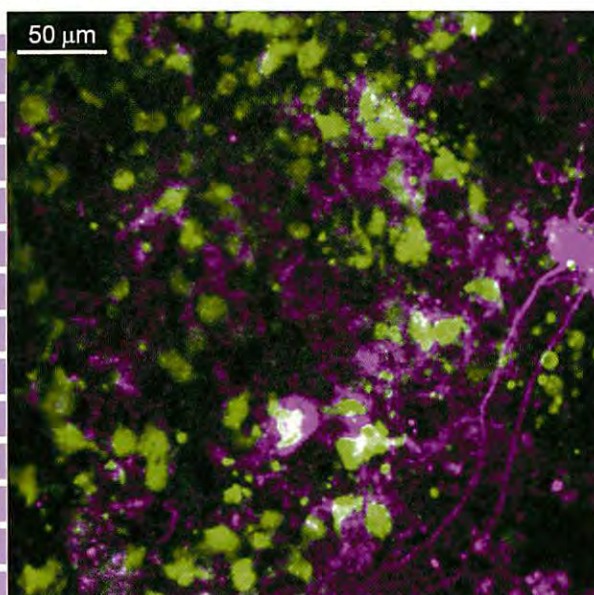


# BIOMEDICAL GERONTOLOGY

## 基礎老化研究

### 第31回日本基礎老化学会シンポジウム(プログラム・発表抄録)

- 新旧理事長挨拶 ■ 任期を終了して 丸山 直記
- 新旧理事長挨拶 ■ 新理事長挨拶 石井 直明
- 総説 ■ ファイトケミカルと細胞シグナル伝達—ホルミシス、ゼノホルミシス仮説からみた考察  
伊藤 雅史、野澤 義則
- トピックス ■ 多光子顕微鏡による生体組織の多色ライブイメージング  
岡田 峰陽
- トピックス ■ Neuropeptide Yによる代謝制御と抗老化作用—ヒトへの応用に向けたCR模倣物開発の標的探索—  
千葉 卓哉、下川 功
- トピックス ■ DNA損傷誘導性アポトーシスにおけるCHK1の限定分解によるアポトーシスシグナル制御  
沖田 直之、吉村 美幸、渡辺 和史、坂上 徹、近江 恵理、田沼 靖一、樋上 賀一
- 学会報告 ■ 国際基礎老化学会(International Association of Biomedical Gerontology, IABG):歴史と個人的感想、および第13回IABG会議の報告  
後藤佐多良
- 学会報告 ■ 第32回日本基礎老化学会を終えて  
石井 直明
- 随筆 ● 老化研究事始め—低カロリーで霊長類の寿命延長 三井 洋司
- 研究室紹介 ● 東京大学医学部附属病院22世紀医療センター 抗加齢医学講座 井上 聡
- 附 ● 基礎老化学会サーキュラー 第83号



- 編集委員会委員長: 重本 和宏 東京都健康長寿医療センター研究所 老年病研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 編集委員会幹事: 堀田 晴美 東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 編集委員会委員: 三浦 ゆり 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 内田 さえ 東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 清水 孝彦 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 福 典之 東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム  
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
- 島田 厚良 愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部  
〒480-0392 愛知県春日井市神屋町713-8
- 

- Editor-in Chief: Kazuhiro Shigemoto, Research Team for Geriatric Medicine,  
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Managing Editor: Harumi Hotta, Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo  
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Editors: Yuri Miura, Research Team for Mechanism of Aging, Tokyo  
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Sae Uchida, Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo  
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Takahiko Shimizu, Research Team for Mechanism of Aging, Tokyo  
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Noriyuki Fuku, Research Team for Functional Biogerontology, Tokyo  
Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku,  
Tokyo 173-0015, JAPAN
- Atsuyoshi Shimada, Institute for Developmental Research, Aichi Human  
Service Center, 713-8 Kamiya-cho, Kasugai, Aichi 480-0392, 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)、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、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、は公開される。
5. 総説、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)、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, 田久保海巻 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. トピックス 最近の話題性のある研究及び最近行った自身の研究の紹介。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。
4. 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。
5. 書評 最近出版された書籍の紹介。1,600字以内。
6. 随筆 長さは刷り上がり2頁(3,200字)以内。
7. その他

