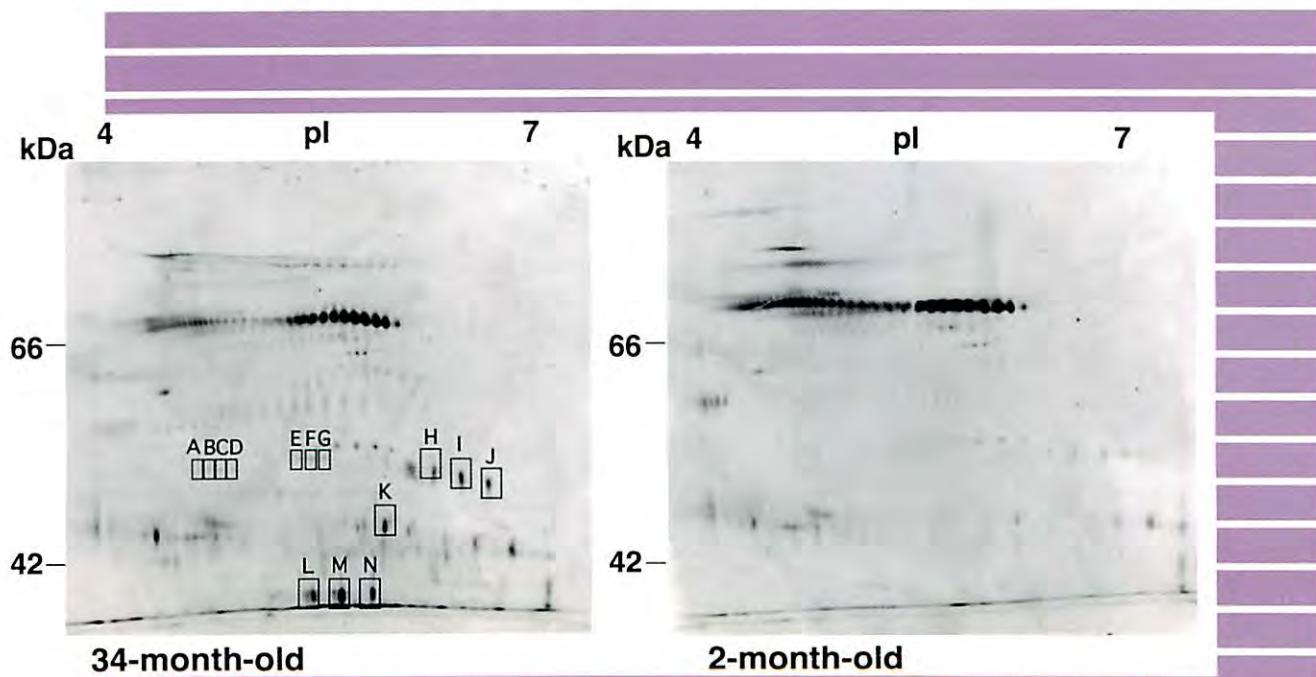


BIOMEDICAL GERONTOLOGY

基礎老化研究

第28回日本基礎老化学会シンポジウム（プログラム・発表抄録）

- | | | |
|-------------|---------------------------|------------|
| 追悼文 | 田内 久 先生を偲ぶ | 佐藤 稔子 |
| 総 説 | 老化と生体異物応答 | 平林 容子、井上 達 |
| 総 説 | 緑茶による脳の老化予防 | 海野けい子、星野 稔 |
| 研究報告 | グライコプロテオミクスによる新規老化マーカーの探索 | |
| | 遠藤 玉夫、佐藤 雄治 | |
| 研究報告 | 抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の病因と病態 | |
| | 重本 和宏、久保 幸穂、丸山 直記 | |
| パネルディスカッション | 基礎老化研究の未来 | |
| | 下川 功 | |
| 随 筆 | ● 基礎老化研究あれこれ（9） 白澤 卓二 | |
| 施設紹介 | ● 徳島文理大学 香川薬学研究棟 三井 洋司 | |
| 附 | ● 基礎老化学会サーティキュラー 第72号 | |



日本基礎老化学会会誌

編集委員会委員長：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

編集委員会幹事：内田洋子 東京都老人総合研究所 老年病のゲノム解析チーム
〒173-0015 板橋区栄町35-2

編集委員会委員：後藤佐多良 東邦大学 薬学部 生化学教室
〒274-0072 船橋市三山2-2-1
丸山和佳子 国立長寿医療センター 老年病研究部
〒474-8511 大府市森岡町源吾36-2
田中雅嗣 東京都老人総合研究所 健康長寿ゲノム探索チーム
〒173-0015 板橋区栄町35-2
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

堀田晴美 東京都老人総合研究所 老化ゲノム機能研究チーム
〒173-0015 板橋区栄町35-2

五味不二也 東京都老人総合研究所 老年病のゲノム解析チーム
〒173-0015 板橋区栄町35-2

BIOMEDICAL GERONTOLOGY

Vol. 30 No. 4 2006

Official Journal of The Japan Society for Biomedical Gerontology

Editor-in-Chief: Takuji Shirasawa, Research Team for Molecular Biomarkers, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Managing Editor: Yoko Uchida, Research Team for Geriatric Disorders, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Editors: Sataro Goto, Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University, 2-2-1 Miyama, Funabashi City, Chiba 274-0072, JAPAN

Wakako Maruyama, Department of Geriatric Research, National Center for Geriatrics and Gerontology, 36-2 Gengo, Morioka-cho, Obu City, Aichi 474-8511, JAPAN

Masashi Tanaka, Research Team for Longevity and Health, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Toshifusa Toda, Research Team for Molecular Biomarkers, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Harumi Hotta, Research Team for Functional Genomics, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Fujiya Gomi, Research Team for Geriatric Disorders, 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ーを使用する（原稿はコンピュータファイルとハードコピーで提出する）。1) 第1頁には、原稿の表題、著者名、所属機関、所在地を和文、英文で、また、電話番号、FAX番号、E-mailアドレス記載する。

著者が複数の場合は、連絡先の著者を明記する。2) 第2頁にも初めに、表題、氏名を書き、その後に本文を書く。3) 本文に節を設ける場合、1.、2.、3.、…を付けて節を示す。以下の項目は1)、2)、3)…、a)、b)、c)…とする。原稿のハードコピーはA4用紙を用い、横書きにプリントする。また、イタリック体、ギリシャ文字、記号が正しく出力されていることに注意する。同時に提出するコンピュータファイルは、テキストファイルまたはMSワードファイルで（欧語・数字は半角を用いる）、CDディスクに記録したものとする。図・表および写真は、EPS形式またはJPEG形式に圧縮したもの（使用ソフトを明記する）あるいはAdobe Acrobatで作製したPDFファイルおよびプリントアウトしたものをする。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. 卷頭言（展望） 刷り上がり1頁に収まるようとする。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。外国人の名は原語、地名はカタカナで表記する。
- 専門術語：それぞれの専門分野の用語集に従う。動植物の学名、遺伝子名などでイタリック体で印刷されるべきものについては、原稿に下線をつけるなどして区別する。
- 略語：初出箇所にフルタームの後に括弧で括った略語を記入する。可能なら日本語を入れる。
- 文体：「である」調とする。
- 数字・単位：数字はアラビア数字とし、単位は国際単位系を用いる。
- 5) 引用・参考文献：引用文献は論文中に引用した順に番号をつけて表示する。本文中では該当する位置に〔〕で括って表示する。1つの事柄に複数の論文を引用する場合には〔1.5.7〕または〔2-6〕のように記述する。著者名を引用する場合で3名以上の連名の時は、それ以下を“ら”を用いて省略する。末尾文献リストは引用した順とし、記載は以下の通りとする。未発表論文、私信は末尾文献リストには加えず、本文中の該当す

る位置に〔〕で括って表示する。

1. Sun J and Tower J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies. *Mol Cell Biol* 19:216-228, 1999.
2. Roth GS, Ingram DK and Cutler RG. Primate models for dietary restriction research. In: *Biological Effects of Dietary Restriction*, edited by Fishbein L. Berlin: Wiley, 1991. p. 193-204.
3. 仲村賢一, 下村・泉山七生貴, 田久保海誉 ヒト組織の加齢に伴うテロメア短縮. *基礎老化研究* 24:72-76, 2000.
- 6) 図、表、写真:そのまま印刷できるものに限る(手書きのもの受け付けない)。文献から引用する場合は、引用を明記すると共に、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可を取っておくこと(許可証のコピーを原稿と共に提出すること)。白黒またはグレースケールが原則。
- 7) 図、写真にはタイトルと説明文を付ける。
3. 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. 隨筆 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: 白澤卓二 (sirasawa@tmig.or.jp)
または、編集幹事: 内田洋子 (uchiday@tmig.or.jp)

目 次

第28回日本基礎老化学会シンポジウム	
プログラム1-2
発表抄録3-5
追悼文	
田内 久先生を偲ぶ 佐藤 稚子7-8
総説	
老化と生体異物応答 平林 容子、井上 達9-15
総説	
緑茶による脳の老化予防 海野けい子、星野 稔17-20
研究報告	
グライコプロテオミクスによる新規老化マーカーの探索 遠藤 玉夫、佐藤 雄治21-24
研究報告	
抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の病因と病態 重本 和宏、久保 幸穂、丸山 直記25-30
パネルディスカッション	
基礎老化研究の未来 下川 功31-36
随筆	
基礎老化研究あれこれ (9) 白澤 卓二37-38
施設紹介	
徳島文理大学 香川薬学研究棟 三井 洋司39-40
附	
基礎老化学会サーキュラー 第72号	

CONTENTS

<REVIEW>

Xenobiotic response in ageing.

Yoko Hirabayashi and Tohru Inoue9-15

<REVIEW>

Preventive effect of green tea on brain senescence.

Keiko Unno and Minoru Hoshino17-20

<PROGRESS REPORT>

Identification and characterization of a glycoprotein associated with aging.

Tamao Endo and Yuji Sato21-24

<PROGRESS REPORT>

Clinical features and molecular pathogenesis of myasthenia gravis caused by anti-MuSK antibodies.

Kazuhiro Shigemoto, Sachiko Kubo and Naoki Maruyama25-30

表紙：ラット大脳皮質可溶性画分の糖タンパク質のコンカナバリンAによる検出。

詳しい説明は、22ページ（研究報告）を参照。

第28回日本基礎老化学会シンポジウム

食品による寿命制御の分子機構

日 時：2006年 11月11日（土曜日）13:00 - 17:00

会 場：名古屋大学 シンポジオン会議室

名古屋市千種区不老町（地下鉄名城線名古屋大学前2番出口より徒歩5分）

<http://www.nagoya-u.ac.jp/info/profile2005/p23-map-all.html>

マップ9の位置

司会者：丸山和佳子（国立長寿医療センター研究所 老年病研究部）

目的

“食”による老化、老年病の予防は現在注目を集めている研究分野であり、国民の関心も高い。しかしながら現在我が国の“食”を取り巻く状況は一部マスコミの喧伝する健康食品が一大産業となっている一方、それらの効果を根拠に基づいた科学（evidence-based medicine, EBM）のレベルで検証していく取り組みは不足していると言わざるを得ない。本シンポジウムでは食品成分が酵母、ショウジョウバエ、ほ乳類といった異なる種において寿命に関連する遺伝子の発現を制御し、個体の寿命を延長させる機序について最新の研究成果の発表を行う。

座 長： 丸山和佳子

大澤 俊彦（名古屋大学大学院生命農学研究科 食品機能化学研究室）

13:00 ~13:20

丸山和佳子： Opening remark

13:20 ~14:00

丸山和佳子

テトラヒドロクルクミンによる寿命遺伝子制御の分子メカニズム

14:00~14:40

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チームリーダー 研究部長）

認知症予防のためのアンチエイジング食材

14:40 ~ 15:20 : Coffee break

山下 均（中部大学 生命健康科学部・生命医科学科 教授）

エボジアミンの抗肥満作用と健康長寿

15:20 ~15:40 : Coffee break

15:40~16:20

伊藤 雅史（岐阜県国際バイオ研究所 長寿老化研究部 部長）

寿命関連遺伝子の発現を調節するファイトケミカルズの探索

16:20 ~17:00

新田 淳美（名古屋大学大学院医学系研究科・助教授・医学部附属病院薬剤部 副部長）

ジペプチドによる神経保護作用の機序と臨床応用の可能性

シンポジオンへのアクセス



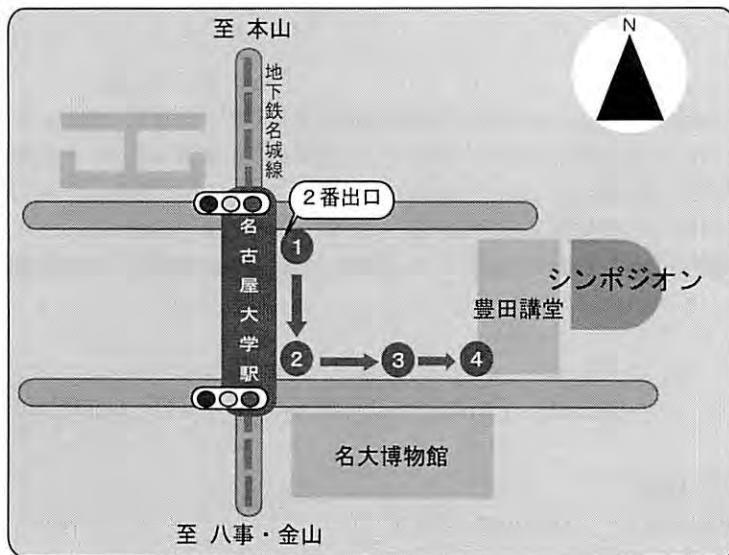
1 名古屋大学駅 2番出口

地下鉄名城線「名古屋大学」駅の
2番出口を出て、南へ進みます。
左手に芝生が見えます。



2 名古屋大学正門前

名古屋大学の正門から中に入ります。



3 豊田講堂前広場への階段



豊田講堂前広場への階段を上がります。

4 豊田講堂



この建物が豊田講堂です。

入り口の階段を登り、さらに奥に進むと
シンポジオンの入り口があります。

NEXCESS

発表抄録

テトラヒドロクルクミンによる寿命遺伝子制御の分子メカニズム

丸山和佳子^{1)*}、向 蘭^{1,4)}、松浦 彰³⁾、津田 玲生²⁾、大澤 俊彦⁴⁾

[1] 国立長寿医療センター老年病研究部、2] 同、老化機構研究部生体機能研究室、3] 千葉大学理学部生物学科、

4) 名古屋大学大学院生命農学研究科]

Wakako Maruyama, Dept. Geriatr. Med. Nat'l Center Geriatr. Gerontol

老年病とは加齢に伴う身体機能の障害、則ち老化を基盤として発症する諸疾患である。従って、老化のメカニズムを解明し、それを制御するヒトに応用可能な方法論を見いだすことで老年病を広く予防できる可能性がある。寿命に対する介入研究の中でもカロリー制限は酵母、線虫、げっ歯類という幅広い生物種に対し寿命を延長させるモデルとして確立しており、その分子メカニズムに関する研究が精力的に進められている。その結果、老化あるいは寿命を制御する共通の遺伝子やシグナル伝達系が見いだされた。しかしながらヒトの疫学研究では摂取カロリーの少ない群が長寿であるとの結果は得られず、BMIと平均寿命の関係は逆U字型を呈した。これは、SPFの飼育という特殊状況下の動物実験結果が必ずしもヒトに当てはまらないことを示している。特に、低カロリー摂取が感染など各種ストレスに対する耐性を低下させ、ヒトの寿命を短縮させた可能性が考えられた（カロリー摂取の不足している開発途上国においては感染症が、それが過剰になった先進国においては癌やメタボリックシンドロームが死因の上位を占めるのは周知の事実である）。

ヒトに応用可能な老年病の防御法を開発するため、食品由来成分が寿命関連遺伝子を制御し、その結果カロリー制限と同様に寿命を延長させる可能性について検討した。その結果、polyphenol類、特に赤ワイン由来のresveratrolやウコン由来のcurcuminの代謝化合物であるtetrahydrocurcumin (THC) が酵母およびキイロショウジョウバエの寿命を延長させることができた。resveratrolは哺乳類における寿命関連遺伝子 sirtuin の homologue であるSIRT1のfluorophore部分に共有結合することで、その酵素活性を上昇させることができた。しかし化学構造の異なるpolyphenol類全てがSIRT1と結合することは考えにくい。THCがsirtuin非依存的に酵母やショウジョウバエの遺伝子発現を制御することが microarray system による解析で示唆された。以上の結果は polyphenol 類の適正な摂取により、ヒトの老年病を防御するストラテジーが有効である可能性を示している。

認知症予防のためのアンチエイジング食材

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）

Takuji Shirasawa, Research Team for Molecular Biomarkers, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

日本国内に約300万人の老年性認知症の患者がいると推定されている。この中で、約半数がアルツハイマー病、残りの半分が脳血管性認知症である。いずれの認知症も、物忘れや認知機能の低下から始まり、最後は寝たきり状態となり要介護の状態に至る。両疾患ともに加齢が発症要因として重要である。早期発症型のアルツハイマー病をのぞけば、65歳を過ぎてから加齢依存的に発病率が上昇する。人口の高齢化に伴い患者数が増加するため、高齢者医療費に占める認知症に対する医療費、介護費用は増加の一途をたどっている。アルツハイマー病の病因に関しては、家族性のアルツハイマー病の遺伝学的研究から、3つの原因遺伝子と1つの危険因子遺伝子が明らかにされた。その原因遺伝子の1つであるアミロイド前駆タンパク質 (APP) 遺伝子を強制発現したトランスジェニックマウスがアルツハイマー病のモデルマウスとして汎用されるようになった。APPトランスジェニックマウスは1年程度で脳にアミロイド β タンパクが異常蓄積、老人斑が形成され、空間記憶障害を認める。そのため、実験室レベルでのアルツハイマー病の病態解明、治療薬の開発、予防法の確立に応用されている。このモデルマウスを用いて、アルツハイマー病の危険因子や防御因子を検証することが可能である。モデルマウスに高脂肪食を摂取させることにより、総カロリーの摂取過剰がアルツハイマー病の発症危険因子であることが明らかとなった。また、カロリー制限は発症リスクを3分の1に下げることがわかった。また、運動をさせたマウスは老人斑の形成が50%に減少していることから、定期的な運動が発症の予防効果があることが検証された。さらに、食材として、緑茶に含まれているEGCG（エピガロカテキンガレート）、クルクミンなどのポリフェノール類のフィトケミカル、DHA、EPAなどの不飽和脂肪酸がアルツハイマー病の発症予防効果があることが判明した。講演では、アミロイド β タンパクの凝集を阻害する食材のin vitroでのスクリーニングの結果、脳血管性認知症予防に有効な食材やそれらのアンチエイジング食材を使った料理も併せて紹介する

エボジアミンの抗肥満作用と健康長寿

山下 均（中部大学・生命健康科学部・生命医学科）

Hitoshi Yamashita, Department of Biomedical Sciences, College of Life and Health Sciences,
Chubu University

寿命延長作用を示すカロリー制限の対局にあるカロリーの余剰摂取により肥満が進行する。特に、内蔵肥満はメタボリックシンドロームの主要な病態であり、糖尿病をはじめとする様々な生活習慣病の発症頻度を高めることから、肥満の予防と治療は健康寿命を延ばすための有効な手段と考えられる。抗肥満における直接のターゲットは脂肪組織であり、脂肪細胞特異的インスリン受容体欠損マウスでは脂肪組織量の増加が抑えられ長寿となることが報告されている。

ヒトでの抗肥満戦略としては、エネルギー摂取を減らす、あるいはエネルギー消費を高めることにより抗肥満作用を示す薬剤などの開発が行われてきた。その一つは、交感神経系（主に β 3アドレナリン受容体： β 3-AR）の活性化による熱産生を介してエネルギー消費を促進する抗肥満剤の開発であり、この熱産生において中心的役割を担うのが褐色脂肪組織に特異的に発現するミトコンドリア脱共役蛋白質（Uncoupling protein-1, UCP1）である。しかし、一般的にヒトでは褐色脂肪組織は生後急速に消退し、成人以降UCP1を検出することが難しい。そこで我々は、UCP1のエネルギー代謝における役割についてUCP1欠損マウスを用いて検討を進め、①UCP1機能欠損が食事誘導性の肥満進展の素因となること¹⁾、② β 3-ARアゴニストはUCP1欠損マウスの食事誘導性肥満を改善することができないこと²⁾を報告した。

食品機能を利用した抗肥満としては、古くから食材として使われてきた唐辛子に含まれるカプサイシンがその代表として挙げられる。カプサイシンは強力な血管拡張作用により末梢からの熱放散を促進し、交感神経系及び褐色脂肪組織を活性化して熱産生を亢進することにより抗肥満作用を発揮すると考えられる。同様に、生薬吳茱萸(*Evodia rutaecarpa*)に含まれる主要なアルカロイド成分であるエボジアミンがカプサイシンと類似の抗肥満作用を有することが報告されている³⁾。しかしながら、UCP1機能をほとんど喪失したヒトにおいて、これらの機能性化合物が抗肥満作用を発揮することができるのか疑問がもたれた。

最近我々は、UCP1欠損マウスの食餌誘導性肥満に対するエボジアミンの効果を明らかにすることを目的に検討を行い、予想に反してエボジアミンがUCP1機能欠損型の肥満に対しても抗肥満作用を有することを見出した。また種々の検討から、エボジアミンは脂肪組織に直接作用し脂肪細胞の分化を強力に阻害することが明らかとなった。本講演では、脂肪細胞分化の阻害メカニズムを含めてエボジアミンの新しい抗肥満作用とその健康長寿へのインパクトについて論じたい。

(参考論文)

- 1) Kontani, Y. et al., UCP1 deficiency increases susceptibility to diet-induced obesity with age. *Aging Cell*, 4: 147-155, 2005.
- 2) Inokuma, K. et al., Indispensable role of mitochondrial UCP1 for anti-obesity effect of β 3-adrenergic stimulation. *Am. J. Physiol.*, 290: E1014-1021, 2006.
- 3) Kobayashi, Y. et al., Capsaicin-like anti-obese activities of evodiamine from fruits of *evodia rutaecarpa*, a vanilloid receptor agonist. *Planta Med.* 67: 628-633, 2001.

