山市文京町4番地2 |
| 林 泰史 | 東京都リハビリテーション病院 | 131-0034 | 墨田区堤通2-14-1 |
| 安達 和俊 | 中京短期大学 | 509-6192 | 瑞浪市土岐町2216 |

伊藤 雅史 岐阜県国際バイオ研究所
長寿・老化研究部

504-8038 各務原市那加不動丘1-1

(退会者)

サノフィ・アベンティス株式会社、大日本インキ化学工業株式会社、高木康博、大沢智子、
小宮有加里、紙田正博、小西宏明、藤田拓男、道川祐市、佐藤 渉

基礎老化学会サーキュラー 第70号

2006年5月26日 発行
日本基礎老化学会

編集委員 白澤 卓二 (幹事)
事務局 〒173-0015
東京都板橋区栄町35-2
東京都老人総合研究所

印刷所 三陽工業株式会社