8. 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 (shirasawa@sirasawa-alc.net)

または、編集幹事: 堀田晴美 (hotta@tmig.or.jp)

## 目 次

新旧理事長挨拶	
任期を終了して 丸山 直記	1
新理事長挨拶 石井 直明	3
第31回日本基礎老化学会シンポジウム	
プログラム	5
発表抄録	6
総説	
ファイトケミカルと細胞シグナル伝達	
一ホルミシス、ゼノホルミシス仮説からみた考察 伊藤 雅史、野澤 義則	9-12
トピックス	
多光子顕微鏡による生体組織の多色ライブイメージング 岡田 峰陽	13-15
トピックス	
Neuropeptide Yによる代謝制御と抗老化作用—ヒトへの応用に向けたCR模倣物開発の標的探索—	
千葉 卓哉、下川 功	17-20
トピックス	
DNA損傷誘導性アポトーシスにおけるCHK1の限定分解によるアポトーシスシグナル制御	
沖田 直之、吉村 美幸、渡辺 和史、坂上 徹、近江 恵理、田沼 靖一、樋上 賀一	21-24
学会報告	
国際基礎老化学会(International Association of Biomedical Gerontology, IABG) :	
歴史と個人的感想、および第13回IABG会議の報告 後藤佐多良	25-27
学会報告	
第32回日本基礎老化学会を終えて 石井直明	29
随筆	
老化研究事始め—低カロリーで霊長類の寿命延長 三井洋司	31-32
研究室紹介	
東京大学医学部附属病院22世紀医療センター 抗加齢医学講座 井上 聡	33-34
附	
基礎老化学会サーキュラー 第83号	

---

## CONTENTS

### <REVIEW>

Phytochemicals and signal transduction-from the viewpoint of hormesis and xenohormesis hypotheses

Masafumi Ito and Yoshinori Nozawa

表紙：生きた脾臓組織における免疫応答中のGFP発現B細胞（緑）。詳しい説明は、14ページ（トピックス）を参照

【新旧理事長挨拶】

## 任期を終了して

丸山 直記

平成21年度より日本基礎老化学会会長（理事長）を石井直明先生に引き継ぎほっとしております。通常であれば「大過なく」と挨拶すべきところですが、小さな禍根が凝縮して大過の様相を呈しております。その一つは世間では老化の話題が溢れてはいますが、真の基礎的な研究を後押しする力には必ずしも充分になっていないことです。老化を克服する技術については関心が集まっても老化を解明する科学に対する関心の度合いのバランスがとれていないように感じています。また研究費についても実際に厚生労働省の長寿科学研究費の採択については基礎的研究を対象としないことが厚生労働省の担当者が明言されました。国の研究費の棲み分けを行うとことが理由でした。現代の高齢者の健康や医療を支えてきた技術的成果は基礎的な科学研究の積み重ねに、その起源があることを思うととても残念です。このような状況の打破は我々の研究の力をもって行わなければならないのですが、幅広い層への日常的な啓蒙も極めて重要であると考えています。私の任期中に以前からの課題であった「老化・老年病研究のための動物実験ガイドブック」の完成がありました。後藤佐多良先生や木谷健一先生の御提案から時間が経ちましたが内容の濃い良書ができたと自負しております。会員の皆様にも普及・宣伝をお願いする次第です。日本基礎老化学会はその成り立ちから東京都老人総合研究所（東京都健康長寿医療センター研究所）が様々な御世話をしなければなりませんので、今後も協力して行きたいと思う次第です。

【新旧理事長挨拶】

## 新理事長挨拶

石井 直明  
東海大学医学部

6月の横浜における大会で承認を受け、丸山直記先生の後任として学会理事長の大役を仰せつかりました。学会開設時から参加し、この学会で育てられましたのでとても光栄に存じます。ただ、鈴木撃之先生のとくと同様に丸山先生が1期のみで理事長の座を降りられました。理事の任期が足かせとなり優秀な理事長が1期で終わってしまうのは学会にとっても大きな損失ですので今後議論していきたいと思えます。本来でしたら理事長交代に伴って日本基礎老化学会事務局も東海大学医学部に移転すべきですが、私の研究室の力不足により、事務局は引き続き東京都老人総合研究所にお願い致しました。