寿命関連遺伝子の発現を調節するファイトケミカルズの探索

伊藤 雅史（岐阜県国際バイオ研究所 長寿・老化研究部）

Masafumi Ito, Department of Longevity and Aging Research, Gifu International Institute of Biotechnology

カロリー制限をすると、酵母・線虫から哺乳類まで多岐にわたる生物で寿命が延長すること、脳卒中・心疾患・がん等の生活習慣病、アルツハイマー病・パーキンソン病等の神経変性疾患を含む老化関連疾患の発症・進行が遅延することは以前から知られていたが、その分子メカニズムは不明であった。

最近になり、カロリー制限下の生物で抑制されるInsulin・IGF-1のシグナル伝達に関わる遺伝子の機能を阻害すると、寿命が延長することが報告された。さらに、酵母でのカロリー制限による寿命延長にNAD依存性ヒストン脱アセチル化酵素Sir2 (Silent information regulator 2)が関与しており、Sir2の過剰発現により寿命が延長することが示された。また、赤ワイン等に多く含まれるポリフェノールの一一種レスベラトロールは、Sir2の酵素活性を上昇させ、酵母の寿命を延長させることができた。

哺乳動物では、Sir2ホモログの1つであるSIRT1が、p53・Ku70・FOXO等の非ヒストンタンパク質の脱アセチル化を介して細胞死を抑制すること、脂肪組織からの脂肪動員を促進することが示された。さらに、カロリー制限により

SIRT1 の発現レベルが増加すること、Wallerian degeneration slow マウスでは、遺伝子変異により NAD 生合成酵素 Nmnat1 の発現が増加し SIRT1 の酵素活性が上昇する結果、軸索変性に抵抗性を示すこと、ハンチントン病の線虫モデルで SIRT1 の過剰発現・レスペラトロール投与がポリグルタミン凝集による神経細胞死を抑制することが報告され、カロリー制限・SIRT1・レスペラトロールと寿命延長・老化関連疾患抑制との関連に注目が集まっている。

一方、1997 年、動脈硬化・骨粗鬆症・肺気腫等を発症し寿命が著しく短縮する老化促進マウスで、その責任遺伝子が新規の膜タンパク質 (Klotho) であることが明らかにされた。2005 年、Klotho を過剰発現させたマウスでは、寿命が延長すること、さらに、脳や腎臓でつくられる Klotho タンパクの一部は血液中に分泌され、末梢組織で Insulin・IGF-1 の作用を抑制するホルモンとして働くことが示された。

これら最近の知見から、寿命関連遺伝子である SIRT1・Klotho の発現を調節できる新規の物質がみつかれば、寿命延長・老化関連疾患抑制につながる可能性が期待される。当研究所では、これまで産官学の連携により、ファイトケミカルズおよび食物由来成分について、抗酸化作用、抗がん作用、神経保護作用等の生理活性およびその分子メカニズムを明らかにしてきている。一方で、これら天然由来の素材を対象に、遺伝子の転写活性を指標として、寿命関連遺伝子の発現レベルを増加させる物質のスクリーニングを始めている。本シンポジウムでは、SIRT1 遺伝子の転写制御機構、およびスクリーニングにより SIRT1 遺伝子の発現を増加させることができたファイトケミカルズについて報告を行う。

疎水性ジペプチド Leu-Ile の GDNF 誘導作用の神経保護作用

新田 淳美（名古屋大学大学院医学系研究科・医療薬学・医学部附属病院・薬剤部）

Atsumi Nitta. Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy. Nagoya University Graduate School of Medicine

最近のトレンドでは、アミノ酸やペプチドを含んだ食品が身体に良いとされている。これらのことから先駆けて、我々は、Leu-Ile という疎水性ジペプチドに着目し、神経保護作用についての検討を行ってきている。我々は、疎水性ジペプチドの Leu-Ile がグリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) の産生を誘導することによって神経保護作用を発現することを報告している (Nitta et al., J. Neurosci. Res. 78, 250-258, 2004)。しかし、そのメカニズムについては、全く分かっていない。本研究では、Leu-Ile の脳内結合タンパクを同定すると共に、Leu-Ile が、どのようなシグナル経路を介して GDNF の誘導を促進しているのかについて検討した。

Leu-Ile 結合タンパクの同定には、7 週令の雄性 ICR 系マウス脳を用いた。シグナル経路についての実験には、妊娠 17 日目のラット胎仔から調製した培養海馬神経細胞を用いた。

Leu-Ile とマウス脳ホモジネイト液を反応させ、特異的に結合したタンパクを LC-MS/MS によって解析したところ、hsc70 と高いホモロジーを示すことがわかった。水晶子振動法を用いることによって、Leu-Ile は hsc70 と高い親和性で結合することが分かった。Leu-Ile と同じ疎水性ジペプチドである Pro-Leu や Ile-Pro は hsc70 と結合しなかった。hsc70 は、hsp90 と結合することによって、Akt の活性を促し、さらに CREB を活性化することが報告されている (Basso et al., J. Biol. Chem. 277, 29858-29866, 2002)。Leu-Ile を添加した培養神経細胞においても、GDNF の産生誘導作用と共に Akt や CREB の活性化が観察された。hsp90 の阻害剤の geldanamycin を培養神経細胞に添加すると Leu-Ile による Akt と CREB 誘導作用や GDNF 産生誘導作用は抑制された。Akt 活性化には PI3-K を介する経路も知られているが、PI3-K の阻害剤の LY294002 を作用させても、Leu-Ile によるシグナルの活性化には影響を与えたなかった。CREB のアンチセンスヌクレオチドを培養神経細胞に作用させると、CREB タンパクの発現が有意に減少し、Leu-Ile による GDNF 産生誘導も観察されなくなった。

以上のことから、Leu-Ile は、脳内で hsc70 に結合し、Akt や CREB の活性化を介して、GDNF の産生を誘導し神経保護作用を発現していると考えられる。本研究によって、GDNF の産生誘導メカニズムが明らかになったと共に、Leu-Ile のような低分子化合物が GDNF の発現を増加させ、神経変性疾患の治療薬に結びつくことが示唆された。

上記、分子生物学的な内容に加えて、時間の許す限り、本ペプチドの神経変性モデルにおける作用について紹介するつもりである。

【追悼文】

田内 久先生を偲ぶ

佐藤 穆子

田内 久先生(日本基礎老化学会名誉会員)は2006年6月7日92歳の長寿をもって亡くなられた。

念願であった加齢医科学研究所で老化の研究に専念されたのを軸として、その半世紀に亘る老化研究の軌跡を紹介し、加えて研究協力者のひとりとして先生を語ることをお許しいただきたい。

大正2年岐阜県に生まれ、昭和12年(1937)23歳、名古屋医科大学(現名古屋大学医学部)卒業後、直ちに、大島福造先生主宰の病理学教室に入局された。

昭和13年(1938)揚子江上流の兵站病院に軍医として召集され、戦傷兵の治療の傍らマラリア、赤痢、栄養失調など、約600体の日本兵の剖検を担当。若年栄養失調症の臓器の萎縮と各大病理に保管されていた高齢者の種々の疾病例の臓器萎縮との差について注目されていた。昭和16年兵役解除、帰還。しかし昭和20年名大病理教室の資料の大部分は空襲により焼失してしまった。

昭和25年(1950)36歳、名古屋市立大学病理学教授。家兎の飢餓およびその快復実験を始められ、又一方ヒトの老若臓器萎縮例(肝)の微計測比較検討を始められた。この初期の成績から既に、若年者の栄養失調萎縮では個々細胞の萎縮(減容)が、老年者の萎縮では細胞の減数と個々細胞の代償性肥大による増容を認めておられる。この実験中、とくに飢餓快復家兎肝では興味ある細胞が、肝、腎、などに散見され(小型、凝縮状)、検討の末、コロイド溶液の老化とも共通するところから細胞個々の老衰死の形態像では?として“暗細胞”として報告された。

(Tauchi,H .& Nakamura, T. 1953)、先生39歳。

大島教授定年退官のあとをうけて名大病理学教授に就任。昭和33年7月(1958)45歳から、昭和52年3月(1977)63歳の定年退官までの19年間は、老化の研究などは病理学者のやることではないとの声、名古屋医学会での特別講演は(その年の新任教授がやることが恒例)(1959)、伊勢湾台風の名古屋直撃で延期される、など滑り出しあはかと騒然とし、後半は学園紛争下、嵐の中の医学部長、日本肺癌学会会長、日本病理学会会長など風の日ばかりではなかつた。

老化過程での実質細胞減数の説は略確立され、細胞夫々に定められている寿命・機能・分化によって減数の様相が異なること多くの臓器・組織の検討によって明らかにされてきた。育ってきた大学院生、広がって来た共同研究の輪、研究業績は豊かに実りつつあり、海外での高い評価も得られるようになっていた。このような各種のヒト、実験動物の臓器組織の微計測的検討を始め、

老化様相の人種差検討(在日、在ハワイ1,2世日本人、在米白人、在コスタリカ人などが比較され、人種差より、むしろ栄養環境—成長・成熟・老化のどの時期の栄養環境がどう影響するか—が問題にされた)。実験動物による再生実験の年齢差(部分的肝切除後、一側腎摘出後)の検討。甲状腺ホルモン・コチゾンなど投与後の年齢差(超微形態学的検討)。が行われた。又リポフスチンを細胞・組織内で自家蛍光色素として捉え、蛍光顕微鏡による形態学的・量的計測によって年齢差を検討した。(リポフスチンは老化の形態学的指標にはなり得ないetc.)。骨格筋線維を固定後のサンプルで酵素組織化学的手法によって2タイプにわけ、タイプ別の老化様相を観察した。など後2者の実験アイデアは学外研究協力者から提供され共同研究依頼があったもので、新しい分野の開拓となつた。老若動物のパラビオーゼ結合実験は大きなテーマで、なかなかまとまらず、共同研究者が夫々1パートを担当し、のち集大成しようという計画であった。

既に日本老年医学会は昭和34年11月に第1回総会が開催されていたが、老年医学会といつても最初は老年病学会といった方がしっくりする雰囲気であった。

先生名大退官の年、日本基礎老化学会(5回までは研究会)が山田正篤先生を第1回世話人として開催された。その時の特別講演は:田内 久 “老化の形態学、私どもの研究の回顧と展望”でこれまでの成績の総集結果を発表され、また“老化の形態学”(理工学社刊)の単行本として纏められた。

その後は研究に専念される予定で愛知医大に赴任されたと仄聞したが、当の愛知医大に事件がおこり、第4代、第6代の学長に選出されるという予期せぬ事態となつた。

(1977→1982),(1985→1991) この間昭和58年(1983)、加齢医科学研究所(加齢研)設立は実現し、初代所長に就任されたのも束の間、再び学長に選出されたのである。1981年には日本基礎老化研究会第5回大会世話人をつとめられ、ここでの総会で研究会は学会となつた。平成元年(1989年)には日本老年学会会長として、第13回日本基礎老化学会会長をつとめる佐藤・加齢医科学研究所あげて、先生の掲げられた学会のテーマ、“誇り高き天寿をめざして”総合展示パネルテーマ“百歳老人の病理とその背景”を軸に準備した。

先生が加齢研で学長職も解かれ研究に専念することが出来るようになられたのは実に平成4年(1992)78歳、予定とは15年のtime lagが出来ていたが、先生は意気軒昂であった。

百歳老人の検討は名古屋市厚生院の協力でかなりの数の例を検討することが出来、“生命の医学的究極像を探る”の目的に進んだ。これには田内先生を班長とする厚生省長寿科学総合研究事業の‘百寿者の社会医学的研究’への助成によるところが大であった。タイトルを変えて結局平成4年から10年まで続いた。(1992→1998)

加齢研の研究テーマとしては、老若動物のパラビオーゼ結合実験の見直し(動物をラットからマウスへ、また結合による双方の循環の詳細な検討etc.)。遊離肝細胞の老若動物脾臓への移植、長期観察(同じ年齢の動物の肝細胞でも移植先の動物の年齢により増殖は若い方で旺盛)。実験動物飼料の組成、量、を変化させるなら成長・成熟のどの時期にどうするかで、老化過程にはどう影響するかetc. を問題にする。この問題は大きく、研究協力者によって現在も系統的に続けられている。

大学院の海外留学生の受け入れにも先生は大いに力を注がれた。院生はブラジル、ポルトアレグレの老年医学研究所から是非田内先生のところへ、と紹介されて来日したのである。研究以外のところでも先生が大学当局に色々と助言してくださったので随分円滑にことが進んだ。研究面では優秀で実績をあげ、帰国後はなかなか活躍している。

1953年39歳の時発表された好酸性、小型脱水状細胞は、Dunkelzellen(Pfuhl) や、Zellkollaps(Helmke)の記載に一致し、等電点その他からもコロイド溶液の老化現象と呼ばれるものに一致する事から、個々細胞の老衰死に至る形態像であろうとされた(暗細胞)。1990年より百寿者例の検討が精力的に行われ、肝臓では重量が極限まで減少しているにも拘わらず細胞体の増容が顕著で、明らかに細胞減数が考えられ、暗細胞が屢々認められた。細胞減数も極限に近付き残された細胞の代償機能も残り僅かとなって些少の不適切な環境でも個々細胞の死が惹起され暗細胞化が進むと考えられた。しかもこの暗細胞は、近年プログラムされた細胞死として問題になっているapoptosisの形態像そのものといつてよく、老化減数に深く関連ありと考えている暗細胞の存在は既に田内先生らによって報告されていたのである。1991年佐藤が日本基礎老化学会でこのことを披露したところ、加治和彦先生が興味を示され、2002年の静岡健康長寿科学フォーラムでapoptosisが取り上げられ、「apoptosisと老

化・細胞死を考える」の講演をする羽目になり、当日加治座長は田内先生の古くからの老化と細胞減数の業績について丁寧に紹介してくださった。この間、ずばり老化とアポトーシスを特集のテーマにした雑誌もあり(1996),田内先生がかなり詳しい序、田沼靖一先生はじめ日本のapoptosisの研究者の報告が並んだ。半世紀前の報告と近年流行のapoptosisがぴったり、形態学的には無論、理論的にもドッキングして脚光を浴びたのは嬉しかった。

分担執筆、田内、佐藤、渡辺 編：日本の百寿者一生命の医学的究極像を探る—(中山書店)が上梓されたのは1997年、先生83歳、その英語版が愛知医大加齢研を出版元として刊行されたのが1999年、先生85歳の秋であった。

私は、昭和28年(1953)名市大病理教室に入局以来、米国での研究生活、20年余の愛知県がんセンター勤務など、常に同じ研室で、とは行かなかったが、名市大、名大で、そして愛知医大加齢研では、1988年から、先生の後任、又定年後も客員教授として先生の厳しい指導をうけ、一貫して田内病理学の共同研究者であり得たことを感謝もし、誇りにも思っている。

先生は、晩年難聴に悩まれたが、面倒なことには拘わらず、(都合のよいこともある?) 雜音に煩わされず自分の思索の世界に沈潜され、洞察力はむしろ研ぎ澄まされ、書く、読むことについては、ご自分にも、私達に対しても一層厳しくなられたようにさえ思われた。

生理的老化と病的老化を判別することこそ病理学者にしか出来ないことである。また細胞の老化と個体の老化も同一次元で考えてはならない、など厳しく研究姿勢を注意されたものであった。

先生は長寿を保たれたが故に若き日に示唆された研究テーマを気概を持って貫かれ、今やその価値が広く認められているのを自らも認めることができ、今日皆がチヤホヤする流行のテーマについても“実は50年前に報告しておりましたよ”と涼しい顔で言えるのである。

‘もって瞑すべし’と世にいう通りの締めくくりではなかろうか。

先生のご指導を受け、また研究協力者であり得たことありがとうございました

【総 説】

老化と生体異物応答

平林 容子¹・井上 達²¹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 毒性部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

要約

Benjamin Gompertz [1]が、縦軸に対数目盛で単位時間あたりの死亡率をとり、横軸に年齢をとると、ヒトの単位時間あたりの死亡率は指数函数的な直線関係、即ち、ゴンペルツ函数をとることを発見したのは180余年前のことである。放射線や生体障害物質の暴露により、実験動物の寿命は、実験的経験則として知られるとおり、促進老化型にその傾きの急峻化を生じ、また、カロリー制限動物や、チオレドキシンの導入発現による抗酸化マウスで観察すると、反対にこの直線は平坦化し、最長寿命の延伸へと傾いた。種々のエンドクリン作用様物質やベンゼンの暴露によって生ずるいくつかの遺伝子変異動物での筆者らの採取した実データにおける諸変化を通覧し、環境化学物質の生体異物応答の老化との関連を考察した。

キーワード：Gompertzian law of mortality, 放射線誘発白血病、ベンゼン誘発白血病

はじめに

生体と外来異物との相互作用を見るとき、異物による細胞・組織障害の発現機構と、細胞や個体の老化機構との間には密接な関係がある。毒性物質に対して抵抗性が乏しく感受性の高い生物は、一般論としては寿命が短いのが通念だからである。悠久の昔、生命の発生以来、生物の寿命が外界からの放射線や紫外線、そして強烈な活性酸素に抗して進化してきた過程を想起すれば、そうした理解に大きな困難はない。

生物の単位時間あたりの死亡率は年齢と共に指数函数的に増加するので、縦軸に対数目盛で単位時間あたりの死亡率をとり、横軸に年齢をとると、生物の死亡率は右上がりの直線関係をとり、これをGompertz函数とよんでいる[1]¹（図1）。これに対して、生体を外来異物に暴

露すると、この直線関係は維持されつつ、しばしばそれらの傾きが急峻になったり、平均寿命や最長寿命が短くなったりすることが知られている²。今、種々の線量の放射線暴露をうけた野生型（Wで表記した右の3本：0, 3, 5Gy）とp53ヘテロ欠失マウス（Hで表記した左の4本：0, 1, 3, 5Gy）における死亡曲線を、このゴンペルツ表現で比較すると図2のようになる。ゴンペルツ函数の傾きが照射線量の増加に伴って急峻化し、平均寿命の短縮していく様子が分かるであろう。しかもここでp53遺伝子の欠失型では、放射線照射に伴って発がんの頻度が野生型のそれより高くなる。その背景は、p53欠失が遺伝子障害に対して“いわゆる安定型異常”を惹起し、ゲノムの不安定化を引き起こしているものと説明されている。すなわちp53遺伝子欠失マウスの結果は、非照射の対照群と、1, 3, 5Gyの各照射群の結果を併せて、遺伝子の非直接性傷害と直接性傷害とを問わず異物への曝露が高

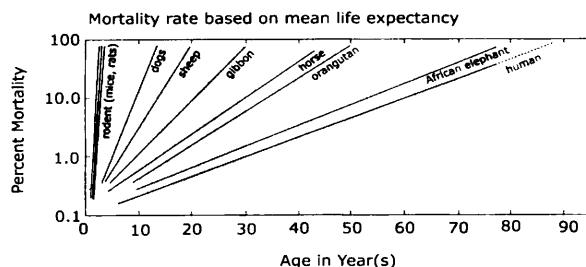


図1：ゴンペルツ表現で示した主な哺乳綱動物の死亡曲線

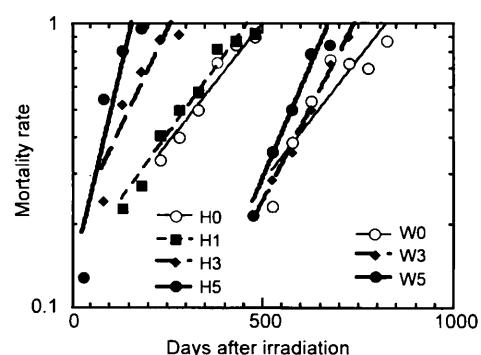


図2：
ゴンペルツ表現で示したX線（200KV、20mA）の単回全身照射後のマウスの死亡曲線。W：野生型C3H/Heマウス、H：同系のp53ヘテロ欠失マウス。0(○)：0Gy、1(■)：1Gy、3(△)：3Gy、5(●)：5Gy。

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

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

Tel: 03-3700-1564

E-mail: tohru@nih.go.jp

リスクになる関係を示しており、野生型よりも急峻な寿命の短縮に傾いていることが分かる。そしてこの現象を支える背景疾患には、発がん性のみならず、非腫瘍性疾患の関与が併行しており、これが加齢にとって重要な意味を持っている。ここに老化は外因異物による単位時間あたりの死亡率の亢進を促し、環境毒性物質に対する生体の異物応答は老化の促進の形をとるという経験的な概念が成立する。

本稿ではこの概念を念頭に置いて、いわゆるエンドクリン作用様物質やベンゼンなどの環境化学物質の生体との異物応答を整理してみたい。

1. エンドクリン作用物質(EDCs)と寿命

いわゆるエンドクリン作用物質（あるいは内分泌攪乱化学物質、以下EDCsと略称）と呼ばれる、内分泌機能に失调をきたす化学物質が、ヒトを含む家畜や野生生物全般に深刻な影響を与えていたとの指摘をシーア・コルボーン (Theo Colborn) らが「Our Stolen Future」[2]の出版を以て世に訴えて以来、その生体影響の如何がずっと取り上げられてきた。もとよりその30年前にレイチェル・カーソン (Rachel Carson) は「Silent Spring」[3]で、DDTやBHCを始めとする有機塩素系殺虫剤の蓄積性による環境生物影響を告発していたので、シーア・コルボーンらのこの指摘は、その人類版として受け止められ大きな話題になった⁴。これに対してEUの呼びかけでWHOとOECDが初めての国際会議をロンドン郊外のウエイブリッジで開催して以降今年で10年を迎える。来年はレイチェル・カーソンの生誕100年にもあたる。「Our Stolen Future」は検証の困難な事象への啓示的な科学読み物のスタイルにとどまつた為、その後多くの検証作業を必要としたが、この時のヒト健康に関する告発内容は、小児での尿道下裂を含む性転換性先天異常の増加、精子の量的質的低下に伴う生殖機能の低下、神経情動面での障害、及び内分泌系腫瘍の増加、等であった。2002年、WHOは3年ほどの年月をかけて、20名程の専門家からなるこうした物質に対するグローバル・アセスメント (global assessment) [4]を次のようにまとめた。そこでは「Exposure in adulthood may be compensated for/by normal homeostatic mechanism and may therefore not result in any significant or detectable effects. However, exposure to EDCs during the period of “fetal development” and “sexual maturation”, i.e., fetal and neonatal stage, may result in a permanent change of function or sensitivity to stimulatory/inhibitory signals. Thus, EDCs may induce possible irreversible effect.」と結論している。この文書では「Our Stolen Future」のヒト影響に関する指摘の殆どは今後検証されるべき課題にとどまっているが、内分泌攪乱事象の存在そのものについてはもはや“仮説”ではなく、既知の存在とし、人類の対応して取り組むべき課題として警告を発した。

この10年の各国での研究を経て注目されることは、こ

の問題の背景に人類に未知の事柄が少なくなく、基礎科学面からみて多くの興味深い生体異物相互作用のメカニズムが明らかになってきた点である[5]。例えば、受容体試験で女性ホルモン受容体への結合性が認められて且つエストロゲンと異なった作用機序をもつホルモン様作用活性化学物質が種々見いだされたことが特筆されるほか、アリールハイドロカーボン受容体 (AhR) を介したダイオキシン類 (TCDDs) とエストロゲン受容体 (ER) との相互作用が明らかになりつつあり⁶、そうした相互関係は、さらに種々の核内orphan receptor系にも拡大するものと考えられる。

エンドクリン作用物質問題が既知の事象として位置づけられるにいたって、避けて通すことのできない問題として浮上した生体影響が、寿命に対する影響である。以前より種々の生物の生殖期に至る生育期間と総寿命期間の相関[7]やホルモン環境の変動による前者及び後者の変動が知られていて研究対象とされてきたからである。しかし、マウスに種々の用量のエストラジオールを投与することにより、臍開口期の早期化が起こることが確かめられている反面、こうしたホルモンの投与に伴って、寿命を始めとする生物指標に、遅延効果(late effect)としてどんな影響が起り得るのか、については、むしろこれから的研究にかかっている[8, 9]。

若干の最近の話題を取り上げると、国立環境研究所の曾根秀子博士らは、エストラジオールやTCDDの暴露でテロメレースの活性が上昇したので、これらには発がん性の蓋然性があるのではないかと指摘している[10]。この実験自体は培養細胞のことでもあり、個体レベルでの今後の実験結果が期待される。次の話題はビスフェノールAが $B_6C_3F_1$ マウスでエピジェネティック発がんの頻度を引き上げたというものである[11]。報文を見ると白血病の頻度が背景データに較べて増している。エストラダイオールには内在性の遺伝毒性があり、他方そのこととの関連は明らかではないが、米国環境防護庁 (EPA) などの諸機関からは、エンドクリン作用物質の曝露によって時としてこうしたエピジェネティックな発がん性の示唆される結果が出始めている。ビスフェノールAなど一連のエンドクリン作用物質の発がん性については、本邦で行われている既存の発がん性試験法では陰性であり、結果が背反している。こうした乖離に対しては、発がん性試験の成り立ちに立脚した試験法そのもののさらなる基礎的研究も必要である。

さて、ここでの動物たちの累積死亡のゴンベルツ函数を図示してみると、図3に見られるとおり、○印で示している対照に対して、●印の低用量、■印の高用量とも、それぞれで傾きが急峻になり、死亡が前倒しになっている。つまり促進加齢状態ということになる。前述の通り思春期に与える性ホルモン系へのこうした促進加齢影響は、現象的には動物学的に既知のことである[12]。こうした結果を念頭において、内分泌攪乱化学物質問題におけるあらたな動物試験として、本邦ではマウスの一生涯試験と称するフル・ライフサイクル試験を提案し、米国EPAをはじめとする各国との共同研究の検討が始まっ

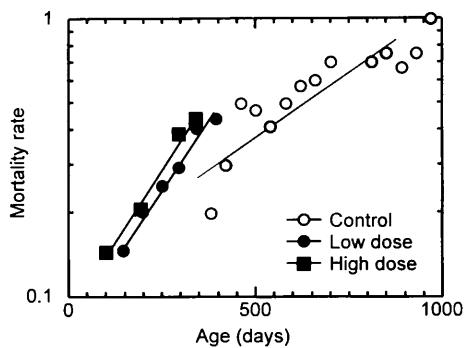


図3：
ゴンベルツ表現で示したビスフェノールAの持続投与によるFischer ratの死亡曲線。Huffら [11] のデータを元に再計算した。Control (○) : 非投与対照、Low dose (●) : 1000ppm、High dose (■) : 5000ppm。

たところである。このような試験系で、ジエチルスチルベストロール (DES) やダイオキシン類 (TCDDs) による発がん誘発用量以下の実験が生体の寿命にどのような影響を与えることになるかが興味深い。

2. 芳香族炭化水素受容体(AhR)の生物機能と寿命

環境化学物質をめぐる生体異物応答研究で、ダイオキシンとダイオキシン受容体の相互作用機構の占める位置は、応用研究の中で基礎研究の果たす役割の意義を明らかにした点で特筆される。ダイオキシン受容体は、シトクロームp450の1A1の発現を促すモデルとしてリガンドを探査する中で藤井ら(東北大・理、当時)によってクローニングされた転写因子であり、芳香族炭化水素受容体(AhR)として見いだされた[13]。惹起されるCYP1A1はダイオキシンを水解できないし、AhRが20世紀の非意図的生成物としてのダイオキシンを想定して数10万年かけて分子進化を遂げてきたとは考えにくいので、この結合関係は偶発性のものと考えられるが、藤井教授も強調するように、AhRの変異や欠失により、ダイオキシンによって誘発される毒性の発現の修飾はかなりよく説明されるので、AhRの生物機能とその発現機構の研究は、生体の異物相互作用研究にとって重要な鍵になるものと考えられる。

筆者らは、B細胞系の未熟前駆細胞が未熟度に応じて高いAhRの発現を示すを見いだした[14]。おそらく各種の組織未分化細胞でのAhRの発現は組織毎に異なり、また生理学的な生体の状態によっても大きく異なるのではないか。そして未知の生理的リガンドや、こうしたダイオキシンのような異物リガンドとの相互作用の程度も様々に異なっているものと推測される。かねてより注目されてきたモルモットとハムスターの間の1万倍に近い半数致死量(LD50)の種差 (0.6 g/kg対5051.0 g/kg)や、Long-EvansラットとHan/Wistarラットとの間の同LD50の千倍あまりの系統差 (10.0 g/kg対9600.0 g/kg)なども、発生学的なAhRの発現レベルに応じたメカニズムの違いに基づいているものと信じている。

さて、ダイオキシンの肝発がんは、受容体原性の微量

リガンドによるCYP1A1の活性化にリンクしたエピジェネティック発がんに基づくものと考えられる。ダイオキシンのリスクが微量となるのはこの受容体原性に起因しており、“そのような低値ゆえに猛毒”と受け止める見方はやゝ概念にそぐわない。しかしながら、そうなるとこれは直接型遺伝子傷害性化学物質と同様に振る舞うことを意味し、それがあたかも毒性のない環境化学物質として環境中に蔓延するものとすれば、その恐ろしさは計り知れない。ダイオキシンはこれを人類に知らしめた点でまたとない教訓になった。AhRによって誘発されるダイオキシンの毒性に対しては、守りの枠組みが次第に整い始めている。しかしリスクの遞減にはまだほど遠いものがある。今後の取り組みの求められる所以である。

AhRのこうした代謝機能に基づく発がん性2次産物による発がん、いわゆる代謝性発がん、の実験的裏付けとしては石川ら(東京大・医、当時)によるAhRのノックアウトを用いたベンツピレン(benzo[a]pyrene; B[a]P)による発がん実験がある。B[a]PはAhR結合性でCYP1A1および1A2の発現を促し、その代謝性エポキサイドのDNAアダクツ形成が発がんの遠因となるものと考えられているが、AhRノックアウトマウスでは、この発がんが殆ど発生しなかったと報告されている[15]。他方、当筆者らはベンゼン誘発による胸腺リンパ腫が、チオレドキシン遺伝子の過剰発現マウスではまったく発生しないことを観察し、これがベンゼン曝露条件下でのこのマウスでのAhRの発現の低下に関連しているを見いだしている[16]。これらの発がん機構が直接性の遺伝子傷害性発がんを意味するかは正確には明らかでないが、CYPの誘導を通じた発がん母地を提供しているということであろう。

かくしてAhRのノックアウト状態や低発現状態の動物を参考することによって様々なAhRの生物学的機能が分かってきたのであるが、こうした実験を進めてゆく内に筆者らはAhRの意外な機能に気がついた[17]。図4は、無処置の各種AhR遺伝型、つまりホモおよびヘテロのAhR欠失マウス (AhR^{+/+}, AhR^{+/-}) および野生型 (AhR⁺⁺) の死亡曲線を示したものであるが、AhRの欠失群の寿命が明らかに短いことが分かる。AhRの欠失が何らかの欠失病を惹起してAhR欠失動物を短命化している可能性を想起させるわけであるが、結果としては野

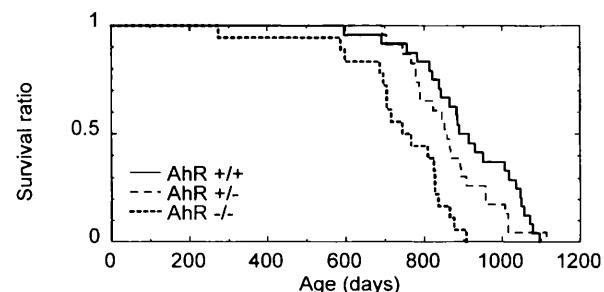


図4：
アリールハイドロカーボン受容体欠失マウス(ホモ欠失:AhR^{+/}、ヘテロ欠失:AhR^{+/}) 及び同腹の野生型マウス (AhR⁺⁺) の生存曲線[17]

生型における死因スペクトラムの早期発現、もしくはその頻度上昇以外の特徴は見いだされなかった。Gonzalez[18]らの作成したAhR欠失マウスでは原因不明の肝内胆管炎が観察されているが、当系統ではそうした胆管炎も、その結果として発症の想定されるリトコル酸のような胆汁酸による内因性発がん、胆管癌⁷も肝胆管癌⁸も認められない。そして何よりも、①このものでの主要な死因である非胸腺リンパ腫や肝癌の発症とこれによる死亡が、生後約2年を経て発症に至る遲発性の腫瘍であること、②そしてそのゴンペルツ表現による発症函数をグラフ化すると、エピジェネティックな促進加齢型を示すことが注目された。誘発がんへの影響はまだ確かめられていないが、AhRはがん抑制遺伝子である可能性が高い。

実はAhRにこうした機能が認められることには矛盾がない。いずれもAhR-KOマウスを参照しつつ明らかになつたことであるが、前項でも述べたとおり、AhRは幹細胞、特に造血幹細胞に発現していて、未分化な造血幹細胞の細胞周期を緩徐化し、より大きな休止期細胞分画 (quiescent/dormant fraction) を維持しているという事実がある[19]。その結果、AhRが機能していると幹細胞分画の健康な状態が保持され、遺伝学的な安定性の維持に寄与するものと推測される。

今回見いだされた、同じAhRが一方で発がんを促進し、他方で抑制する事象は、環境科学における生体異物応答のおもしろさと、複眼的視点の必要性を教えてくれている。

3. ベンゼンと酸化的ストレス応答

前節で、外来異物による細胞・組織障害の発現機構と、細胞や個体の老化機構との関係について、エンドクリン作用様化学物質やAhRの生物作用などを対象に解説した。ここでは環境／工業化学物質としてのベンゼンを取りあげて、その酸化的ストレス応答をめぐる実験動物の寿命にまつわる知見を紹介する。また、ベンゼンの生体異物応答には酸化的ストレスが関与していることが明らかになつたので、その寿命曲線についても紹介する^[16, 20]。

ベンゼンは、ヒトに対して白血病原性を持つことが1928年に報告されている[21]。よく知られるパリの靴職人のベンゾール中毒の話が多発した頃の報告である。この発症機構を調べる為に、実験動物モデルをつくる試みがなされたが、結局ヒトの報告から60年ほど遅れて、ようやくそのモデルができた[22, 23]。実験的に高濃度のベンゼンを持続的に暴露すると、ネズミは再生不良性貧血になって、白血病が発症する前に死亡する。これは後ほど造血幹細胞の枯渇に起因することがわかっている。逆に、ベンゼンの濃度が低すぎたり、反復投与期間が充分には長くなかったりすると、おそらく完全に修復されて回復してしまうためと考えられるが、白血病は観察されない。つまり、白血病をつくるのには、幹細胞が枯済しない範囲で、少なからず多すぎない「適当な」濃度のベンゼンを、「適当に」休みながら投与することがポイントだったと考えられる。

ここで紹介するベンゼン暴露条件は筆者らも携わったCronkiteらの方法[23, 24]を踏襲し、300ppmの濃度で、1日6時間、週5日制としている[23]。この条件では、骨髄細胞はベンゼンの暴露中は減少し、週末に暴露を休止すると回復性増生をおこして増える、というようなことを繰り返していく[25]。因みに造血幹細胞についても同様で、暴露に伴い減ったり、増えたり、というようなことを繰り返す。これを、26週間まで続けた後しばらく待つと白血病の発症が観察されるのである[24-26]。

白血病誘発実験でさえも以上のように手間取っている状態だから、発症機構にはたくさんの不明の点がある。ベンゼンの造血傷害は、CYP2E1によってベンゼンからベンゼンオキシドを経て生成するフェノール類代謝物が、ミエロペルオキシダーゼによる水解後の活性酸素生成源と考えられている。そしてその結果発生する酸化的ストレスは、骨髄の細胞傷害発生の原因となっている。しかしひんゼンやその主要な代謝物は、サルモネラ菌株による復帰突然変異試験は陰性であり、またこのものの親核性⁹により、DNAへの結合性も充分なアダクツ形成性も見られないとされている[16]。現段階で筆者らも信じている仮説的発症機構は、従来考えにくいとされているハイドロキノンやカテコール、そしてトランス・トランス・ムコン酸などのベンゼン代謝物由來の活性酸素種(ROS)によるトポイソメラーゼIIの抑制とこれに引き続く染色体の断片化 (clastogenesis) である[16]。

野生型マウスではこれらのクラストジネシスは修復もしくはアポトーシスによって消滅するものと考えられ、前述のような込み入った経路をとってはじめて白血病が誘発される。しかし p53欠失動物では、“安定的遺伝子異常”へと導かれ、野生型にくらべてより短期に低用量で高頻度の白血病を引き起こす[26]。これは、野生型で染色体傷害の貢献度の低いわばエピジェネティック発がんを惹起するベンゼンが、p53欠失マウスでは、直接型遺伝子傷害性の白血病を引き起こすことを意味している。

さて、こうした発症機構を持つベンゼン白血病についてその死亡曲線をゴンペルツ表現で描いてみよう。図5のような、右の○印の非曝露群に対して●印の曝露群での傾きの急峻化と平均寿命の顕著な短縮が観察される。もちろんベンゼンは、種々の腫瘍を引き起こすし、非腫瘍病変を引き起こさないわけでもない。ゴンペルツ函数の法則的に面白い点は、各種の腫瘍病変のみならず非腫瘍病変を含む全体がひとつの函数として動くことであり、それらの病変の発症にリンクするゲノムの不安定性の亢進といった共通因子の関与が示唆されているのであるが、現時点での知見は現象論的事実にとどまる。図5に戻つてさらに興味深いことは、これに対して酸化的ストレスの吸収を消去するチオレドキシン過剰発現マウスにベンゼンを曝露すると、図6のように平均寿命が大きく回復・延長するのみならず、最長寿命の延長傾向が見られることである。以上、ベンゼンによる酸化的ストレス応答をめぐる実験動物の寿命にまつわる知見を示すと共に、人為的な酸化的ストレス消去による回復の展望に関する実験的なあたらしい試みを紹介した。

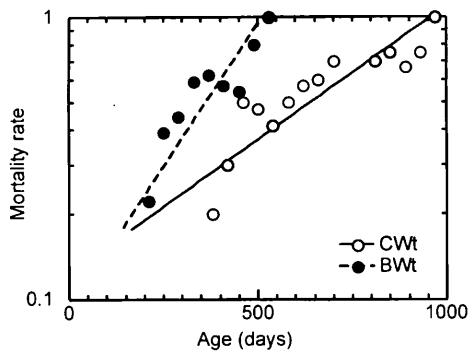


図5：
ゴンペルツ表現で示したベンゼンの間歇吸入暴露によるC57BL/6マウスの死亡曲線。CWT (○)：非曝露対照、BWT (●)：300ppm、6時間／日、5日／週のベンゼンの間歇曝露を26週間続けた後、生涯観察した。

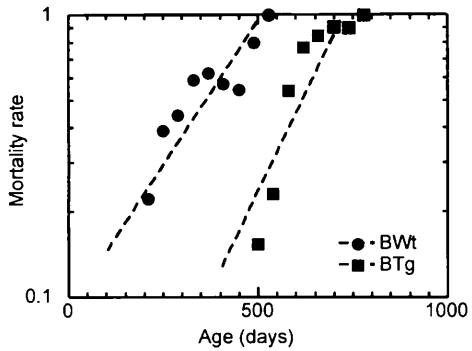


図6：
ゴンペルツ表現で示したベンゼンの間歇吸入暴露によるC57BL/6マウス (BWT (●)) 及び同系のチオレドキシン過剰発現マウス (BTg (■)) の死亡曲線 (ベンゼンの曝露条件は図5と同様で、300ppm、6時間／日、5日／週の間歇曝露を26週間続けた後、生涯観察した)。

おわりに

本稿では、老化が外来異物による単位時間あたりの死亡率の亢進を促し、環境毒性物質に対する生体の異物応答は老化の促進の形をとるという実験的経験則を紹介した。図7には、放射線やベンゼンなどの異物曝露による寿命短縮とチオレドキシン過剰発現やカロリー制限を例に取ったその回復(抗毒作用)の様子をまとめて模式化し

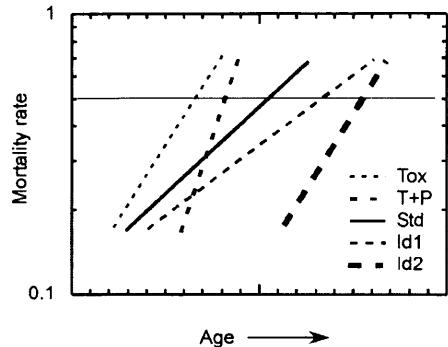


図7：
ゴンペルツ表現で示した放射線やベンゼンなどの異物曝露による寿命短縮とチオレドキシン過剰発現やカロリー制限を例に取ったその回復(抗毒作用)。
(Tox: toxic state, T+P: toxic state with prevention, Std: standard, Id: ideal state)。

て示した[20]。ここにみるゴンペルツ曲線は、本稿で紹介した実データ(real data)をベースに、寿命を最終標とした生体異物応答を表現したものである。これらの背景機構のつぶさな解明が、寿命学の展望を切り開くことになるものと考える。

¹ Gompertz-Makeham law of mortalityとして知られる。 $N'(t) = -rN(t)\log(N(t)/K)$ (ここで、 $N(t)$: 時刻tにおける個体数、 r : 自然増加率、 K : 平衡状態下での個体数)と表現される。Benjamin Gompertz(1779-1865)は英国の数学学者。

² 前者に対して促進老化(accelerated ageing)、後者に対して早発老化(premature ageing)と区別して呼称することがある。

³ 障害が修復されないまま細胞分裂を通過することにより、持続性・集積性の異常を引き起こすこととなるものと考えられている。不安定型異常では、修復に向かい、その成否に応じてアポトーシスによる細胞死を迎える。

⁴ DDTはマラリア駆除に力を發揮し、ベニシリンやストレptomycinに次いで多くの人類の命を救ったとして、その発明者Paul Hermann Müllerにはノーベル賞も授与された。DDTの使用停止後、先進国化学工業界には、農薬等の安全性に対する万全の自負があつたはずであるが・・・。

⁵ アリールハイドロカーボン受容体 (AhR、別名ダイオキシン受容体) を介した内分泌攪乱は、エストロゲン非依存性のERへの結合・転写活性化と、エストロゲン依存性に活性化したERのユビキチン化の促進という二つの機構のバランス下で引き起こされるものと提唱されている。即ち、リガンド活性化AhRは、エストロゲン非依存性にERを介した転写機能を活性化し、他方、エストロゲンによる活性化ERの転写機能は抑制されるという。この結果は、これまでの報告にも示唆されているダイオキシン類の作用が内分泌攪乱に関連する可能性を裏付けている。未だ実質的なデータは乏しいが、同様の変化は他の核内受容体についても引き起こされる可能性が示唆され、今後の大きな課題となるものと考えられる。

⁶ 詳細は、厚生労働省のwebsite (<http://www.mhlw.go.jp>) を参照されたい。

⁷ Cholangiocarcinoma.