昨今、老化の速度を制御することは可能という抗加齢医学やアンチエイジングの分野が世の中の注目を集めています。その根拠となっているのはカロリー制限や抗酸化であり、それらの多くは基礎老化研究者による分子遺伝学的な研究から来たものです。抗加齢医学やアンチエイジングの中にはまだまだ科学的な証拠に乏しいものが多く、基礎老化学会が得意とする基礎的な解析・研究が必要となっています。そのようなことから、基礎老化研究が社会に貢献できる重要な分野であることは間違いありません。しかしながらそのための基盤が今の日本基礎老化学会はまだ弱いように感じます。特に若い研究者の参加がここ数年で多少増えているとはいえ、各研究分野の層を厚くし、活発な議論をするためにはまだまだ会員数が足りません。社会に対して大きな影響力を持ち、経済的基盤を安定させるためにも若手を含めた会員数を増やすことが必要と思われれます。会員が学会発足当時に比べて減少している原因は基礎老化研究が下火になったからではありません。いまま海外では基礎老化研究は盛んですし、韓国基礎老化学会も日本基礎老化学会発足当時と同じような勢いがあります。日本基礎老化学会がなかなか大きくなれない原因の一つは、若手が積極的に参加して活発な議論を繰り広げていた雰囲気は薄れたからだと感じています。それは、それぞれの発表が生物の老化、特に人の生命現象にどのように関わってくるのかという位置付けが以前よりも不明瞭になり総合的な老化の討議がしにくくなったためではないかと思っています。内容は優れたものが多いのですから、少し発表の仕方を変えるだけで、議論をしやすくなると思います。若手会員を増やすには各会員が日本基礎老化学会のみならず、分子生物学会や病理学会など老化以外の学会でも積極的に発表していただきたいと思えます。私もそうですが、若いときに指導してくれる先生に誘われた学会が母学会になることが多いので、各自がおこなっている基礎老化研究の面白さを他の分野で広め、老化の研究室に若い人を集めて日本基礎老化学会に誘うようにしていただきたいと思えます。

老年学会に新たに日本老年看護学会が加わり、4年に一度開催されている国際老年学会やアジアオセアニア地域老年学会が2年に1度の開催に向けた議論がなされているようです。また東京大学では「高齢者社会総合研究機構」を今年から発足させ総合的な老化研究が始まります。国内外で老化研究が活発化する中で日本基礎老化学会が果たす役割は益々重要なものになっていきます。多少批判的な意見も述べさせていただきましたが、この学会を愛する故とお許しください。日本基礎老化学会のさらなる発展のために誠意を尽くして頑張りますので、皆様のご理解とご協力をお願いいたします。

※これまで日本基礎老化学会では学会会長という名前を使用していましたが、大会会長と混同されることが多く、また日本老年学会所属の他学会ではすべて理事長となっておりますので、今期から学会会長ではなく学会理事長という名前を使わせていただきます。

## 第31回日本基礎老化学会シンポジウム

### 老化に伴う生体ネットワーク変化の解明に向けた新たなトレンド

「日時」平成21年10月31日（土） 13:00-16:15

「会場」養育院記念講堂（東京都板橋区栄町35-2）

「会場地図」[http://www.tmig.or.jp/J\\_TMIG/about/map.html](http://www.tmig.or.jp/J_TMIG/about/map.html)

座長：重本和宏

13:00～13:30

町田修一（東海大学・体育学部・生涯スポーツ学科）

サルコペニア発症機序の解明

筋再生における筋サテライト細胞の役割と老化制御

13:30～14:00

堀田晴美（東京都健康長寿医療センター研究所・老化制御研究チーム）

運動による前脳基底部分動性神経系の活性化と血管拡張

14:00～14:30

認知症脳における糖鎖変化とそのメカニズムの解明

萬谷 博（東京都健康長寿医療センター研究所・老化機構研究チーム）

14:30～14:45 休憩

座長：遠藤玉夫

14:45～15:15

cAMP/PKAシグナリングによる脳の老化機構

齊藤 実（東京都神経科学総合研究所・神経機能分子治療部門）

15:15～15:45

ショウジョウバエゲノムの改変による寿命遺伝子の探索と解析

相垣敏郎（首都大学東京大学院理工学研究科・生命科学専攻）

15:45～16:15

「暑がり」遺伝子の発見：昆虫の省エネルギー型体温調節

梅田真郷（京都大学化学研究所・超分子生物学研究領域）

「問合せ連絡先」

〒173-0015

東京都板橋区栄町35-2

東京都健康長寿医療センター研究所

老化機構研究チーム

三浦ゆり

電話：03-3964-3241（内線3105）

FAX：03-3579-4776

#### 会場地図

■東武東上線「大山駅」下車、徒歩5分

■地下鉄都営三田線「板橋区役所前駅」下車、徒歩7分





# 発表抄録

## サルコペニア発症機序の解明

### 筋再生における筋サテライト細胞の役割と老化制御

町田 修一 (東海大学・体育学部・生涯スポーツ学科)

加齢に伴い骨格筋の筋肉量および筋力は低下する。しかし、この加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）の発症機序の詳細については十分に解明されていない。サルコペニアはADL（日常生活動作）やQOL（生活の質）の低下に加えて、基礎代謝の低下から生活習慣病に罹りやすくなるおそれがある。2014年には4人に1人が65歳以上の本格的な高齢社会を迎える本邦において、ゆとりと豊かさに満ちた社会を実現するためには、ひとりひとりが高齢になっても自由で自立した生活を営めることが鍵となる。したがって、加齢に伴うサルコペニア発症の機序を解明し、その改善および予防のための対策を講じることは今後益々重要となると思われる。

骨格筋は本来、再生能力の高い組織である。しかし、加齢に伴いその再生能力は失われていくことが知られている。その要因のひとつとして、筋再生に重要な役割を担う組織幹細胞である筋衛星細胞（サテライト細胞）の機能低下が考えられている。骨格筋が損傷を受けると、筋サテライト細胞は増殖因子やサイトカイン等の刺激で活性化されて増殖を開始し、筋前駆細胞（筋芽細胞）となる。増殖した筋サテライト細胞は、互いに、あるいは既存の筋線維と細胞融合することによって筋組織を再構築し再生を促す。そのため、筋の再生能力の大半は筋サテライト細胞によって担われていると考えられている。しかし、現時点では、筋サテライト細胞の増殖、分化、細胞死の制御機構は多くが未解明である。

我々はこれまで、ヒトのサルコペニアと類似した骨格筋の表現型を示す加齢実験動物（ラットやマウス）を用いて、筋サテライト細胞の増殖および分化能が加齢に伴い低下することや、高齢期再生筋では脂肪蓄積が顕著に認められることを報告してきた。今回のシンポジウムでは、筋サテライト細胞の増殖機能を制御する転写因子、細胞周期制御因子、細胞内情報伝達系について我々の研究成果を中心に報告する。さらに、筋再生時に筋サテライト細胞の増殖、分化を促進もしくは抑制する増殖因子やサイトカイン、さらにマクロファージの役割について、最近の知見を紹介する。

### 運動による前脳基底部コリン作動性神経系の活性化と血管拡張

堀田 晴美 (東京都健康長寿医療センター研究所・老化制御研究チーム)

運動は体力維持や生活習慣病予防に重要であるだけでなく、高齢者の脳機能にも有利に働くことが最近示されている。しかしその仕組みはよくわかっていない。高齢者や認知症での高次脳機能の低下は、大脳皮質や海馬に投射する前脳基底部コリン作動性神経の減少と大脳皮質や海馬での血流減少を伴うことから、我々は、運動が脳機能を改善するメカニズムに、血管拡張作用を持つ前脳基底部コリン作動性神経系が関わると考え、研究を進めてきた。

ラットの大脳皮質や海馬では、歩行中にアセチルコリン(ACh)放出が促進され、血流が増加する。前脳基底部の刺激は、大脳皮質実質内において、刺激中にはACh放出の増加と微小血管径の拡大を、刺激終了後には神経成長因子(NGF)分泌促進をもたらす。さらには脳血管閉塞後の遅発性神経細胞死の抑制にもつながる。歩行や前脳基底部刺激による血流とNGF反応のいずれも、ニコチン性ACh受容体(nAChR)遮断薬で減弱する。これらの結果から、(1)前脳基底部からのコリン作動系の賦活は虚血に脆弱な大脳皮質や海馬において、血管を拡張させ血流不足の危険を減らすと共に神経保護やシナプス維持に寄与するNGF分泌をも高め、脳機能維持に二重に重要な意味を持つこと、(2)このコリン作動系が歩行により賦活されること、が示された。