⁸ Hepatocarcinoma.

⁹ 筆者らは、ベンゼンによって誘発される白血病を含む造血傷害が、酸化的ストレスに依ることを初めて証明した。さらに実験的生体酸化の消去による白血病の抑制・防護およびその寿命学的意義について研究している。

¹⁰ 非親電子性物質。分子内で部分的もしくは全体として陰電化状態になっている物質。

参考文献

1. Gompertz B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Philos Trans Royal Soc (London)*. 1825;115:513-585.
2. Colborn T, Myers JP, Dumanoski D. *Our Stolen Future: Are We Threatening Our Own Fertility, Intelligence, and Survival?—A Scientific Detective Story*. Boston: E. P. Dutton 1996.
3. Carson R. *Silent Spring*. Boston: Houghton Mifflin; 1962.
4. WHO. *Global Assessment of the State-of-the Science of Endocrine Disruptors*. In: Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R, Van Der Kraak G eds; 2002.
5. 井上達, 井口泰編. 生体統御システムと内分泌攪乱. 東京: シュプリンガーフェアラーク東京; 2005.
6. Otake F, Takeyama K, Matsumoto T, et al.

- Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature*. 2003;423:545-550.
7. Harvey PH, Zammuto RM. Patterns of mortality and age at first reproduction in natural populations of mammals. *Nature*. 1985;315:319-320.
 8. Bartke A, Brown-Borg HM, Bode AM, Carlson J, Hunter WS, Bronson RT. Does growth hormone prevent or accelerate aging? *Exp Gerontol*. 1998;33:675-687.
 9. Bartke A, Chandrashekhar V, Turyn D, et al. Effects of growth hormone overexpression and growth hormone resistance on neuroendocrine and reproductive functions in transgenic and knock-out mice. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999;222:113-123.
 10. Sarkar P, Shiizaki K, Yonemoto J, Sone H. Activation of telomerase in BeWo cells by estrogen and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in co-operation with c-Myc. *Int J Oncol*. 2006;28:43-51.
 11. Huff J. Carcinogenicity of bisphenol-A in Fischer rats and B6C3F1 mice. *Odontology*. 2001;89:12-20.
 12. Bartke A. Growth hormone and aging. *Endocrine*. 1998;8:103-108/Gammon DW, Aldous CN, Carr WC, Jr., Sanborn JR, Pfeifer KF. A risk assessment of atrazine use in California: human health and ecological aspects. *Pest Manag Sci*. 2005;61:331-355.
 13. Ema M, Sogawa K, Watanabe N, et al. cDNA cloning and structure of mouse putative Ah receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992;184:246-253.
 14. Hirabayashi Y, Miyajima A, Yokota T, et al. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on B cell differentiation in mouse pre-B colonization model regulated by artificially introduced human IL-3 receptors. *Organohalogen Compounds*. 2002;55:359-362.
 15. Shimizu Y, Nakatsuru Y, Ichinose M, et al. Benzo[al]pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:779-782.
 16. Li GX, Hirabayashi Y, Yoon BI, et al. Thioredoxin overexpression mice, model of attenuation of oxidative stress, prevent benzene-induced hematotoxicity and thymic lymphoma. *Exp Hematol*. 2006;in press.
 17. Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, et al. Tumor suppressor function of aryl hydrocarbon (Ah) receptor: Early onset of spontaneous lymphomas and hepatomas, and consequent a shortened lifespan observed in Ah receptor deficient mice. *Organohalogen Compounds*. 2006;in press.
 18. Fernandez-Salguero P, Pineau T, Hilbert DM, et al. Immune system impairment and hepatic fibrosis in mice lacking the dioxin-binding Ah receptor. *Science*. 1995;268:722-726.
 19. Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, et al. AhR suppresses hemopoiesis during steady state but accelerates cell cycle as an early response: a study of AhR-knockout mice. *Organohalogen Compounds*. 2003;64:270-273.
 20. Hirabayashi Y, Inoue T. Implications of hemopoietic progenitor cell kinetics and experimental leukemogenesis: Relevance to Gompertzian mortality as possible hematotoxicological endpoint. *Exp Hematol*. 2006;in press.
 21. Delore P, Borgomano C. Leucémie aiguë au cours de l'intoxication benzénique. Sur l'origine toxique de certaines leucémies aiguës et leurs relations avec less anémies graves. *J de méd de Lyon*. 1928;9:227-233.
 22. Snyder CA, Goldstein BD, Sellakumar AR, Bromberg I, Laskin S, Albert RE. The inhalation toxicology of benzene: incidence of hematopoietic neoplasms and hematotoxicity in ARK/J and C57BL/6J mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1980;54:323-331.
 23. Cronkite EP, Bullis J, Inoue T, Drew RT. Benzene inhalation produces leukemia in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1984;75:358-361.
 24. Cronkite EP, Drew RT, Inoue T, Hirabayashi Y, Bullis JE. Hematotoxicity and carcinogenicity of inhaled benzene. *Environ Health Perspect*. 1989;82:97-108.
 25. Yoon BI, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, et al. Mechanism of action of benzene toxicity: cell cycle suppression in hemopoietic progenitor cells (CFU-GM). *Exp Hematol*. 2001;29:278-285.
 26. Kawasaki Y, Hirabayashi Y, Yoon BI, et al. Benzene inhalation induced an early onset and a high incidence of leukemias in the p53 deficient C57BL/6 mice. *Jpn J Cancer Res*. 2001;92:71.

Xenobiotic response in ageing

Yoko Hirabayashi¹ and Tohru Inoue²

¹Cellular and Molecular Toxicology Division, Center for Biological Safety Research, National Institute of Health Sciences,

²Center for Biological Safety Research, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyohga, Setagayaku, Tokyo 158-5801, Japan

Abstract:

The principle of human mortality rate was recognized by Benjamin Gompertz [1] more than 180 years ago, who described that mortality rate during a unit time interval increases exponentially with lifetime. It was found that the Gompertzean expression can be applied to major steady-state mammalian species. When one applies the Gompertzean expression to a particular species, *for example*, to mice, one could note that for toxic chemicals, whether carcinogenic compounds or other life-threatening chemical compounds, the slope is steeper, indicating a shortening of life span not only due to carcinogenic impact but also cardiovascular, nephrotoxic, and other nontumorigenic diseases. Current experimental data from radiation and/or environmental chemical-induced leukemia cases show dose-dependent steeper curves with increase in doses.

Key words: Gompertzean law of mortality, radiation-induced leukemia, benzene-induced leukemia

【総 説】

緑茶による脳の老化予防

海野けい子*、星野 稔
静岡県立大学薬学部 生体機能解析学分野

要約

高齢者の増加に伴い、加齢に伴う様々な疾病的予防・治療に加え、脳の老化にも多くの関心が寄せられている。老化の重要な一因として酸化ストレスの関与が考えられており、果物や野菜、飲物からの抗酸化物質の摂取は、脳の老化予防に重要な役割を担っている可能性が考えられる。緑茶カテキンは強力な抗酸化作用を有するポリフェノールの一類であり、緑茶カテキンの摂取により加齢に伴う脳の萎縮や学習・記憶能の低下が抑制されることが、老化促進モデルマウス(SAMP10)を用いて見いだされた。また脳虚血やパーキンソン病、アルツハイマー病に対する抑制効果も、実験動物や培養細胞を用いて示されている。本稿では緑茶カテキンについて脳の老化に対する作用を概説する。

キーワード：脳老化、緑茶カテキン、抗酸化物質、酸化ストレス、学習・記憶能

1. はじめに

同じ肉体年齢でも、脳の老化の程度にはかなりの違いが認められる。このことは、生活習慣の改善により脳の老化をある程度予防できる可能性を示唆している。老化には環境や遺伝的要因が関与しているが、酸化ストレスは老化の重要な一因であると考えられている。脳は大量の酸素を消費していることから、脳内での酸化・還元のバランスが崩れると酸化傷害を受けやすく、加齢に伴う酸化ストレスの蓄積は重要なリスクファクターである。果物や野菜、飲物に含まれる抗酸化物質の摂取は、酸化ストレスから脳を保護し脳機能を保持するために重要であると予想される。本稿においては、そのような食品由来の抗酸化物質の脳における機能を明らかにすることを目的とし、緑茶中に含まれるカテキンの脳に対する作用に焦点を当てる。また、抗酸化活性を有するいくつかの食品の脳機能への作用についても紹介する。

2. 緑茶カテキン

緑茶カテキンは緑茶の苦渋味成分であり、季節や産地、生育条件によりその含量は変化するが緑茶中に約10~20%含まれている。その中で(-)-epigallocatechin gallate (EGCG)が5~10%と最も多く、その他に (-)-epigallocatechin (EGC) 1~5%、(-)-epicatechin gallate (ECG) 1~2%、(-)-epicatechin (EC) 0.5~1.5% 等

が存在する（図1）。一杯の煎茶には約60mgのカテキンが含まれている。一般に市販されている緑茶飲料では50mg/dl程度であるが、カテキンを增量してある飲料も近年市販されている。紅茶中のカテキン量は緑茶の1/3~1/5程度であり、その代わりカテキン類が重合したテアフラビンなど他のポリフェノール類が増加している。ウーロン茶中のカテキン量は緑茶の1/2程度と言われている。

1) 緑茶カテキンの抗酸化、ラジカル消去作用

緑茶カテキンの強い抗酸化およびラジカル消去作用はフェノール性水酸基に起因し、EGCGが他のカテキンに比べ最も高い活性を示す (EGCG>ECG≈EGC>>EC)

[1]。緑茶カテキンの抗酸化活性は銅イオンやマンガンイオンで増強されるが、鉄イオンにより阻害される。鉄イオンがEGCGに結合するとphenoxy radicalの形成が不安定になるとされる [2]。ラジカル消去作用は消去するラジカルによって速度は大きく変化するが、

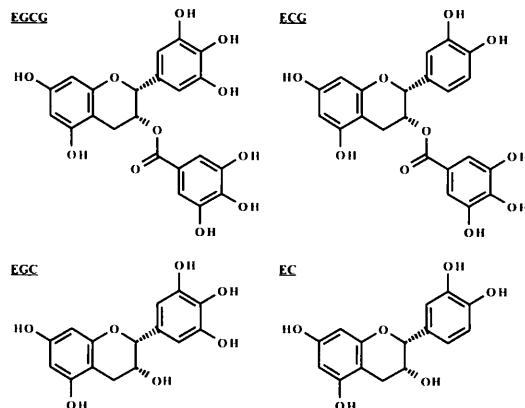


図1. 緑茶カテキン

hydroxyl radicalに対してEGCGはECの約7倍の速度を持ち^[3]、EGCG1分子は1,1-diphenyl-2-picrylhydrazol (DPPH) 14分子を消去できる^[4]。ラジカル消去能を他の食品と乾燥重量1gあたりで比較すると、緑茶は抗酸化活性の高いブルーベリーやイチゴと比べても、superoxide anionに対する消去能では約20倍、DPPHに対する消去能では20-30倍の活性を有する^[5]。

2) 緑茶カテキンの代謝・分布

経口摂取されたEGCGは速やかに吸収され、肝臓、血漿、小腸粘膜等に分布し、摂取1時間後には低レベルであるが脳内にも存在することが確かめられている^[6]。

^{[3]H}-EGCGを用いた研究で、単回投与に比べ重複投与では緑茶カテキンのレベルがより高い状態で維持されることが示された^[7]。また^{[4-³H]-EGCG}を用いた研究では、血液、脳、その他の臓器において放射能のピークが24時間後に認められ、それがグルクロロン酸抱合されたEGCG代謝産物であることが見いだされた^[8]。このグルクロロン酸抱合体も強い抗酸化作用を有することが報告されていることから^[9]、今後、代謝産物の脳内での分布ならびにその生理的な作用に関する研究も必要であると考えられる。

3) 脳の萎縮、脳機能ならびに酸化傷害に対する緑茶カテキンの抑制効果

脳の老化の機構を研究するためには、それに適した実験動物が必要である。老化促進モデルマウス(SAMP10)は、加齢に伴い脳神経細胞が退縮し、脳の萎縮ならびに学習・記憶能の低下が認められるマウスである^[10,11]。萎縮部位が大脳前頭部であり、比較的短期間で確実に萎縮が生ずること、若齢時には異常が認められないことから、ヒトの脳の老化状態のモデルとして有用であると考えられる。SAMP10マウスに1月齢から毎日、緑茶カテキン(Polyphenon 70S,三井農林(株))を0.02%(20 mg/dl)の濃度で飲水として自由摂取させた。緑茶カテキンを摂取していた群と、通常の水を摂取していた対照群では、体重に変化は認められなかつたが、加齢に伴う脳の萎縮が有意に抑制された^[12]。これらのマウスについてステップスルーラン装置を用い受動回避試験により学習能を判定した結果、緑茶カテキン摂取群では対照群に比べ学習能の低下が抑制され^[12]、また記憶能の低下も有意に抑制されていた(図2)^[13]。緑茶カテキン摂取群の老齢マウスでは脳内のDNAの酸化傷害は有意に抑制され、また血清中の抗酸化活性の低下も抑制されており、緑茶カテキンにより酸化傷害が軽減していることが示唆された^[13]。脳虚血モデルマウスを用いた緑茶カテキンの効果の検討においても、酸化傷害が軽減されることが報告されている^[14]。これらマウスを用いた基礎的研究に加え、疫学的調査によりヒトにおいても一日2杯以上の緑茶を摂取している高齢者では認知障害になりにくい傾向にあることが示されている^[15]。これらのことから緑茶カテキンの摂取は脳の酸化傷害を軽減し、老化を抑制する効果があると考えられる。

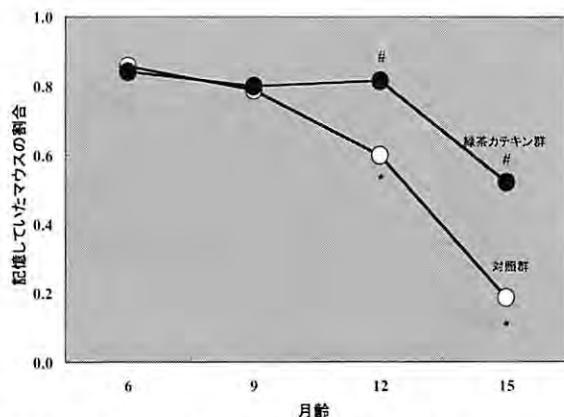


図2.緑茶カテキン摂取による記憶能低下の抑制

受動回避試験を行った1ヶ月後に同じ試験を実施し、マウスが記憶しているか調べた(*; 6月齢の対照群マウスに対する有意差, p<0.05; #: 同月齢の対照群マウスに対する有意差, p<0.05)。

4) 緑茶カテキンによる生体機能調節作用

緑茶カテキンの効果は強力な抗酸化作用だけではないかもしれない。金属イオンに対する緑茶カテキンのキレート作用により、アルツハイマー病やパーキンソン病を予防する可能性が示唆されている^[16]。またEGCGはプロテインキナーゼCに作用し可溶性のアミロイド前駆タンパク質(APP)を増加させること^[17]、EGCGにより α -セクレターゼの活性が上昇することにより β -アミロイドの沈着が減少すること^[18]が報告されている。緑茶カテキンあるいは精製EGCGにより、実際にアルツハイマー病を予防あるいは改善できるかどうか、今後の研究が期待される。がん細胞ではEGCGに対するレセプターが見いだされているが^[19]、神経細胞あるいはグリア細胞にもこのようなレセプターが存在するであろうか?

3. 果物、野菜、ハーブの抗酸化作用

強い抗酸化活性を有するイチゴやブルーベリー、ほうれん草の抽出物には、加齢に伴う脳機能の低下の改善^[20]、APP/プレセニリン-Iトランスジェニックマウスに対する効果^[21]、ニューロン新生に対する効果^[22]がマウスやラットで認められることが報告されている。ニンニクも強い抗酸化作用を有することから、SAMP10において脳萎縮、脳機能低下に対する改善効果が報告されている^[23,24]。これら身近な食品について多くの研究が行われており、その展開が待たれるところである。

4. 総括および今後の展望

脳の老化は高齢者の生活の質(QOL)に大きな影響を及ぼすことから、老化予防はこれから重要な研究課題である。緑茶の摂取は簡便な方法として、その適用が多いに期待される。SAMP10マウスにおける緑茶カテキンの摂取量は一日あたり約35mg/kgであったが、2.5~10倍量を与えるとマウスの脳機能には用量依存的な効果は認められていないことから、より少ない量でも十分

な効果が期待されるかもしれない。ヒトの場合どの程度の緑茶カテキン量が適当であるのか今後の検討課題であるが、代謝の速さを考慮すると、まとめて摂取するよりも毎食後のように頻回に摂取する方が効果的であると考えられる。ところで、欧米ではカフェインを除いたコーヒーが好まれているように、緑茶摂取の際もカフェイン摂取が心配されるかもしれないが、緑茶の場合、緑茶の旨味成分であるテアニンが、カフェインによる興奮作用を抑制することが報告されている [25]。緑茶中のテアニン量はカフェイン量より低いが、何らかの抑制作用があると考えられる。緑茶カテキンの脳老化抑制作用には抗酸化作用が重要な役割を果たしていると考えられるが、緑茶カテキンの作用部位、代謝物の生物活性や生体内分布、その他の抗酸化物質摂取との関連、疫学的な調査など、今後更なる検討が必要である。

文献

- Kumamoto M, Sonda T. Evaluation of the anti-oxidative activity of tea by an oxygen electrode method. *Biosci Biotechnol Biochem* 62:175-177, 1998.
- Kumamoto M, Sonda T, Nagayama K, Tabata M. Effect of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Biosci Biotechnol Biochem* 65:126-132, 2001.
- Bors W, Michel C. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: Pulse radiolysis studies. *Free Radical Biol Med* 27: 1413-1426, 1999.
- Senba Y, Nishishita T, Saito K, Yoshioka H, Yoshioka H. Stopped-flow and spectrophotometric study on radical scavenging by tea catechins and model compounds. *Chem Pharm Bull* 47: 1369-1374, 1999.
- 木村俊之、山岸賢治、鈴木雅博、新本洋士. 農産物のラジカル消去能の検索. 日本食品科学工学会誌 49: 257-266, 2002.
- Nakagawa K, Miyazawa T. Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 43: 679-684, 1997.
- Suganuma M, Okabe S, Oniyama M, Tada Y, Ito H, Fujiki H. Wide distribution of [³H](-)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue. *Carcinogenesis* 19: 1771-1776, 1998.
- Kohri T, Matsumoto N, Yamakawa M et al. Metabolic fate of (-)[4-³H] epigallocatechin gallate in rats after oral administration. *J Agric Food Chem* 49: 4102-4112, 2001.
- Harada M, Kan Y, Naoki H, et al. Identification of the major antioxidative metabolites in biological fluids of the rat with ingested (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 973-977, 1999.
- Shimada, A. Age-dependent cerebral atrophy and cognitive dysfunction in SAMP10 mice. *Neurobiol Aging* 20: 125-136, 1999.
- Shimada, A., Keino, H., Satoh, M., Kishikawa, M., Hosokawa, M. Age-related loss of synapses in the frontal cortex of SAMP10 mouse: a model of cerebral degeneration. *Synapse* 48: 198-204, 2003.
- Unno K, Takabayashi F, Kishido T, Oku N. Suppressive effect of green tea catechins on morphologic and functional regression of the brain in aged mice with accelerated senescence (SAMP10). *Exp Gerontol* 39: 1027-1034, 2004.
- Unno K, Takabayashi F, Yoshida H, et al. Daily consumption of green tea catechin delays memory regression in aged mice. *Biogerontol on line*: Sept. 7, 2006.
- Suzuki M, Tabuchi M, Ikeda M, Umegaki K, Tomita T. Protective effect of green tea catechins on cerebral ischemic damage. *Med Sci Monit* 10: BR166-174, 2004.
- Kuriyama S, Hozawa A, Ohmori K, et al. Green tea consumption and cognitive function: a cross-sectional study from the Tsurugaya project. *Am J Clin Nutr* 83: 355-361, 2006.
- Reznichenko L, Amit T, Zheng H, et al. Reduction of iron-regulated amyloid precursor protein and β -amyloid peptide by (-)-epigallocatechin-3-gallate in cell cultures: implications for iron chelation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 97: 527-536, 2006.
- Levites Y, Amit T, Mandel S, Youdim MBH. Neuroprotection and neurorescue against A β toxicity and PKC-dependent release of non-amyloidogenic soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *FASEB J* 17: 952-954, 2003.
- Rezai-Zadeh K, Shytie D, Sun N, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) modulates amyloid precursor protein cleavage and reduces cerebral amyloidosis in Alzheimer transgenic mice. *J Neurosci* 25: 8807-8814, 2005.
- Tachibana H, Koga K, Fujimura Y, Yamada K. A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nature Struct Mol Biol* 11: 380-381, 2004.
- Joseph JA, Shikita-Hale B, Denisova NA, et al. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or

- strawberry dietary supplementation. *J Neurosci* 19: 8114-8121, 1999.
21. Joseph JA, Denisova NA, Arendash G, et al. Blueberry supplementation enhances signaling and prevents behavioral deficits in an Alzheimer disease model. *Nutr Neurosci* 6: 153-162, 2003.
 22. Casadesus G, Shikitt-Hale B, Stellwagen HM, et al. Modulation of hippocampal plasticity and cognitive behavior by short-term blueberry supplementation in aged rats. *Nutr Neurosci* 7: 309-316, 2004.
 23. Nishiyama N, Moriguchi T, Morihara N, Saito H. Ameliorative effect of S-allylcysteine, a major thioallyl constituent on aged garlic extract, on learning deficits in senescence-accelerated mice. *J Nutr* 131: 1093S-1095S, 2001.
 24. Moriguchi T, Saito H, Nishiyama N. Anti-aging effect of aged garlic extract in the inbred brain atrophy mouse model. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24: 235-242, 1997.
 25. Kakuda T, Nozawa A, Unno T, Okamura M, Okai O. Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 287-293, 2000.

Preventive Effect of Green Tea on Brain Senescence

Keiko Unno* and Minoru Hoshino

Laboratory of Bioorganic Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, University of
Shizuoka, 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526, Japan

Abstract

Neuroprotective dietary components can play a key role in ensuring healthy aging of the brain. Dietary antioxidants from beverages, fruits and vegetables have preventative effects on oxidative stress. Catechin, a polyphenol found in green tea, has a potent antioxidative effect. Recently, catechin has been reported to protect against reduced aging-related cognitive functions such as those associated with learning and memory, and ischemic brain damage. Catechin may act as a neuroprotective agent in progressive neurodegenerative disorders such as Parkinson's and Alzheimer's diseases. The neuroprotective effects and putative mechanisms of action of catechin are examined and discussed.

Key words: brain senescence, green tea catechin, antioxidant, oxidative stress, learning & memory

【研究報告】

グライコプロテオミクスによる新規老化マーカーの探索

遠藤 玉夫、佐藤 雄治

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団

東京都老人総合研究所

老化ゲノム機能研究チーム

要約

糖鎖は、遺伝子の直接の産物ではなく二次産物である。我々は、老化の背景には糖鎖に含まれる情報および認識機序の変化があるという考えに基づき、糖タンパク質糖鎖の機能と老化という問題を取り組んでいる。ラット大脑皮質の可溶性画分を二次元電気泳動で分画し、老化に伴ってコンカナバリンAとの反応性が上昇する糖タンパク質を14スポット検出した。この反応性は、EndoH処理により減少することから、これらの糖タンパク質は高マンノース型糖鎖を持つことが明らかになった。質量分析計によりこのうち3スポットは、リソソーム酵素であるカテプシンDと同定された。さらに、老化に伴う増加は単なるリソソーム膜の破綻によるものではなかった。また組織化学的解析から、カテプシン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。糖タンパク質が細胞質に蓄積するメカニズムを明らかにすることは、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。

Key words: glycoprotein, glycoproteomics, brain, cathepsin D

1 ポストゲノム研究の到来

ヒトのゲノム情報、いわばヒトのからだの設計図がほぼ明らかになった。現在各遺伝子から翻訳されてつくられるタンパク質の機能や生体内における役割を明らかにしようとする、いわゆるポストゲノム研究が盛んに行なわれている。ところでタンパク質はリン酸化や糖鎖付加など翻訳後修飾を受けることは良く知られており、こうした修飾を受けることによって初めて細胞間の認識や細胞内情報伝達などで機能をもつようになると考えられている。最近のデータによるとタンパク質の50%以上は糖鎖が付加されていると考えられている。糖鎖がタンパク質機能に対していかに関与し、機能的に不完全なタンパク質に機能を付加するかは、ポストゲノム研究の重要な研究テーマのひとつである。我々は、老化の背景には糖鎖に含まれる情報および認識機序の変化があるというアイデアに基づき、糖タンパク質糖鎖の機能と老化とい

う問題に取り組んでいる。

2 糖鎖の分布と作られ方

糖鎖は独立に存在することはむしろまれで、タンパク質と結合した糖タンパク質ならびに脂質と結合した糖脂質という複合糖質の形で存在している。糖脂質は主にセラミドと呼ばれる脂質に糖鎖が一本付いている。これに対して、糖タンパク質の分子形態はきわめて多様であり、糖鎖の本数も様々である。また糖鎖の構造は著しい多様性を示す。たとえば、ヒトの血清中には少なくとも100種類以上のタンパク質が含まれているが、糖を含んでいない単純タンパク質はアルブミンとCRP（C反応性タンパク質）のみである。糖タンパク質は、様々な細胞の形質膜の構成成分として、あるいは、細胞外に分泌され、血液、消化液、乳汁、細胞間基質などに含まれ、生体内で広く分布している。糖鎖にはタンパク質の安定性など物性を変えるばかりでなく、細胞内外におけるタンパク質の輸送など糖鎖が認識分子として重要な働きをしていることが明らかになっている。

糖鎖は单糖のつながったものであるが、それぞれ糖はひとつひとつ特異的な糖転移酵素によって順番につなげられる。糖転移酵素遺伝子はヒトの場合全遺伝子の約1%、300程度あると考えられているが、これまでにすでに半数以上が明らかにされている。糖鎖は、遺伝子の直接の産物ではなく二次産物である。タンパク質や核酸と違って糖鎖の生合成が鋳型なしに進められ、細胞の生理

連絡先：〒173-0015

東京都板橋区栄町35-2

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団

東京都老人総合研究所

老化ゲノム機能研究チーム

Tel : 03-3964-3241 (内線3080)

Fax : 03-3579-4776

E-mail : endo@tmig.or.jp

的条件でより左右されやすいことを考慮すると、糖鎖の加齢変化は老化研究のうえできわめて重要な課題と思われる。我々は老化に伴う細胞表面の糖鎖や分泌された糖鎖の変化を明らかにすることによって、細胞の内部や組織でどのような加齢変化が生じているか解明できるのではないかと考えた。

3 老化に伴う脳糖タンパク質の変化

脳は身体すべての司令塔であるばかりでなく、精神面の活動もコントロールし精密に調整されている究極の器官である。老化に伴う脳の変化としては、その重量や大きさが減少することはよく知られているし、白質に対する灰白質の比率も変化する。このような事実から、老化に伴って脳では多くの分子が変化することが予想されていた。そこで手始めに我々は、脳糖タンパク質の老化に伴う変化をプロテオーム手法と、糖鎖構造を特異的に認識するレクチンを組み合わせて解析した。

脳各部の可溶性画分と膜画分のタンパク質を電気泳動にて分画した後に様々なレクチンとの反応性を検討し、老齢（29月齢）と若齢（9週齢）の糖タンパク質の発現パターンを比較した。その結果多くの糖タンパク質が老化に伴い変化することが明らかになった [1]。レクチンとの反応性の変化の原因として、1) 糖タンパク質の発現の増減、2) 糖タンパク質に結合している糖鎖の構造変化、による可能性が考えられる。ここではその一部を紹介する。

老齢ラットと若齢ラットを比較したところ、老齢ラット脊髄の膜画分にのみレンチルレクチンと反応する糖タンパク質を見いだした(図1A)。さらに分子量の情報を得るためにゲル濃度を上昇させて解析したところ、分子量は約30KDaであった(図1B)。この糖タンパク質のアミノ酸配列を決定すると、免疫グロブリンスーパーファミリーのひとつであるP₀であった [2]。そこで抗P₀抗体で脊髄膜画分を解析すると、P₀は若齢と老齢双方に発現していたが(図1C)、若齢のP₀には糖鎖が検出されなかった。以上の結果から老化に伴って糖鎖が付加したP₀が発現することが明らかになった。一方抗P₀抗体を用いて脊髄の免疫染色を行った結果、神経細胞に発現が認められ、老齢で細胞の数と大きさが減少していた [3]。この結果から老化によって神経細胞の糖鎖合成が変化し、P₀の糖鎖が変化したと考えられる。P₀はこれまで末梢神経のシュワン細胞に発現しミエリン形成に関わるといわれていたが、我々の結果から中枢の神経細胞においても機能する可能性が示唆された。ところでP₀のN型糖鎖は結合性に影響すること、特に複合型糖鎖がそのホモフィリックな結合を強めることができることが明らかになっている。したがって老化に伴ってレンチルレクチンに反応するN型糖鎖(図1D)の付加した分子が出現し、低下した神経回路網の結合を強化している可能性も考えられる。

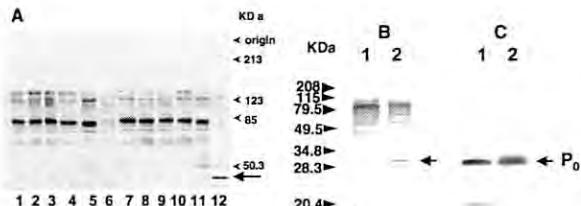


図1 ラット脳膜画分の解析

A: ラット脳各部位膜画分のレンチルレクチンによるレクチンプロッティング、7.5%のアクリルアミドゲルを使用した。老齢の脊髄にのみ存在するバンドを検出した(矢印)。レーン1、7: 皮質、2、8: 白質、3、9: 基底核、4、10: 海馬、5、11: 小脳、6、12: 脊髄、レーン1-6: 9週齢、7-12: 29月齢。B: 脊髄の膜画分を15%のアクリルアミドゲルを用いて解析した。老齢のみに分子量約30KDaの糖タンパク質を検出した(矢印、その後アミノ酸配列を決定しP₀と同定した)。レーン1: 9週齢、2: 29月齢。C: Bと同様に脊髄膜画分を分画し、抗P₀ペプチド特異抗体に対する反応性を検討した。若齢、老齢双方にP₀が検出された(矢印)。レーン1: 9週齢、2: 29月齢。D: レンチルレクチンが認識するN結合型糖鎖の構造。

4 老化マーカー糖タンパク質の探索

我々はアルツハイマー病(AD)患者脳の細胞質タンパク質タウが、N型糖鎖特に高マンノース型糖鎖による修飾を受ける事を明らかにした [4]。ADの危険因子のひとつとして老化が考えられていることから、自然老化でも細胞質にN型糖鎖による修飾を受けたタンパク質が増加するかどうか、2次元電気泳動とレクチン染色を組み合わせて解析した [5]。

2月齢の若齢および34月齢の老齢ラット大脳皮質可溶性糖タンパク質で、14個のスポットでコンカナバリンAとの反応性が上昇していた(図2)。これらのスポットは

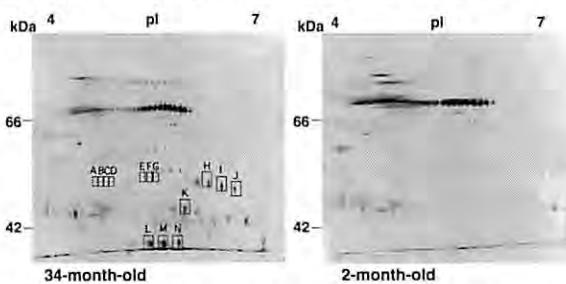


図2 ラット大脳皮質可溶性画分の糖タンパク質のコンカナバリンAによる検出
老齢(34月齢:左図)若齢(2月齢:右図)。
14個のスポット(A~N)で反応性の上昇がみられた。このうち3スポット(L, M, N)が、カテプシンDと同定された。

おもに高マンノース型糖鎖を分解するEndo Hに対し感受性を示すことから、高マンノース型糖鎖の修飾を受けている可能性が示唆された。老齢ラットで増加したスポットを回収し、トリプシン消化後質量分析計(nanoLC-ESI-Q-TOF/MS)により分析しタンパク質の同定を行ったところ、その中の3スポットがリソーム

のタンパク質分解酵素であるカテプシンDと同定された。可溶性画分中のカテプシンDは老化に伴って増加するが、他のリソソーム酵素（ β -ヘキソサミニダーゼと β -グルクロニダーゼ）は増加しないことから、カテプシンDの上昇は単なるリソソーム膜の破綻によるものではないと考えられた（図3）。一方、大脳皮質以外の組織について

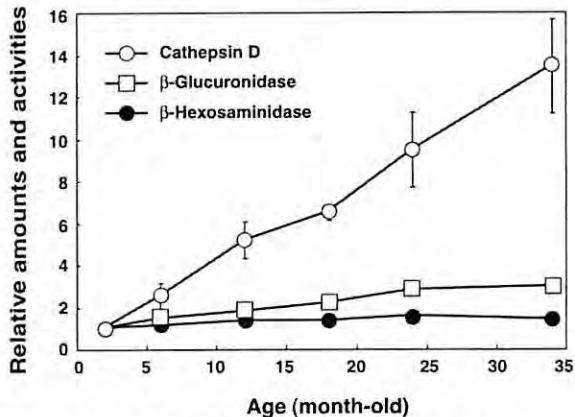


図3 ラット大脳皮質可溶性画分中の酵素の加齢変化
可溶性画分中のカテプシンDは老化に伴って増加するが、他のリソソーム酵素（ β -ヘキソサミニダーゼと β -グルクロニダーゼ）は増加しない。

も調べたところ、海馬、小脳、腎臓、肝臓、脾臓においても同様に老化に伴い可溶性画分中のカテプシンDが増加していた。また免疫組織化学的解析から、カテプシンDはおもに神経細胞に発現しており、その発現が老齢で増加することが分かった（図4）。可溶性画分のタンパク

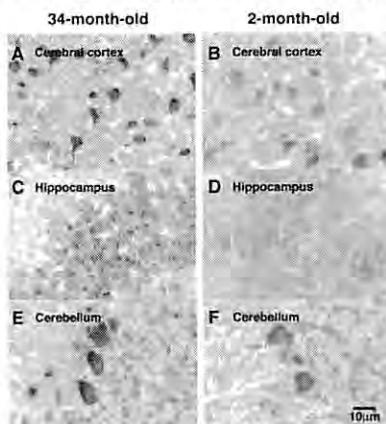


図4 抗カテプシンD抗体によるラット脳組織におけるカテプシンDの加齢変化
カテプシンDはおもに神経細胞に発現しており、その発現が老齢で増加していた。大脳皮質（AとB）、海馬（CとD）、小脳（EとF）；34月齢（A, C, E）、2月齢（B, D, F）

質は、おもに細胞質由来と考えられる。細胞質カテプシンDは新たな老化マーカーとしての可能性を期待させる。さらに、糖タンパク質が細胞質に蓄積するという現象がなぜ生じるのか、そして細胞質カテプシンDの由来を明らかすることは、新たな老化の分子メカニズムの解明につながるのではないかと期待している。現在同じく増加する残りの糖タンパク質を同定することによって何らかのヒントが得られるのではないかと考え進めている。最

近、細胞は小胞体で異常に合成されたタンパク質を細胞質中に放出して処理する品質管理機能を持つことが明らかにされつつある。老化に伴いこの処理システムに異常が生じたために糖タンパク質が細胞質に蓄積し細胞死へつながる可能性が考えられる。

5 グライコプロテオミクス

ポストゲノム研究としてタンパク質全体を対象としているプロテオミクスでは、ハイスクローブットな方法、その技術は著しく向上している。こういった技術を駆使して、ある組織や細胞などの疾患や発生に伴い変化する全てのタンパク質を同定し、そのタンパク質の機能を明らかにし、その変化を生物学的あるいは生理的に理解しようとするのがプロテオーム研究であり多くの報告がある。たとえば我々は、ラット海馬シナプトソーム画分タンパク質を解析し、老化に伴ってアクチンやその折り畳みに関わる因子が変化する事を明らかにした [6]。

上述したようにタンパク質の50%以上は糖鎖が付加されていると考えられているので、プロテオミクス解析だけでは不十分である。グライコプロテオミクスは、糖タンパク質の機能を明らかにすることを目指している。糖鎖が付加されたタンパク質を同定するだけではその機能を知る事はできず、糖鎖が変化することで、どのような機能変化を起こすのかを同定することが必要であり、そのための方法論の開発が必要である。すなわち、糖鎖構造、タンパク質への糖鎖結合部位、タンパク質の同定につながるアミノ酸配列情報をハイスクローブットな方法によって得なければならない [7]。糖タンパク質を酵素などによって切断して得られる糖ペプチドには、これら要求されるすべての情報が含まれている。現在糖鎖構造、タンパク質への糖鎖結合部位、タンパク質のアミノ酸配列情報をハイスクローブットに得るために技術開発を行なっている。

6 おわりに

今回述べた脳糖タンパク質糖鎖の解析は、その発現量が低くサンプルに限りがあるためにこれまで解析が立ち後れていた。我々はこの隘路を克服すべく蛍光標識と質量分析計を用いた高速高感度糖鎖解析システムを開発した[8]。今後はこれらの方法を駆使し、個々の糖タンパク質の老化や疾病に伴う変化について糖鎖構造を含めて解析し、老化に伴う変化を具体的に明らかにしたい。老化に伴う変化の解明から、脳機能維持のためにどのような糖タンパク質の発現を賦活化すれば良いか、もしくはどのような修飾を防げば良いかといったことを明らかにし、健康長寿（サクセスフルエイジング）達成に向けて努力したい。

本年6月21日急逝した故佐藤雄治博士は、その直前長崎において開催された第29回日本基礎老化学会において、「グライコプロテオミクスによる新規老化マーカー糖タンパク質の発見及びその性状解析」という研究課題により若手奨励賞を受賞した。本稿は研究の背景およびこれまで佐藤博士が行なってきた研究の一端を紹介した。

これらの研究は、佐藤博士と他の研究グループとの共同研究によって行なわれたものであり、ここに改めて共同研究者に心から感謝するとともに、彼のご冥福をお祈りしたい。

文献

1. Sato Y, Kimura M and Endo T. Comparison of lectin-binding patterns between young adults and older rat glycoproteins in the brain. *Glycoconj J* 15: 1133-1140, 1998.
2. Sato Y, Kimura M, Yasuda C, Nakano Y, Tomita M, Kobata A and Endo T. Evidence for the presence of major peripheral myelin glycoprotein P₀ in mammalian spinal cord and a change of its glycosylation state during aging. *Glycobiology* 9: 655-660, 1999.
3. Sato Y and Endo T. Alterations with age of the neurons expressing P₀ in the rat spinal cord. *Neurosci Lett* 281: 41-44, 2000.
4. Sato Y, Naito Y, Grundke-Iqbali I, Iqbal K and Endo T. Analysis of N-glycans of pathological tau: possible occurrence of aberrant processing of tau in Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 496: 152-160, 2001.
5. Sato Y, Suzuki Y, Ito E, Shimazaki S, Ishida M, Yamamoto T, Yamamoto H, Toda T, Suzuki M, Suzuki A and Endo T. Identification and characterization of an increased glycoprotein in aging: Age-associated translocation of cathepsin D. *Mech Ageing Dev* 127: 771-778, 2006.
6. Sato Y, Yamanaka H, Toda T, Shinohara Y and Endo T. Comparison of hippocampal synaptosome proteins in young-adult and aged rats. *Neurosci Lett* 382: 22-26, 2005.
7. Wada Y, Tajiri M and Yoshida S. Hydrophilic affinity isolation and MALDI multiple-stage tandem mass spectrometry of glycopeptides for glycoproteomics. *Anal Chem* 76: 6560-6565, 2004.
8. Sato Y, Suzuki M, Nirasawa T, Suzuki A and Endo T. Microsequencing of glycans using 2-aminobenzamide and MALDI-TOF mass spectrometry: occurrence of unique linkage-dependent fragmentation. *Anal Chem* 72: 1207-1216, 2000.

Identification and characterization of a glycoprotein associated with aging

Tamao Endo, Yuji Sato

Glycobiology

Functional Genomics

Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

Foundation for Research on Aging and Promotion of Human Welfare

35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

Glycosylation is one of the most common protein modifications. Glycans of glycoproteins work as a biosignal for multi-cellular organisms, including cell-cell adhesion, cell-matrix adhesion, extracellular receptor-ligand interactions, and the regulation of intracellular signal transduction processes. Therefore, it is important to analyze the changes of glycoproteins in aging. We found the accumulation of fourteen N-glycosylated proteins in the rat cerebral cortex cytosolic fraction in the aging process by a comparative study with two-dimensional gel electrophoresis and concanavalin A staining. All proteins had high mannose N-glycans because they were sensitive to endoglycosidase H digestion. Then, three cytosolic glycoproteins were identified as cathepsin D, a lysosomal protease, by tryptic digestion and mass spectrometer. The increase of cytosolic cathepsin D during aging was not due to lysosomal membrane disruption, because the activities of β -hexosaminidase and β -glucuronidase, other lysosomal enzymes, did not increase in the cytosolic fraction. This phenomenon was also observed in the hippocampus, cerebellum, kidney, liver, and spleen. Based on these results, we propose that cytosolic cathepsin D is a new biomarker of aging. It is necessary to perform glycoproteomics, e.g., protein identification, location of glycosylation sites, and structures of glycans attached to each glycosylated site in the future.