約30ヶ月齢の老齢ラットでは、前脳基底部刺激によるACh放出反応は成熟ラットと差が無いが、血流反応とNGF反応は著しく小さい。これら血流とNGF反応の減弱は、老化に伴うnAChR機能の低下に起因すると考えられる。長期自発運動は、老齢ラットの歩行中の海馬でのACh放出反応には影響せず、歩行中の海馬血流反応を増大させる。従って、日々の運動によってコリン作動系を繰り返し賦活すると、老化の影響を受けやすいnAChR機能が高まるため、脳機能維持に重要なコリン作動系機能が改善されると考えられる。前脳基底部に起始するコリン作動系は、ネコやマウスにおいても、ラットと同様の血管拡張機能を持つことが明らかになってきた。今後ヒトにおいても同様の機能を持つことが証明されるものと期待される。

#### 参考文献

H. Hotta, et al., Basal forebrain stimulation induces NGF secretion in ipsilateral parietal cortex via nicotinic receptor activation in adult, but not aged rats. *Neurosci. Res.*, 63, 122-128 (2009).

## 認知症脳における糖鎖変化とそのメカニズムの解明

萬谷 博 (東京都健康長寿医療センター研究所・老化機構研究チーム)

アルツハイマー病では脳内に老人斑や神経原線維変化といった特徴的な構造物が出現する。老人斑の構成成分はアミロイドβペプチド(Aβ)であり、アミロイド前駆体蛋白質(APP)のプロセッシングにより生じる。Aβの蓄積は神経変性の要因となることからAPP代謝に影響を与える因子を明らかにすることは、アルツハイマー病の病態解明の糸口になると期待される。

APPを含む生体の蛋白質の多くは糖鎖を有する糖蛋白質である、このような糖鎖は蛋白質の物性や他の蛋白質との相互作用に影響することが知られている。したがって、APPやセクレターゼなどの糖鎖がAPP代謝に影響している可能性が考えられる。さらに、老化により脳内の糖鎖が変化することも知られていることから、孤発性アルツハイマー病にも糖鎖が関係する可能性がある。そこで我々は、糖鎖という新たな視点からアルツハイマー病にアプローチし、病態解明から予防・治療法への応用を目指している。

我々はまず、APPのプロセッシングと糖鎖の関係について検討するため、家族性アルツハイマー病にみられる変異型APPの糖鎖構造を解析した。変異型APPではbisecting GlcNAc構造を持つ糖鎖が健常型の約8~9倍も増加していた。そこで、bisecting GlcNAcの合成する糖転移酵素であるN-アセチルグルコサミン転移酵素III(GnT-III)に着目し、アルツハイマー病患者の脳におけるGnT-IIIの発現量を調べた。その結果、アルツハイマー病脳では健常脳に比較してGnT-IIIのmRNA量が有為に増加していることが明らかとなった。また、Aβの産生増加によるGnT-III発現への影響について、培養神経細胞株を用いて調べたところ、Aβ42の添加により神経細胞のGnT-III mRNA量が増加することが分かった。これらの結果は、AD脳におけるAβの増加がGnT-IIIの発現を亢進させることを示している。次に、培養神経細胞株にGnT-IIIを強制発現させてAβの産生に及ぼす影響を調べた結果、GnT-III導入細胞ではコントロール細胞に比べAβ40とAβ42の産生量は減少することが明らかとなった。以上より、アルツハイマー病脳で見られるGnT-III mRNAの増加は、Aβの産生を抑えるための防御反応であると考えられた。

### 参考文献

K. Akasaka-Manyu, et al., Increased bisecting and core-fucosylated N-glycans on mutant human amyloid precursor proteins. *Glycoconj. J.*, 25, 775-786 (2008)

## cAMP/PKAシグナリングによる脳の老化機構

齊藤 実 (東京都神経科学総合研究所・神経機能分子治療部門)

加齢性記憶障害はショウジョウバエにもみられる脳老化の重要な表現型であるが、メカニズムの分子レベルでの理解はモデル動物の寿命が大きな障害となりあまり進んでいない。我々は寿命が短く、定量的な学習記憶行動が可能なショウジョウバエを新たなモデル動物として加齢性記憶障害の行動遺伝学的解析を行い、加齢性記憶障害が特定の記憶過程の障害に起因することを見出し、さらに初めてとなる加齢性記憶障害の特異的な抑制変異体として、PKA触媒部位の変異体DC0/+を同定した。

脳老化は個体老化と密接に関係していると考えられている。個体老化の大きな要因として酸化ストレスが挙げられるが、我々の調べた限り、脳神経系では酸化ストレスに対する保護作用が強く、加齢性記憶障害が酸化ストレスにより起こる可能性は極めて低いことが伺えた。またDC0/+では寿命は正常であった。これらのことから、脳老化は個体老化とは異なる特異的な情報伝達系によること、cAMP/PKAシグナリングがこの脳老化特異的な情報伝達系であることが示唆された。では、PKA依存性にリン酸化が亢進することで加齢性記憶障害を引き起こすタンパクは何か?我々はDC0/+を用いたプロテオミクス解析により、PKA依存性に加齢に伴う発現上昇とリン酸化亢進を示すRamと名付けたタンパクが加齢性記憶障害の重要な因子として働くことを見出した。

### 参考文献

Tamura T, Chiang AS, Ito N, Liu HP, Horiuchi J, Tully T, Saitoe M. (2003) Aging specifically impairs amnesiac-dependent memory in *Drosophila*. *Neuron* 40, 1003-1011.

Yamazaki D, Horiuchi J, Nakagami Y, Nagano S, Tamura T, Saitoe M. (2007). The *Drosophila* DC0 mutation suppresses age-related memory impairment without affecting lifespan. *Nat Neurosci* 10, 478-484.

## ショウジョウバエゲノムの改変による寿命遺伝子の探索と解析

相垣 敏郎（首都大学東京大学院理工学研究科・生命科学専攻）

ヒトゲノムには、約2万数千個の遺伝子がアノテートされているが、その大半は機能未知である。DNA配列から予測されるタンパク質の配列が既知のものに類似していれば、その機能を推測することも可能であるが、参照するデータが十分に蓄積していないのが現状である。近年、老化や寿命を制御する遺伝子が具体的に明らかにされつつあるが、寿命決定の全体像を理解するにはほど遠い。

ショウジョウバエは遺伝学的解析法に優れたモデル生物である。ヒト遺伝子との共通性も高く、様々なヒト疾患モデルも見出されている。哺乳類モデルに比べると遥かに短期間、低コストで、多数の変異体を作製することが可能である。もちろん、変異体を作製すれば、すぐに遺伝子機能がわかる訳ではない。ゲノムに存在する全遺伝子の約3分の2については、遺伝子機能を破壊しても、発生異常による致死や形態異常などの顕著な表現型を示さないと推定されている。機能的に重複する遺伝子があること、発生学的な形質だけでは遺伝子機能の手がかりを得られないことを示唆する。実際、生命の本質は次世代を残すことであり、成体の生存を保証するための遺伝子が存在するものと考えられる。たとえば、酸化ストレスによって生じる傷害の修復や防御にかかわるものである。成体の生存期間の保証にかかわる遺伝子の中には、発生にもかかわるものも含まれているであろう。いずれにしても、これらの遺伝子の機能不全は短寿命変異体として見出されると予想される。私たちは、生存期間の保証にかかわる遺伝子の効率的な探索を行うための系を構築した。その基盤となるのは、ゲノムの特定の遺伝子を時期特異的、あるいは組織特異的に強制発現できる大規模な変異体ライブラリーである。それらの系統を用いて、成体の寿命、酸化ストレス感受性、および体のサイズを指標とした変異体スクリーニングを行っている。これまでに、ストレスシグナル、エネルギー代謝、成長制御に関連する遺伝子を見出している。スクリーニングの概要といくつかの寿命遺伝子について紹介する。