Key words: glycoprotein, glycoproteomics, brain, cathepsin D

【研究報告】

抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の病因と病態

1. 重本 和宏, 2.久保 幸穂, 2.丸山 直記

1.愛媛大学大学院医学系研究科 予防医学 2.東京都老人総合研究所 老化制御

はじめに

重症筋無力症の新しい自己抗原、MuSK(muscle-specific kinase)に対する自己抗体により重症筋無力症が発症することを、我々は最近動物モデルを使って証明した。また、MuSKとその複合体の機能異常により遺伝性筋無力症が発症することが次々と最近明らかにされている。一方でMuSKのリガンド、活性化機構、機能は未解明である。今後もMuSKを中心とした研究から、神経筋疾患の原因が明らかにされるであろう。サルコペニアについても、神経筋シナプスの可塑性のメカニズムとの関連が注目される。

重症筋無力症の新しい病因

重症筋無力症が、神経筋シナプスの筋側部に集まる神経伝達分子レセプター（アセチルコリンレセプター）に対する自己抗体により発症することは、すでに30年前に証明されており、あまりにも有名である[1]。この場合、運動神経からアセチルコリンによるシナプスを介した筋への神経伝達を阻害する結果、運動麻痺の症状を発症する。その発症のメカニズムは多くの研究者により明らかにされてきた。一方で重症筋無力症の患者の約20%では、抗アセチルコリンレセプター抗体(抗AChR抗体)は検出されないことから、抗AChR抗体陽性の患者群（seropositive 重症筋無力症）、抗AChR抗体の陰性の患者群（seronegative 重症筋無力症）と分類し、その発症原因としてAChR抗原以外の自己抗体の存在が予想されていた。

2001年、Hochらはseropositive 重症筋無力症の患者の2/3の血清中に抗MuSK (Muscle specific kinase) 抗体を検出した[2]。さらに、我々は重症筋無力症患者の抗MuSK抗体の定量アッセイシステムを神戸薬科大学太

田教授と共同で開発して国内の患者を調べたところ、seronegative 重症筋無力症の約30%で抗 MuSK抗体が高値で検出されることを報告した[3,4]。しかしながら、抗MuSK自己抗体が患者血清中に存在することは、必ずしも重症筋無力症の発症原因であるとはいえないことや、原因不明の筋無力症候群の症状を示すが、抗MuSK自己抗体が発症原因とは考えられない、という症例が報告され抗MuSK抗体が重症筋無力症の真の発症原因となりうるのかどうか激しい議論が起きた[5,6]。つまり、抗MuSK自己抗体と重症筋無力症発症の因果関係を明らかにするには、動物モデルで抗MuSK自己抗体によって症状を誘導できるかどうかが重要な問題であった。我々は、精製したMuSK蛋白をウサギに免疫することにより、抗MuSK自己抗体により重症筋無力症様の症状を発症することを世界で初めて示した（図1）[7]。発症したウサギの神経筋シナプスでは、AChRの凝集が減少しており筋電図も重症筋無力症と同じパターンを示すことから、抗MuSK自己抗体がMuSKの機能を阻止して神経筋シナプスの維持を障害することを明らかにした。言い換ればMuSKが、神経筋シナプスを維持するのに必須であることが明らかとなった。



図1 リコンビナントMuSK蛋白の免疫により発症した筋無力症ウサギモデル。

連絡先：

1. 791-0295

愛媛県東温市志津川

Tel: 089-960-5278

Fax:089-960-5279

E-mail: shigemot@m.ehime-u.ac.jp

2. 173-0015

東京都板橋区栄町35-2

Tel:03-3964-3241

Fax:03-3579-4776

MuSK機能と重症筋無力症の発症メカニズム

Torpedo RTKはリセプター型タイロシンカイネースで、1992年にシビレエイの発電器官から発見された[8]。ほ乳類のTorpedo RTKに相当する遺伝子としてMuSKが、1995年に筆者の所属していた英国のLudwig Instituteからマウス Nsk2 (=MuSK)，そして米国リ

ジェネロン社がrat MuSK遺伝子を単離し報告した[9,10]。MuSKはリセプタータイロシン型カイネースに分類され、MuSKの細胞外領域に未知の分子が結合することにより、細胞内のタイロシンカイネース酵素の部位が活性化される。ほ乳類の神経筋シナップスの筋側で、アセチルコリンレセプターと一緒にMuSK蛋白が発現している。ちなみに、シビレエイの発電器官は神経筋シナップス接合部がたくさん積み重なったもので、進化の過程で筋肉が退化し、その代り発電器官として進化したものである。シビレエイは、これを使って電位差を発生させ、小魚などを気絶させて捕食に利用する(図2)。MuSKはリセプター蛋白の構造をしており、自己抗体は細胞の外側に突き出ている部位に結合することがわかっている(図3)。



図2 日本の太平洋沿岸で捕獲したシビレエイ。

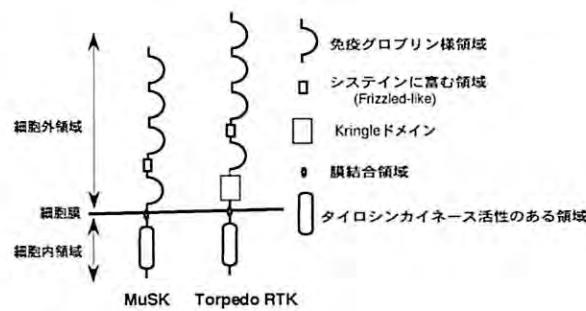


図3 MuSK蛋白のドメイン構造

MuSKはリセプタータイロシンカイネース(RTK)蛋白に分類される。細胞外に突き出た領域は、それぞれの蛋白の高次構造のドメイン構造で表した。4個の免疫グロブリン様ドメイン、Frizzled-likeドメインから構成されている。シビレエイのTorpedo RTKには、Kringle-likeドメインが一つ余分にある。

MuSK遺伝子を発生工学の手法により遺伝的に欠失させた、いわゆるノックアウトマウスでは神経筋シナップスが形成されないことから、MuSKがシナップス形成に必須の遺伝子であることが明らかにされている[11]。加えてシナップスの運動神経終末から分泌される、 agrin (ヘパリン硫酸プロテオグリカン) のノックアウトマウスの表現型が、MuSKノックアウトマウスときわめて類似していることから、 agrinとMuSKの機能が密接に関連していることが明らかになった[12]。 AgrinはMcMahanの

agrin仮説として有名である[13]。これは神経筋シナップスで運動神経終末から分泌される未知の分子により、シナップス筋側でAChR凝集を誘導する分子が存在するという仮説であった。そして実際にAChR凝集活性を示す agrin遺伝子が同定された[14,15]。実験的に agrinを培養筋細胞に添加すると、筋細胞表面のAChR凝集を誘導することができるが、そのためにはMuSKのタイロシンカイネースの活性化が必須であることが示されている。しかし、 agrinはMuSKに直接結合しないことから、MuSKに結合して活性化を誘導するリガンドはいまだに不明であり、AChR凝集のメカニズムもほとんど解明されていない。未知リガンド (あるいはco-receptorかもしれない) と agrinの両方がMuSKのタイロシンカイネースの活性化に必要であると予想される(図4)[16]。興味深いことに、胎児期において運動神経終末が筋支配する以前から、 agrin非存在下でもMuSKの働きにより、筋組織の中心領域でAChRの緩やかな集合が誘導されることが示されている[17,18]。これは、シナップス神経終末から agrinによりシナップス後部筋側へ伝えるシグナルの仲介役のリセプターとして、 MuSKがAChRを凝集するだけでないことを示している。さらに、AChR凝集には MuSKからのシグナル伝達だけでは不十分で、細胞外ドメインが必要である。これらの結果から、MuSKはAChRや未知の分子と複合体を形成する足場蛋白としても機能している可能性を考えられる。このようにMuSKは神経終末がシナップスを介して筋を支配する前から、将来運動神経支配される予定領域の決定に必要な分子として作用する。

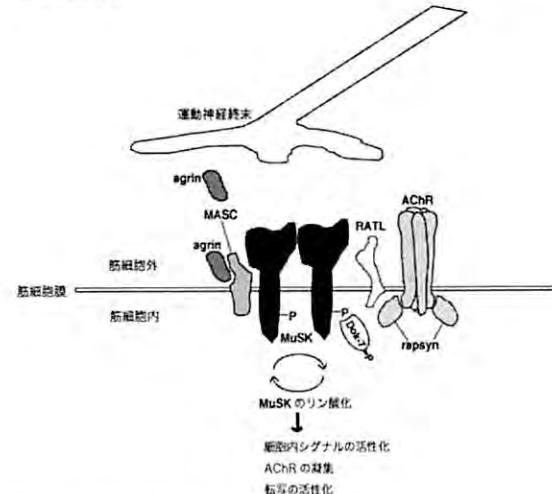


図4 MuSKの複合体形成

MuSKは神経筋シナップスの形成、維持、再生に必須の分子であるが、複数の分子と複合体を形成してその機能を果たしている。運動神経終末から分泌される agrin (ヘパラン硫酸プロテオグリカン) と未知の分子 MASC (myotube-associated specificity component) により、 MuSKが2量体を形成して細胞内領域にあるカイネースが活性化する。そして、 MuSKの細胞内領域のリン酸化が引き金となり、 Dok-7などのシグナル分子が結合し、細胞外から細胞内へシグナル伝達され AChRの凝集や核へ転写活性化シグナルを伝える。 agrinは、直接 MuSKと結合することができない。遺伝子が同定されている分子: agrin, MuSK, AChR, Dok-7 機能解析から存在が想定されるが未同定の分子: MASC (myotube-associated specificity component), RATL (rapsynとMuSKをつなぐ分子:rapsyn-associated transmembrane linking molecule)。

運動神経支配の有無に関係なく、神経筋シナプス接合部でのAChR凝集は、MuSKによって誘導されるが、この作用は単に胎児期だけでなく、成体の成熟した神経筋シナプスの維持や、再生においても重要な役割を果たしている。神経筋シナプス接合部は、いったん形成されると不動のものと考えがちだが、成熟した神経筋シナプスにおいても短時間でAChRなどの分子が次々入れ替わり、動的にはいつも再構築されている[18]。従って、MuSKによる神経筋シナプス接合部の形成機構は、それぞれのシナプスが形成された後も、終生にわたって維持や再生の機構に必要であると考えられた。

抗MuSK自己抗体と重症筋無力症発症の因果関係を明らかにするには、動物モデルで抗MuSK自己抗体によって症状を誘導できるかどうかが重要な問題であった。我々は、精製したMuSK蛋白をウサギに免疫することにより、抗MuSK自己抗体により重症筋無力症様の症状を発症することを世界で初めて示した[7]。発症したウサギの神経筋シナプスでは、AChRの凝集が減少しており、抗MuSK自己抗体が、MuSKの機能を阻止して神経筋シナプスの維持を障害することを明らかにした。言い換えれば、我々はMuSK蛋白が神経筋シナプスの維持に必須であることをはじめて示すことができた。

ところで重症筋無力症患者の経過は長く、その過程で何らかの治療を施されているため、神経筋シナプスもそれに応じて、抗MuSK抗体以外の因子の影響を受けている可能性がある。また、神経筋シナプスは短時間で再構築され、動的に定常状態にあるので、その形態変化と病態を直接関連づけて解析するのは困難であるかもしれない。そして、神経筋シナプスであっても、体の部位、年齢や性別によってその動的再構築の速度や、障害による再生能力が異なることは十分に考えられる。さらに、抗MuSK抗体がシナプスのAChR凝集阻害だけでなく、未知のMuSK機能阻害活性を誘発している可能性もあり、病態や経過が症例によって異なり複雑であることも考えられる。以上の観点から、抗MuSK抗体による重症筋無力症発症の動物モデルの解析は、臨床研究とならんで重症筋無力症の病態を理解する上で重要である。

抗MuSK抗体陽性重症筋無力症患者の病態像

著者らを含め、これまでに報告されている抗MuSK抗体陽性例における臨床像の特徴は、以下のようにまとめることができる。

- 1 これまで、英国、イギリス、台湾、本邦、米国から抗MuSK抗体陽性重症筋無力症に関する文献報告がある。Seronegative重症筋無力症におけるMuSK抗体陽性率は、欧米では約40%陽性、日本人では約30%となっている[3,4]。当初この陽性率には欧米と日本で大きな差（70%と40%）があった[2]。
- 2 抗AChR抗体と抗MuSK抗体を同時に保有する重症筋無力症患者が存在するかどうかについて議論がわかっている。我々の最新のアッセイ系およびイギリスのベンチャー会社が供給するものを使った結果からは、両方が陽性の患者は見つかっていない。しかし、

スウェーデンのグループからは両方が検出される患者も存在するという報告もある。しかし彼らが抗MuSK抗体値に使用しているMuSK蛋白は発現細胞から免疫沈降で得たものを使用しており、別の蛋白に反応する抗体値も測定している可能性が否定できない。

- 3 同じ重症筋無力症患者で、抗MuSK抗体値の増減と症状の変化には相関関係がある[20]。治療抵抗性の患者では、抗体値の変化は少ない。同じ程度の症状の患者間では抗MuSK抗体値にはばらつきがありそうである。つまり、抗MuSK抗体はもちろんポリクローナルであるが、MuSK蛋白のどの部位に抗体が結合するかによって病態が決まる可能性が高い。
- 4 最近、症状が軽症の眼筋型重症筋無力症例や小児重症筋無力症例では抗MuSK抗体が検出される例も報告されており、抗MuSK抗体陽性の重症筋無力症の病態は、当初報告されていたものより多彩である。抗MuSK抗体陽性の眼筋型重症筋無力症例の場合、重症の全身型への移行を十分警戒する必要がある。
- 5 発症年齢は、20歳から60歳までが多くみられ、圧倒的に女性が多い（自験例では16:3）。特定のHLA型との連鎖が報告されている[21]。
- 6 主症状としては、眼瞼下垂、複視、構音障害、鼻声、嚥下困難、球麻痺、頸部筋力低下、呼吸筋麻痺がある。また舌萎縮による運動障害を伴うことや、クリーゼに陥りやすい特徴がある[22,23]。一方、抗AChR抗体陽性重症筋無力症の主症状である四肢の筋力低下や易疲労性の症状が比較的少ない症例がある。MuSK抗体陽性患者ではAChR抗体陽性と比較して有意に筋萎縮が認められることがVincentらによって報告されている。いわゆる速筋（白筋）が選択的に萎縮している傾向があり、その選択的萎縮の機序は大変興味がもたれる[24]。胸腺腫合併例のほとんどは抗AChR抗体陽性であることから、抗MuSK抗体陽性症例においては、胸腺腫の合併例はない（自験例で胸腺過形成を疑われた症例が1例存在）。抗AChR抗体陽性重症筋無力症と異なり、胸腺（腫）摘出の効果はこれまでの報告では無効のようである。
- 7 抗コリンエステラーゼ剤やステロイド療法に対して難治性である症例が多い。血漿交換療法は症状の改善に有効だが、筋萎縮の強い症例に関してその有効性は現在のところ不明である。加えて前述したように、ステロイド治療後も球症状が残存する症例も見られる。一般に用いられている免疫抑制剤の効果は不定で、予後不良の症例もある。抗コリンエステラーゼ薬の効果は不定で、改善しない例や副作用の出る例がある。一部にステロイド薬や免疫抑制薬に反応せず、筋萎縮を来す予後不良の症例もある。
- 8 抗MuSK抗体は、MuSKの細胞外IgG様ドメインに結合し、圧倒的にIgGサブクラス4であり（一部IgGサブクラス2にも検出される）、このクラス4には補体介在性作用はない。抗AChR抗体はこれまでの研

究から、補体介在性のIgG1やIgG3が主要であることから、抗MuSK抗体による病態機序には、補体介在性後シナプス膜破壊の関与はないと考えられる。

9 症状、筋電図や抗コリンエステラーゼによる診断、および治療に対する反応、臨床経過に関する特徴についていくつかのタイプに分かれる。一つは、眼・球症状や呼吸筋障害などが目立つ重症例で、クリーゼにもなりやすく免疫抑制剤に難治性であるケース。もう一つは眼の症状はむしろ目立たず、頸部、肩や呼吸筋のweaknessが主体であるケース。そして、残りは抗AChR抗体陽性重症筋無力症と症状の上では区別がつかないケースである。本邦やイタリアの報告では、最初のケースの眼・球症状が目立つ重症例が多いと報告されており注目される。抗MuSK抗体陽性重症筋無力症では、筋電図所見で重症筋無力症の典型的な重症筋無力症の所見を示さず、抗コリンエステラーゼ剤により症状が改善しないという症例も多いという報告もあり、抗AChR抗体が陰性で重症筋無力症が疑われる場合は、抗MuSK抗体の有無を調べることは重要である。

MuSKと複合体分子の遺伝子変異による疾患

リセプタータイロシンカイネースは通常、リガンドとの結合によりシグナルを細胞内に伝達するが、MuSKは複合体を形成してその他にもさまざまな機能を果たしている。そしてMuSKや複合体分子 (rapsyn, Dok-7) の遺伝子変異が遺伝性筋無力症の原因となることが次々と明らかにされている[25-27]。原因不明の重症筋無力症の自己抗原も、MuSKやAChRと複合体を形成して機能していることが予想される。また、MuSKは神経筋シナプス以外に、脳などで発現機能しているという報告も最近ではじめている[28-29]。今後も、MuSKに関連する研究からこれまで不明であった神経や筋疾患の原因が明らかにされることが期待される。我々はサルコペニアと神経筋シナプスの可塑性のメカニズムとの関連について注目して研究を進めている。

文献

1. Patrick J and Lindstrom, J. (1973). Autoimmune response to acetylcholine receptor. *Science* 180, 871-872.
2. Hoch W, McConville J, et al. (2001). Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med*, 365-368.
3. Ohta K, Shigemoto, S. Kubo, et al. (2004). MuSK antibodies in AChR Ab-seropositive MG vs AChR Ab-seronegative MG. *Neurology* 62, 2012-2133.
4. Ohta K, Shigemoto K, Kubo S, et al. (2005). *Neurology* 65, 1988.
5. Lindstrom J. (2004). Is "seronegative" MG ex- plained by autoantibodies to MuSK? *Neurology* 62, 1920-1921.
6. Selcen D, Fukuda T, Shen XM, et al. (2004). Are MuSK antibodies the primary cause of myasthenic symptoms? *Neurology* 62, 1945-1950.
7. Shigemoto K, Kubo S, Maruyama N, et al. (2006). Induction of myasthenia by immunization against muscle-specific kinase. *J Clin Invest* 116, 1016-24.
8. Charles GB, Jennings SM, Dyer et al. (1993). Muscle-specific trk-related receptor with a kringle domain defines a distinct class of receptor tyrosine kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 2895-2899.
9. Ganju P, Walls E, Brennan J, et al. (1995). Cloning and developmental expression of Nsk2, a novel receptor tyrosine kinase implicated in skeletal myogenesis. *Oncogene* 11, 281-90.
10. Valenzuela DM, Stitt TN, DiStefano PS, et al. (1995). Receptor tyrosine kinase specific for the skeletal muscle lineage: expression in embryonic muscle, at the neuromuscular junction, and after injury. *Neuron* 15, 573-84.
11. DeChiara TM, Bowen DC, Valenzuela DM, et al. (1996). The receptor tyrosine kinase MuSK is required for neuromuscular junction formation in vivo. *Cell* 85, 501-12.
12. Gautam M, Noakes PG, Moscoso L, et al. (1996). Defective Neuromuscular Synaptogenesis in Agrin-Deficient Mutant Mice. *Cell* 85, 525-35.
13. McMahan UJ. The agrin hypothesis. (1990). *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 55, 407-18.
14. Ruegg MA, Tsim KW, Horton SE, et al. (1992). The agrin gene codes for a family of basal lamina proteins that differ in function and distribution. *Neuron* 8, 691-99.
15. Glass DJ, Bowen DC, Stitt TN, et al. (1996). Agrin acts via a MuSK receptor complex. *Cell* 85, 513-523.
16. Glass DJ, Bowen DC, Stitt TN, et al. (1996). Agrin acts via a MuSK receptor complex. *Cell* 85, 513-523.
17. Lin W, Burgess RW, Dominguez B, Pfaff SL, et al. (2001). Distinct roles of nerve and muscle in postsynaptic differentiation of the neuromuscular synapse. *Nature* 410, 1057-64.
18. Yang X, Arber S, William C, et al. (2001). Patterning of muscle acetylcholine receptor gene expression in the absence of motor innervation. *Neuron* 30, 399-410.
19. Akaaboune M, Culican M, Tumey G, et al.

- (1999). Rapid and reversible effects of activity on acetylcholine receptor density at the neuromuscular junction in vivo. *Science* 286, 503-507.
20. Bartoccioni E, Scuderi F, Minicuci M, et al. (2006). Anti-MuSK antibodies: Correlation with myasthenia gravis severity. *Neurology* 67, 505-507.
 21. Niks E, Kuks J, PoepB, et al. (2006). Strong association of MuSK antibody-positive myasthenia gravis and HLA-DR14-DQ5. *Neurology* 66, 1772-1774.
 22. Evoli A, Tonali A, Pauda L, et al. (2003). Clinical correlates with anti-MuSK antibodies in generalized seronegative myasthenia gravis. *Brain* 126, 2304-2311.
 23. Sanders DB, El-Salem K, Massey J, et al. (2003). Clinical aspects of MuSK antibody positive seronegative MG. *Neurology* 60, 1978-1980.
 24. Farrugia M, Robson M, Clover L, et al. (2006). MRI and clinical studies of facial and bulbar muscle involvement in MuSK antibody-associated myasthenia gravis. *Brain* 129, 1981-1992.
 25. Ohno K, Engel AG, Shen XM, et al. (2002). Rapsyn mutations in humans cause endplate acetylcholine-receptor deficiency and myasthenic syndrome. *Am J HuM Genet* 70, 875-885.
 26. Chevessier F, Faraut B, Ravel-Chapuis A, et al. (2004). MUSK, a new target for mutations causing congenital myasthenic syndrome. *Hum Mol Genet* 2004 13, 3229-3240.
 27. Beeson D, Higuchi O, Palace J, et al. (2006). Dok-7 mutations underlie a neuromuscular junction synaptopathy. *Science* 313, 1975-1978.
 28. Garcia-Osta A, Tsokas P, Pollonini G, et al. (2006). MuSK expressed in the Brain Mediates Cholinergic Responses, Synaptic Plasticity, and Memory Formation. *J Neurosci* 26, 7971-7932.
 29. Cheusova T, Khan M, Enz R, et al. (2006). Identification of developmentally regulated expression of MuSK in astrocyte of the rodent retina. *J Neurochem* 99, 450-457.

Clinical features and molecular pathogenesis of myasthenia gravis caused by anti-MuSK antibodies.

1.Kazuhiro Shigemoto, 2.Sachiho Kubo, 2.Naoki Maruyama

1.Department of Preventive Medicine

Ehime University, School of Medicine

Shitsukawa, Toon, Ehime, Japan 791-0295

2.Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo, JAPAN 173-0015

Abstract:

We describe a recent progress in understanding of the pathogenesis of myasthenia gravis (MG). Antibodies to muscle acetylcholine receptors (AChR) are a major cause of the human autoimmune disease, MG. Additionally, autoantibodies against the ectodomain of muscle specific kinase (MuSK) have been found in generalized MG patients. MuSK is critical for the clustering of AChR and plays multiple roles at neuromuscular junctions (NMJ). Recently we demonstrated that rabbits immunized with MuSK ectodomain protein manifested MG-like muscle weakness. That is, the MuSK autoantibodies rigorously inhibited AChR clustering mediated by multiple pathways, an outcome that broadens general comprehension of myasthenic diseases including MG, congenital myasthenic syndrome and sarcopenia.

Key words: MuSK, myasthenia gravis, neuromuscular synapse

【パネルディスカッション】

「基礎老化研究の未来」

パネリスト：後藤佐多良¹、丸山 直記²、細川 昌則³、田平 武⁴

司 会：石井 直明⁵、樋口 京一⁶

指 定 発 言：樋口 京一⁶

企 画：下川 功⁷

¹ 東邦大学薬学部 ² 東京都老人総合研究所 ³ 愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

⁴ 国立長寿医療センター研究所 ⁵ 東海大学医学部 ⁶ 信州大学医学部 ⁷ 長崎大学医学部

1. はじめに

下川 功

今年（2006年）6月14日、長崎で開催された日本基礎老化学会第29回大会において行われたパネルディスカッション「基礎老化研究の未来」について報告する。この企画は、アンチエイジングで代表される研究や産業の氾濫の中で、若い研究者に基礎老化研究の方向性を示すことを目的とした。パネリストおよび司会には、国内の基礎老化研究をリードする研究者にお願いした。以下は、抄録および録音された内容を基に筆者がまとめ、各自が修正したものである。

2. パネルディスカッションの開始に際して

石井 直明

老化の研究は非常に多分野に亘っており、専門外の人にも理解できるように話すことが必要であろう。また、午前中の発表などを聞いても、結果の発表だけに終わっている。若い細胞と年をとった細胞を比べると、違いがあるのは当然である。そこに何を見出せるのか、それが老化とどのように結びつくのかという仮説の提示と議論が重要である。それがなければ、基礎老化研究どころか基礎老化学会の存続自体が危ぶまれる。

基礎老化研究の未来というテーマは、タイミングが多い。我々が考えている以上に社会は老化や抗加齢（アンチエイジング）に興味を抱き、期待している。その期待に応えるためには、我々がそれに対して誠実に答えられるような成果を出していかなければならない。我々一人一人の未来を切り開く努力に、基礎老化研究の存続と発展がかかっている。

3. 私見・基礎老化研究の未来

後藤佐多良

今日、取り上げたい問題は、老化のメカニズムと社会との関わりの問題である（図1）。基礎老化研究の目的は、生物学的老化の仕組みを明らかにし、ヒトの健康長寿の実現のために科学的な知見を提供することである。

基礎老化研究のために用いられる実験動物および細胞は多様である。それぞれの動物や細胞モデルにおける老化や寿命の定義は異なっている。それらがどのように関連しているのかを考える必要がある。たとえば、ゾウリムシのクローンエイジは分裂回数によって計測される。酵母の寿命は出芽回数によって、ヒトの血管内皮細胞の寿命は集団倍加数によって表される。ヒトや線虫などの生存曲線とは中身が異なる。しかし、どこかに共通点があるかもしれない。言い換えれば、進化生物学的にみれば、出芽酵母とヒトには大きな隔たりがあるが、老化は、共通のメカニズムとして保存されてきたかということが、重要な問題である。基礎老化学には、様々な研究対象を含むが、常に考慮にいれるべきことは進化生物学的視点である。

鳥類は、マウスやラットと類似した体重（体のサイズ）だが、酸素消費量は非常に高い。これにも関わらず、鳥類の活性酸素の発生量は少なく、寿命はげっ歯類の10倍ほど長い。鳥類の特殊性は世界的にみても研究されておらず、今後重要な研究テーマに成り得る。

1 老化のメカニズムに関する問題

- ・モデル生物（動物）
- ・Pathology
- ・Gerontogene: 遺伝と環境、そして偶然（確率）

2 社会とのかかわり

- ・Anti-aging Medicine の社会的流行とどう向き合うか

図1. 基礎老化研究（Biomedical Gerontology）の課題

基礎老化研究における病理学的視点は重要である。実験的介入により動物が長寿になったという報告でも、病理のデータが示されることはない。筋萎縮(Sarcopenia)は広範囲な動物種において共通におこる病理学的变化である。加齢とともに脳の病理は、従来から注目されているが、筋肉にも著明な变化があり、この共通な生物疾患の存在とそのメカニズムには着目する必要がある。

Gerontogeneは老化のメカニズムの理解に関して興味深い。老化遺伝子あるいは寿命遺伝子という言葉がよく使われるが、本来、老化遺伝子とは、それがあると老化が進行するという意味で使われるものである。それを失くすと老化が抑制され、寿命が延長することになる。線虫のdaf-2はそのひとつかもしれないが、老化遺伝子の存在は不明である。

最近、遺伝と関連して環境と確率の問題が注目されている。双子の研究などから寿命に対する遺伝の寄与率は25-30%程度であることが示唆されている。遺伝子の配列が全く同じであるとみなせる一卵性双生児の最近の研究では、DNAのメチル化などのエピジェネティックな変化が高齢期の双子では大きな差となっていることが示された。遺伝子的に同一な線虫などの実験動物でも、飼育条件を同一にしても、寿命にはらつきがある。実験的にコントロールできない偶然(確率のこと)が関わっていることを考えることが重要と思われる。

基礎老化研究者が社会とのかかわりの中で避けて通れない問題は、Anti-aging medicineの流行に対する姿勢である。雑誌CellにAging therapiesという論文が掲載された。Therapiesとは治療であるから老化を病気とみなしている。このような立場でアンチエイジング研究に取り組むことが国際的な科学雑誌であるCellに掲載される時代となっている。米国のNIAでも4年前からInterventions testing programとしてヒトにおける抗老化作用を調べる研究予算を組んでいる。米国にはカロリー制限協会というヒトにカロリー制限を行う(自発的に参加する)団体もある。また、「若返り商品ブームの現実(日経サイエンス)」という記事が示すように、老化防止薬の効果に関する議論は活発である。抗加齢学会は会員数が4000名と急速に会員を増やしてきた。このような現実の中で、我々基礎老化学会会員は科学的研究を行いつつ、このような領域の人々あるいは団体に適切なアドバイスあるいは方向性を示すことが重要である。

厚生労働省のデータに基づくと65歳の日本人女性の癌、心疾患、脳血管疾患がなくなると仮定しても、平均余命は7年弱しか延びない。科学的データもなく話題を提供するだけであるが、これに対して生物学的老化を減速させることができれば、ヒトの寿命は122歳まで可能になるかもしれない。

4. リソースとしての混沌

丸山 直記

老化研究は複雑で混沌としており、大変難しい領域ではあるが、その研究が他領域において多大な貢献をした例を挙げ、若い研究者へのメッセージとしたい。

演者が以前に関わっていた免疫学の領域では、感染症への抵抗性獲得や抗体反応、細胞性免疫は生理学的で合目的な現象であるが、病的な場合として、自己免疫病、アレルギーなどが存在することが知られている。免疫系のシステムを解析する場合、生理学的および病理学的アプローチが可能である。すなわち生理学的(正常)な免疫系のシステムを解析することは、一つの学問体系となっている。しかし、老化学は、若年時の状態を基準として老年を考えるという意味において、免疫学のような学問体系とは異なっていることが特徴である。そして生理学的な免疫システムが理解されれば、自己免疫病のメカニズムはすぐにわかると考えられていた。T細胞受容体や免疫グロブリンの多様性の問題は解明されてきたが、自己免疫病の発症メカニズムは未だに複雑で混沌としている。しかし、この混沌から多くの学問的貢献が派生している。演者の周囲でも小池隆夫(北大内科)による自己免疫病における抗DNA抗体の研究から、抗カルジオリピン自己抗体とそのコファクターとしてのbeta 2-glycoproteinの複合体が血液凝固能に影響を与えることが示され、抗リノ脂質抗体症候群と言う疾患概念につながった。その後、共同研究者の松浦栄次(岡山大)はさらにbeta 2-glycoproteinが酸化LDLに結合し、動脈硬化の進展に関与していることを示した。このように、自己免疫病の研究が新しい疾患概念、あるいは他の研究領域に新たな知見をもたらした。

演者自身も自己免疫病モデル動物であるニュージーランドマウスの腎炎の解析から、内在性レトロウイルス抗原とそれに対する抗体が免疫複合体を形成し複合物が原因となることを示した。他グループの研究からこのマウスにはすでにXenotropic virusとその感染を中和する物質の存在が報告されていた。この研究は自己免疫病の解析が他領域に貢献した例と考えられる。

演者は老化学もそのような貢献をしていると考えている。免疫学の世界では、T細胞のサブセットは様々な疾患の発症原因を考える上で重要な役割を果たしている。このT細胞のサブセットの存在は、実は老齢マウスのリンパ球の解析によって1970年にCantor Hによって報告された。一方、癌研究の領域で重要な分子として認識されているp21系統の蛋白質は、増殖抑制が生じた老化細胞から見つかってきた。この2つの例は、老化研究という非常に混沌として扱いづらい領域からでてきた成果が他の学問領域に役立っている例である。

以上のように、若齢と老齢との比較を通して行う研究は、非常に困難ではあるが、社会の期待は大きく、老化研究が他の研究領域にも大きく貢献すると考えている。

図2は吉川らの著書(産業化学技術の哲学)から引用

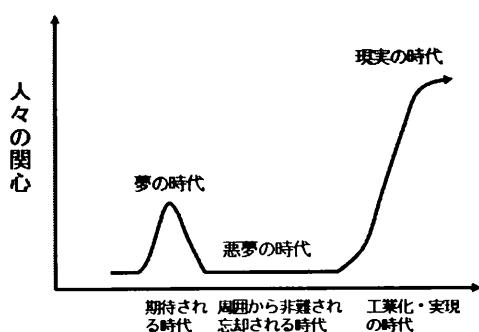


図2. 研究の夢・悪夢・現実の時代（産業科学技術の哲学、吉川弘之、内藤耕著（東京大学出版会）より引用）

である。この図は実際に液晶が開発され、薄い壁掛けテレビに実用化されるまでの世間の期待を示している。液晶によって壁掛けテレビが将来、実用化すると考えられたが（夢の時代）、しかし当時は作ることができても高額で実用的ではなかったのである。コストダウンするための期間が必要であり（悪夢の時代）、現在の家電店に並ぶ時代（現実の時代）に至っている。研究上の新たな発見が実用化されるためには、長い悪夢のような期間が必要である。老化研究は混沌として扱いづらく長い悪夢の時代も耐えなければならない。しかし、その中から、老化ばかりではなく他の学問領域に有用な貢献がなされるという意味で「リソースとしての混沌」と題した。

5. SAM系統マウスが教えてくれること

細川 昌則

SAM系統マウスは、1975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された一群の関連近交系マウスである。この実験動物を使った老化研究から学んだことを話題とする。

老化促進と早老は異なる。それぞれ「正常老化」（と考えられる）過程に対する相対的な老化過程である。老化生存率のGompertz関数の傾きとその位置がこの二つの老化の特性を示す。傾きが急であることが老化促進であり、その位置が左にあるほうが早老である。SAM PマウスはこのGompertz関数の傾きが対照群（S A M R）に比べ、急峻である。

老化を促進させるメカニズムは何であろうか。それは「老化」のメカニズムと同じであろうか。老化の促進と早老のメカニズムの相違は何であろうか。これらの答えはある程度想像できるが、まだ明確ではない。

老年性疾患は概念的にAging-dependent disordersとAge-related disordersの2種類に分けられると考える。Aging-dependent disordersは細胞の加齢による退行性変性を基本とする疾患であるから、老化に密接に関係したものであって、老化のメカニズムが理解できなければ、このような疾患は制御できないだろう。また、加齢にともなう臓器の機能や構造の変化に連続性があるとすれば、

老化にともなう生理学的变化と病気を区別することは難しい。

基礎老化研究には3つのアプローチの方法がある。老年性疾患の研究、加齢にともなう経時的变化の解析、および老化と老年性疾患への介入である。いずれの3つのアプローチによっても、老化の基本事項を知ることができるを考える。

老化と老年性疾患への介入によるアプローチとして、効果の作用点の解析と作用のメカニズムの解明が重要である。この場合、2つの（例えば介入する方法の作用機序、介入される側の機構）どちらか一方がわかっていることが必要で、わからないものにわからないものを作らせんでは、何もわらないことになる。ただ、中身がわからなくても、再現性が非常に高い実験系の場合、ものは使い方次第である。

老年性疾患のほとんどは多遺伝子性疾患である。このような疾患でも、最近の分子遺伝学の実験技術の進歩、例えばDNAマーカーやQTL解析によって遺伝子そのものを触れるようにアプローチできるようになってきた。このような解析の中で重要な点は、切れ味のよい形質とそれを見る力である。形質をみる力は、そう簡単には得られず、研究の現場での不断の努力により培つてゆくしかないと思われる。

トランスジェニックやノックアウトマウスは非常に強力な研究ツールであるが、一方これをどれだけ寄せ集めても、自然発症モデル動物に取つて代わられるか疑問である。

以上のような問い合わせは、20年以上前にも持っていた（図3）。現在でも、未だ答えが出ていない。今後20年で何か答えができるであろうか。若い研究者の努力に期待したい。

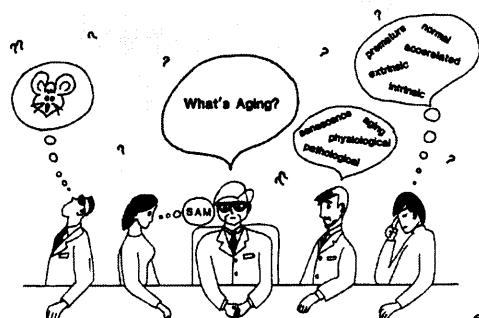


図3. 基本的な問い合わせ「老化とは何か？」

現在、演者は愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所で、心身障害の研究も行っている。発達障害研究所が進めている研究は、少子・超高齢社会に必要な生命科学、医療、支援工学、社会科学に貢献し、人々に生活を支援する技術と知識、さらにその「こころ」を育む。老化の研究と心身障害の研究は、Assistive technologyとかUniversal designという点からみて共通する部分が多い。従つて障害のある人のための研究により得られた成果が、超高齢社会にも適用できるであろう。この観点から、最

近のアンチエイジングの潮流においても、社会制度を変えていくことによって、高齢者が不便を感じずに生活を送ることができるようにすることも一つの方法だと考える。

最後に若い研究者にお願いしたいこと。多くの先達が考え続けてこられた事を受け継いで、常に老化とは何かを考え続けてほしい。

6. Research Activities at the National Institute for Longevity Sciences

田平 武

基礎老化研究の将来やあるべき姿という問い合わせに対し、国立長寿医療センター研究所（長寿研）がおこなっている研究内容を紹介することで答えとしたい。

長寿研は平成7年に国立療養所中部病院に設置され、平成16年にはナショナルセンターとして昇格し、現在の名称となり、13研究部42研究室に拡充された。研究所、動物実験施設、病院も併設しているという世界的にも希で大規模な老年病や老化の研究所、病院である。年間80億円の予算のうち病院の収益が40億、残りは国からの予算（つまり税金）であり、おのずと研究内容が国民の期待に応えているか、常にチェックされている。基礎老化学会はこの点（国民の期待に応えているか）に敏感でなければならないと思う。

ヒトはある時点から老化にともなって病気を起こし、早く死んでしまう。それを免れたヒトも老化は避けられず、老衰し死んでいく。できれば、この老齢病を無くしていきたいが、すぐにはできず、現在いる高齢者に対してできる研究を要請される。よって、機能低下に対して機能をあげる研究、介護や機能強化の仕方など、いろいろな領域で研究を行っている。しかし、Regulation of agingをHealthy agingにもっていく研究もある（図4）。

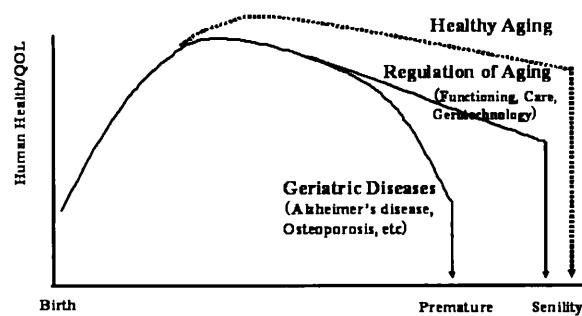


図4. Human Health/QOL and Physiological and Pathological Aging

できれば、老化速度を遅くして、老化のメカニズムを解明し、Healthy agingを獲得して、寿命の限界まで生き、世を去ることが理想である。よって、長寿研では基礎老化研究も行っているが、ウエイトとしては、国民の期待があつて、老年性疾患の研究が前面にでてきていている。

政府や社会制度はどのように国民の期待に応えようとしているのか。年齢階級別死因をみると、高齢者では肺炎と老衰が多い。癌や心臓病、血管障害は高齢者の死因としてあまり重要ではない（中高年では重要で、がんセンターや循環器病センターができた）。よって老化とともに起こる免疫機能の低下や嚥下障害の研究が重要となってくる。

もうひとつ重要な点は、どの部分に費用がかかるかということである。寝たきりの人や虚弱者は増加しつつある。高齢者の年金、医療費、介護費用を合わせると2025年には90兆円になることが推測されている。これを抑制するための小手先の制度には限界があり、厚生労働省は老化のメカニズムを研究して、ある程度制御できる方法を開発することを長寿研には要望している。

老化機構研究部では、老化による免疫機能の低下とメカニズムを中心に研究している。老化制御研究部では、Foxo1の機能を含めた様々な研究を行っている。長期縦断疫学研究室では、一定の地域住民を無作為に抽出し、老化と関連したファクター、老年病と関連したファクターを見出している。これら3つが長寿研における基礎老化学的な研究である。後は、ほとんど疾病研究として脳の画像やアルツハイマー病の研究、血管性認知症の研究、運動器疾患の研究、再生再建医学がある。Sarcopeniaやそのほかの老年病、口腔疾患、社会医学的研究も行われている。加齢動物の育成、遺伝子操作によるモデル動物の開発も行われている。

認知症の60%はアルツハイマー病である。アルツハイマー病は、加齢の究極の姿ではないが、加齢が関係した疾患ではある。ペータアミロイドによって神経突起が変性を起こすことがわかっているが、我々が開発した経口アミロイドワクチンによって実験動物レベルではそれが予防できる。この方法が実用化できれば、アルツハイマー病を予防でき、社会や医療に大きく貢献すると考える。しかしながら、我々は、さらに基礎的なメカニズムを解明し、より安全で安価で新しい方法でコントロールすることを目指している。そのためには基礎老化研究者と協同しなければならないと考えている。

骨粗鬆症も類似した状況である。骨粗鬆症は加齢にともない増加していくが、これにはすでにbisphosphonateという薬がある。これによって高齢者の骨折が50%減少した。この薬剤は破骨細胞を選択的に細胞死に陥らせるが、その後の骨芽細胞の機能を増強はしない。骨芽細胞を刺激するCoupling factorが別にあり、現在この研究が進んでいる。

基礎研究を通して、老化や老齢病をコントロールするよい方法が見つかっていくと考えられるので、我々は病気をターゲットとして進み、基礎老化研究と情報交換をしながら進んでいくことが重要であると思う。

7. 基礎研究と予防医学の架け橋を目指して

樋口 京一

基礎老化研究と予防医学の架け橋になるような、松本市熟年体育大学を基盤とした研究を紹介する。

臨床老化研究は、健康長寿の実現という社会的要件とともに、生活習慣病の予防、介護予防、鬱の予防、医療費の削減などだが、それにはヒトを使った研究の場と実践の場が必要である。信州大学では、特に運動に関して実践の場を設け、基礎研究者が研究を提案し、結果をみる。このようなところにも基礎老化研究の未来があると思う。

松本市熟年体育大学では、参加者個人の最大運動能力を測定し、それに応じて個々に設定された運動を参加者が行う。e-ヘルスプロモーションシステムというインターネット経由で各自がデータを送信し、改善点が提示されるシステムを用いている。これによって、例えば体脂肪率は、平均より高いヒトは著明に低下し、平均的なヒトはやや低下し、低い人は逆にやや上昇するという結果を得た。結局、運動の効果は、一律な効果ではなく、人間にとって正常な方向へ働く効果があることがわかった。最高血圧や筋力も類似した変化を示した。

運動と低カロリー食との関係も検討している。食事指導は、BMIや最高血圧が下がるばかりではなく、医療費の削減にも効果があることが示唆された。

以上のような試みは、以下の3つの組織の密接な連携による(図5)。地方自治体や企業が支援する熟年大学リサーチセンターが健康処方の実践と研究フィールドを提供する。信州大学医学研究科加齢適応医科学系は、運動による健康改善のメカニズムの解明、老化、生活習慣病のメカニズム解明による予防法の提案を行う。信州大学先端予防医療センターが臨床データと先端人間ドックからえられる個人情報を集積し、データベースを構築する。



図5. 熟年体育大学が提示する「基礎老化研究の未来」

結局、基礎老化側から臨床側へドアを開いていかないと、予防医療はうまくいかないし、臨床側からはよい提案が出てこない。特に基礎研究側から、誰でも実施できる簡単で効果的な方法を提案し、できれば、将来、多方面に働きかけ、予防医療の画期的な手法を作りたいと考えている。

8. 討論

三井 洋司 (徳島文理大学香川薬学部)

今回のパネルディスカッションでは、生物になぜ寿命があるのか、あるいは進化的な理由は何か、そのようなことに絞って、寿命にかかわる遺伝子を見つけていくという視点が少なかったように思う。このような戦略が基礎老化の未来を開くことになると思う。それにせまる仮説や提案がなかったことが少し心配である。現在、我々が直面しているのは、発達期には重要であるが、成熟期以降、生物にとって有害となる遺伝子の発見である。このような遺伝子は、野生の状態では、ほとんど問題にはならなかった。このような遺伝子の発見をコンディショナルノックアウトのような手法でつぶしてしまえば、寿命は延びると思われる。

Hae-Yong Chung (韓国プサン大学薬学部)

老化は全体としてみることが重要である。一つの要素だけではなく、複数の結果を統合することが必要である。それには、老化モデル、DNA chipなどの網羅的なデータ、アンチエイジングパラダイムとしてのカロリー制限などから得られた結果やそれを統合するバイオインフォーマティクス的アプローチが必要である。これによって、基礎老化研究は効率化される。

参加者 (氏名等聞き取れず)

動物の寿命は、種によって遺伝子的に決まっているので、ヒトの老化を研究する場合、正常な寿命を持つヒトの研究のためのリソースが重要である。

「基礎老化研究は今後どのよう方向へ行くべきか」という司会の問いかけに対して、

細川 昌則

基礎老化研究は、その基本的な部分、つまり「老化とは何か」について先輩の方々の時代から議論されてきた。答えは出ないかもしれないが、常に、その基本的な部分を議論してほしい。結果だけが大事というわけではなく。

丸山 直記

老化と老年病を混同している部分があるので、ある程度区別する必要がある。外国の老化に関する会議では、細胞老化が大きな部分を占めておりが、私自身は違和感がある。しかし、日本の基礎老化学会は、多様な研究リソースをぶつけ合って議論し、老化ばかりではなく、他学問領域に影響を与えるようになれば、基礎老化学会の重要性は増していくと思う。

後藤佐多良

老年病や老化関連病態では、いつもエイジが一番大きなファクターだと言われる。このバイオロジカルなエイジングが常にこれらの病態に存在する。ヒトや臨床に応用する場合、このことを我々が常に意識し、研究を行うことが重要と考える。

田平 武

三井先生が話された長寿遺伝子については、触れなかつたが、40億円の税金を使う場合、政府や国民が期待することに応えようすると長寿研は前述のような研究が主体になる。

樋口京一

基礎老化でた研究をヒトへ応用する試みを始めているが、ヒトを扱うとバリエーションが大きく、理論どおりではない。個人差や環境による影響があり、理論から離れていくが、現実味は大きくなり、効果が目に見えて

くる。このような試みも重要ではないか。

9. おわりに

下川 功

各パネリストや発言者の内容を改めて聞き返し、それをまとめると、当日は気づかなかったことや忘れててしまっていることが多いことに驚く。企画の段階で、「基礎老化研究の未来」のような概念的なディスカッションが若い研究者や大学院生に興味を持って聞いてもらえるか不安であった。今もその不安は変わらないが、このような企画は、形は変えるとしても、繰り返すことが重要であると思う。若い研究者ばかりではなく、自分自身の研究の方向性を確認するために必要であると思う。内容については、パネリスト、発言者に確認していただいたが、誤解や不適切な部分があれば、それは、筆者の責任である。パネリスト、司会の役割を担ってくださった先生方、参加していただいた皆様に感謝したい。

【隨 筆】

基礎老化研究あれこれ（9）

百寿者の持つ「心の強さ」の秘密を探る

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

100歳まで幸せに生活を送る長寿者は、「くよくよしない」性格の方がほとんどです。高齢者をめぐる様々なストレスを克服する心の強さには、どんな秘密があるのでしょうか？

「過去の嫌な出来事にくよくよしない」が長寿の秘訣
昔の嫌な出来事にくよくよしないことが長生きの秘訣とはよく聞く話です。脳の中で短期記憶を司るのが、海馬といわれる部分です。脳の神経細胞はこれまで、大人になつたら分裂や増殖はしないと考えられてきました。しかし、分裂細胞を標識する技術が開発され、成長した後にも新たに脳の中に新たな神経細胞が誕生を続けていくことがわかりました。米国プリンストン大学のフェング博士らの研究グループは、海馬で増えた神経細胞が古い不必要的記憶を消すに一役買っている可能性を示唆しています。同研究グループはアルツハイマー病の発症メカニズムを解明するため原因遺伝子の一つである「プレセニリン遺伝子」の働きを研究していました。研究グループは遺伝子操作によりこの遺伝子を破壊してアルツハイマー病の様に記憶を保てないようにしたマウスを作ったのですが、マウスの行動を詳細に観察した結果、意外にも嫌な記憶を忘れるメカニズムに関して重要な発見をしたのです。マウスは遺伝子破壊により、海馬で神経細胞を新たに再生する力が衰えていました。このマウスを床に電流が流れている飼育箱の中で飼育しますと、その後に電流の流れない飼育箱に移しても、以前の飼育箱での嫌な記憶が忘れられないのか、新しい箱になかなか入ろうとしませんでした。遺伝子操作をしていないマウスで同様の実験をしますと、すぐに新しい飼育箱になれました。この実験結果から、動物が新しい環境に適応するためには、古い記憶を消去することが重要らしいとわかつてきました。つまり、記憶を司る海馬では、新たに誕生した神経細胞によって新しい記憶を一時的に蓄積して、過去の記憶のうち残すべき記憶と不要で消去すべきおくを選別しているらしいのです。

100歳まで生きた百寿者といわれる長生きのスーパー・エリートには、くよくよ考えない楽天的な人が多いことが調査でわかりました。その前向きな性格で、いくつもの人生のハードルを乗り越えてきたのです。こうした長寿の人たちは、脳の中でどんどん神経細胞を再生させて、嫌なことを忘れているのかも知れません。

打たれ強い体質に関わる神経伝達物質「セロトニン」

長寿の秘訣、「くよくよしない性格」には親からの遺伝は関係しているのでしょうか？「打たれ強さは父親譲り」という人は、おそらくその精神的強さを遺伝子として父親から受け継いだに違いありません。離婚、仕事の解雇、大病、経済的苦境。いずれもおおきなライフストレスになるとともに、うつ病発症の原因となります。しかし、同じ程度のライフストレスを受けても、打たれ強い人もいれば、逆にそれが精神的トラウマとなって後々まで尾を引いてしまう人もいます。

ロンドン王立大学のモフィティ博士らの研究チームは、ストレスに打たれ強い体質を遺伝子レベルで解明することを目的とし、1037人の26歳白人男女を対象に調査を行いました。雇用、経済、住居、健康、人間関係など14項目のストレス体験とうつ状態について調査を行ったところ、回答が得られた847人のうち30%の男女は一度もストレスのない生活を送っていることがわかりました。また、これまでのストレス体験が1回だった人は25%、2回は20%、3回は10%、4回以上は15%でした。

さらに遺伝子解析を行ったところ、人間の気分や、ときには攻撃性を支配している神経伝達物質「セロトニン」の作用が、このストレス体験の回数に関わっていることがわかりました。例えば小児期に虐待体験がある人の場合、セロトニン作用が強いほど、虐待に対して打たれ強い傾向があることが遺伝子レベルで示されたのです。

長寿の人はよく、ストレスに打ち勝つ力を内在しているといわれています。人生、長ければそれだけライフストレスを体験するチャンスも増えてくるでしょう。東京都老人総合研究所の権藤博士らは、百寿者を対象にセロトニンのトランスポーターの遺伝子解析を行い、百寿者がライフストレスに打たれ強い傾向を示唆しています。

これらの調査結果をみると、くよくよせずに前向きに生きる処世術に関しても、分子レベルで語られる時代が訪れるかもしれません。親譲りの「くよくよする性格」や「打たれ強い性格」が、実は親から遺伝した特定の遺伝子にその秘密がありそうだという事がおぼろげながら見えてきました。

心の葛藤をいかに克服するか？「家族の大切さ」が大切
厚生労働省の発表によると、日本における高齢者の自殺が最近増加しているようです。加速する少子高齢化傾向や日本経済の低迷などで、高齢者の生活と健康をささ

えきれないのではないかという不安が自殺率を増加させる原因になっているかも知れません。

このような高齢者の不安心理は、一人暮らしの場合に顕著に見えます。コミュニティーセンターや地域での様々な活動は、こうした一人暮らしの高齢者の孤独を緩和するための役割を果たしています。しかし、家族の中にぎやかに過ごす高齢者と、一人暮らしの高齢者の間には、そのような活動では埋めきれないギャップがあることは明白です。

日本で自殺率が急上昇した背景には、家族のあり方、経済的背景、高齢者独特の尊厳の問題が確かに存在しているようです。しかし、沈みがちな高齢者に、診断が困難なタイプのうつ病が隠れている可能性も忘れてはなりません。

世界で200万人以上の人人が服用したといわれるプロザックは、脳内のセロトニン濃度を高めることにより、

うつ病を改善すると報告されています。セロトニンは脳の中にあり、動物の不安や攻撃性に関与していると考えられている神経伝達物質です。プロザックが大量に投与された米国のある地方都市では、一時的に抑うつの発症頻度が低下した一方で、犯罪率の上昇傾向も認められたと報告されています。神経活動を支配している神経伝達物質「セロトニン」は人間の「攻撃性」と「抑うつ」の両面性を制御しているのかもしれません。

今後、感情を支配する脳内の分子のメカニズムが解明されれば、薬の力を借りて高齢期の心の葛藤を乗り切れる時代が訪れるかもしれません。しかし、遺伝子的にヒトの「打たれ強さ」の仕組みが解明され、またどんなすばらしい薬が開発されたとしても、これまでの日本の社会の中で実践してきたように、高齢者にとって家族の役割が重要であることは変わらないでしょう。

【施設紹介】

徳島文理大学 香川薬学研究棟

三井 洋司

徳島文理大学 香川薬学部

あたりは穏やかな瀬戸内の海と島々に囲まれて、静かに時が過ぎる。トンビが気流に乗って舞い滑る。ここ四国は香川のさぬき市にある小高い丘に広がる徳島文理大学、その香川薬学部研究棟6階、教授室の窓辺から見渡し、ホッとコーヒーをすする。



図1. 教授室から、五剣山、屋島方面を観る

徳島市に35年の伝統がある薬学部を持つ同大学の香川キャンパスに、新たに6年制薬剤師教育を見据えた香川薬学部が新設された。



図2. 左が薬学研究棟と実習棟、右が国際会議場

最新且つ最高機能の研究機器、設備を揃えたうえ、臨床薬学への実習施設を次々と整備している。国公立の大학や研究所になじんだ筆者には、その思い切った資金投入と施設の充実には、感嘆するばかりである。学長は、本年4月から勝沼信彦教授に代わって東大の副学長を勤めていた桐野豊教授が赴任した。香川薬学部は18の研究講座と神経科学研究所という構成で今なお赴任してくれる教員がいて、まさに日々新しい雰囲気である。基礎老化学会と関わる研究内容としては、私の生理化学講座で、ヒト正常細胞の不死化と移植、及び癌化の研究、薬理学講座で、酸化ストレスの生体内役割の研究、分子生物学講座で、DNAの酸化傷害と修復、およびES細胞の分化の研究、その他、骨粗鬆の制御や、神経疾患の原因解明さらに、学習・記憶の機序と老化の機序の研究など、目白押しだ。

老年性疾患とその薬物作用の特徴に関する授業も、最近の薬剤師教育には、必須と成るであろう。

長い間、研究機関を中心に活動して来た筆者にとって、未だ純真な若い学生に知識の体系を伝え、進路を応援する事は、少なからず新鮮な喜びと成っている。



図3. 若い研究スタッフと講座配属の学生たち

勿論、研究の遅々たる進みや、国家試験合格率へのプレッシャー等、今までにないストレスもある。これが、健康寿命を適切に延ばしてくれる「マイルドストレス」にってくれる事を切に願うところである。大学院進学や、ポスドク、助手等のポジションを狙う方は、早めに、コンタクト願いたい。

因に、地図上の屋島は、平家が一の谷合戦の頃、安徳天皇を奉じて源氏と戦った拠点であり、那須与一が馬上から扇の要を弓で撃ち落とした場所でもあるそうだ。よく晴れた春の夕べには、瀬戸内海で潮の渦を見やり、島々の影からさす夕日の広がりを眺め、さわやかな風に顎を打たせながら、サイエンスと歴史の議論で口角泡を、ビールの泡とともにとばしまくるのは如何だろう。

大きな船のクルーザーを用意して、皆さんをお待ちしたい。



図4. JR高松駅は岡山から1時間、高松空港から大学まで1時間

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4号
平成18年（2006）10月31日

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

編 集 編集委員会

印 刷 所 三陽工業株式会社

基礎老化学会サーキュラー 第72号

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

2006年10月31日 発行

平成18年度日本基礎老化学会

理事会・評議員会・総会報告資料	1
E-mail登録のお願い	3
事務局より	3
会員異動	3

平成18年度日本基礎老化学会理事会・評議員会・総会報告資料

日本基礎老化学会 平成17年度（2005年度）決算 (平成17年4月1日 - 平成18年3月31日)

単位：円

収入	予算	決算	増減
会員費	2,980,000	2,393,000	-587,000
正会員費	2,100,000	1,868,000	-232,000
学生会員費	80,000	75,000	-5,000
賛助会員費	800,000	450,000	-350,000
広告料	30,000	0	-30,000
会誌頒布	70,000	82,000	12,000
寄付金	0	3,000	3,000
雑収入	25,000	118,521	93,521
当期収入合計	3,105,000	2,596,521	-508,479
前年度繰越金	1,098,621	1,098,621	
収入合計	4,203,621	3,695,142	-508,479

支出	予算	決算	増減
印刷・発送費	1,700,000	1,644,415	55,585
シンポジウム費用	300,000	300,000	0
理事会経費	200,000	229,306	-29,306
日本老年学会分担金	100,000	100,000	0
庶務経費	500,000	441,526	58,474
奨励賞	90,000	90,000	0
国際交流費	300,000	256,020	43,980
当期支出合計	3,190,000	3,061,267	128,733
収入合計 - 当期支出合計 = 次年度繰越金			633,875
$3,695,142 - 3,061,267 = 633,875$			

日本基礎老化学会
平成18年度（2006年度）予算案
(平成18年4月1日　－　平成19年3月31日)

単位：円

收 入	増 減
会 費	2,780,000
正 会 員 費	2,100,000
学 生 会 員 費	80,000
贊 助 会 員 費	600,000
広 告 料	30,000
会 誌 頒 布	70,000
寄 付 金	0
雜 収 入	25,000
当 期 収 入 合 計	2,905,000
前 年 度 繰 越 金	633,875
收 入 合 計	3,538,875

支 出	増 減
印 刷 ・ 発 送 費	1,700,000
シ ン ポ ジ ウ ム 費 用	300,000
理 事 会 経 費	200,000
日 本 老 年 学 会 分 担 金	100,000
庶 務 経 費	500,000
獎 励 賞	90,000
国 際 交 流 費	0
当 期 支 出 合 計	2,890,000
次 年 度 繰 越 金	648,875
支 出 合 計	3,538,875

【E-mail登録のお願い】

メールアドレス登録のお済みでない、あるいは変更された会員の皆様は、アドレスを下記宛にE-mailでお送りください。また、お持ちでない皆様は事務局までご連絡ください。ご協力よろしくお願い申し上げます

【事務局より】

日本基礎老学会事務局のメールアドレスが変更となりました。ご注意ください。今後は下記宛てにメールをお送りくださいますよう、よろしくお願いします。

jsbg2006@tmig.or.jp

日本基礎老学会ホームページは更新しています。最新情報が満載です。是非ご覧ください。また、ご意見・ご希望がございましたら、学会事務局までお願いします。

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

入退会、住所変更、会費等についての手続きは、学会事務局へお願いします。また、お問い合わせ等も下記にメール、郵便、Faxでお送りください。

〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2 東京都老人総合研究所内

E-mail : jsbg2006@tmig.or.jp Fax : 03-3579-4776

日本基礎老学会事務局

庶務幹事 新海 正

【会員異動】

平成18年8月15日～平成18年10月2日

(入会者)

氏名	所属	〒	住所
前原佳代子	久留米大学分子生命科学研究所 細胞工学部門	839-0864	久留米市百年公園1番1号
福 典之	東京都老人総合研究所 健康長寿ゲノム探索チーム	173-0015	板橋区栄町35-2

(退会者)

荻野 友義

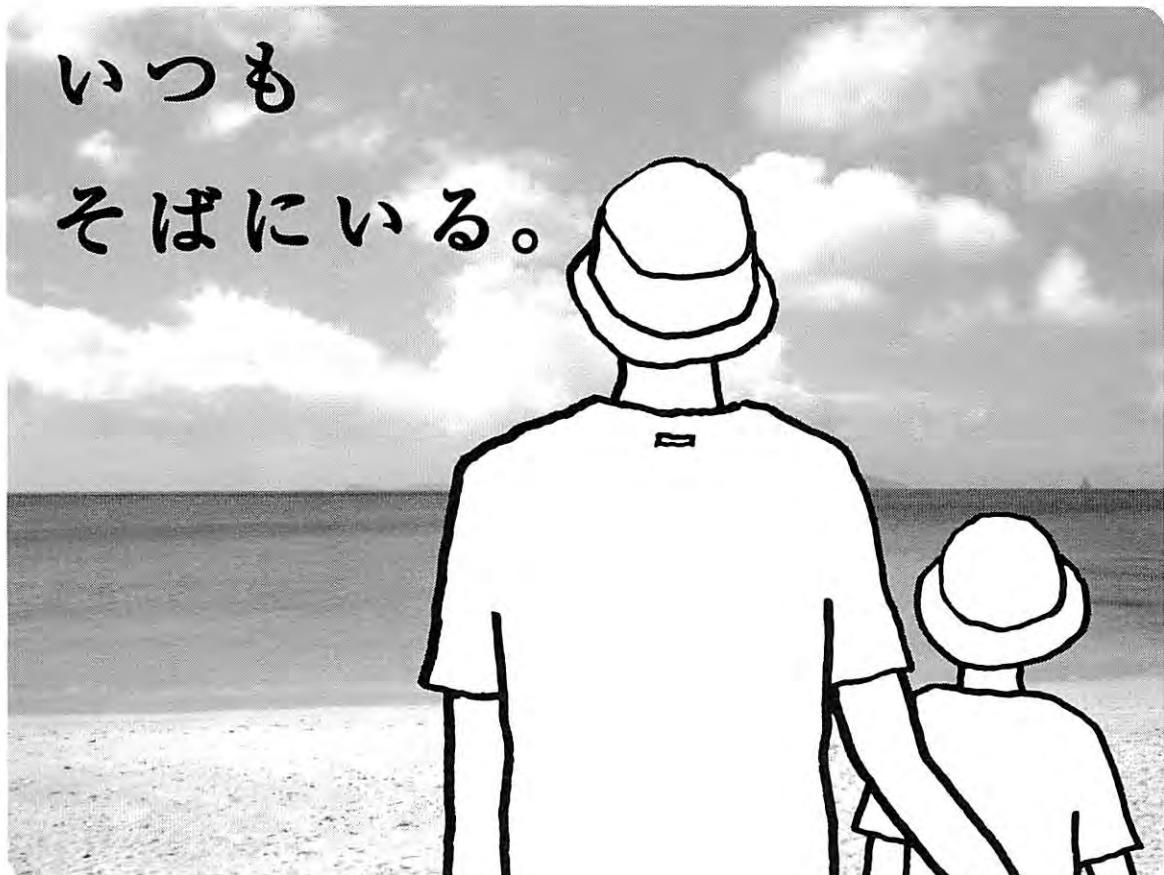
基礎老学会サークル 第72号

2006年10月31日 発行
日本基礎老学会

編集委員 内田 洋子(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

いつもの
安心のために、
いつも
そばにいる。



化粧品による肌のトラブルをなくしたい。そんな想いから無添加化粧品を生みだしたファンケル。以来、サプリメントや発芽米、青汁などさまざまな商品とサービスを、安心、安全、やさしさの視点から提案しつづけています。

あなたを想うサイエンス。

FANCL

株式会社ファンケル 〒231-8528 横浜市中区山下町89-1 <http://www.fancl.co.jp/> ☎ 0120-34-2222

 (社)日本通信販売協会会員 通信販売業界を代表する唯一の公益法人。広告適正化、アフターケア徹底等をめざし、昭和58年に設立。