## 「暑がり」遺伝子の発見：昆虫の省エネルギー型体温調節

梅田 真郷（京都大学化学研究所・超分子生物学研究領域）

生きているということは、常に物質の化学変換いわゆる新陳代謝を行っていることであり、この反応には必ず熱の産生が伴います。鳥類や哺乳類などのいわゆる恒温動物は、高水準の代謝と熱産生を行うことにより体温（核心部体温）を狭い範囲に保つ精密な制御機構を発達させた生物であり、エネルギー的にはきわめて贅沢な方法をとっています。一方、無脊椎動物、魚類、両生類、爬虫類などのいわゆる変温動物は、通常時は体内の熱産生の水準が低いため、体温調節は主に環境との熱交換により行われています。したがって、必要に応じて体の移動により太陽からの放射熱を吸収したり、運動により熱産生を上昇させたり、あるいは集団を作るなど様々な方法により体温を調節しています。このような体温調節の方法を行動性体温調節と呼びます。従来、変温動物は環境温度の変動に応じて体温が大きく変化することから、哺乳動物のような精密な体温調節システムを備えていない印象を与えがちでした。

我々は、ショウジョウバエ幼虫の温度選択行動を定量的に測定する装置を開発し、ショウジョウバエ幼虫がその生育温度や餌の種類、さらには餌に含まれる脂質の種類によって微妙にかつ再現性良く選択する温度を変えることを見出しました。さらにサーモグラフィ観察によりショウジョウバエ幼虫の体温はその選択した温度と一致することから、幼虫は体内の状態の変化を何らかのかたちで検知し、緻密に体温をコントロールしていることが明らかとなりました。

そこで、ショウジョウバエ幼虫の示す温度選択行動の分子機構を明らかにするため、P因子の挿入により温度選択性に異常を来した一連の変異体を同定し、そのうち強い低温選択性を示す変異体*atsugari*について詳細な解析を進めました。*atsugari*変異体は筋ジストロフィー関連糖タンパク質であるジストログリカンの発現調節部位にP因子が挿入した低発現変異体であることが明らかとなりました。また、ジストログリカンの発現低下によって細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇し、それが引き金となって酸化的リン酸化の亢進によりエネルギー代謝の著しい上昇が引き起こされていることを見出しました。さらに一連の解析を進めた結果、ショウジョウバエ幼虫は、酸素濃度の変化を指標に体内のエネルギー代謝レベルを把握し、それに応じて適正な温度環境（体温）を選択していることが明らかとなりました。今回の講演では、体温調節の分子機構について、最近の知見を中心に紹介したいと思います。

<参考文献>

K.Takeuchi, et al., Changes in temperature preference and energy homeostasis in dystroglycan mutants. *Science*, 323, 1740-1743 (2009)

【総 説】

ファイトケミカルと細胞シグナル伝達

—ホルミシス、ゼノホルミシス仮説からみた考察

伊藤雅史<sup>1)</sup> 野澤義則<sup>1),2)</sup>

<sup>1)</sup>岐阜県国際バイオ研究所 長寿・老化研究部 〒504-0838岐阜県各務原市那加不動丘1-1

<sup>2)</sup>東海学院大学 健康福祉学部食健康学科 〒504-8511岐阜県各務原市那加桐野町5-68

要約

「野菜や果物を多く摂取する」ことが疾患の予防に効果があることはよく知られている。野菜や果物には二次代謝産物であるファイトケミカルが含まれており、その多くが抗酸化能を有することから、疾患予防効果には酸化ストレスの抑制が関与しているものと考えられてきた。しかしながら、ファイトケミカルが実際に生体内で抗酸化物質として機能しているかどうかは必ずしも明らかではない。近年、ファイトケミカルの機能性を説明するメカニズムとして、ホルミシス (Hormesis) 仮説、ゼノホルミシス (Xenohormesis) 仮説が注目されている。ファイトケミカルの進化論的な位置づけに関して両者で明確な相違はあるものの、ファイトケミカルが、細胞シグナル伝達分子に作用しそのシステムをモデュレートし、直接的あるいは転写因子の機能調節、遺伝子の発現制御を介して、さまざまな生物学的効果を発揮するという点では共通した考え方といえる。

キーワード：ホルミシス、ゼノホルミシス、ファイトケミカル、シグナル伝達、レスベラトロール

1. はじめに

「野菜や果物を多く摂取する」ことが、生活習慣病、認知症、がん等の疾患の予防に有効であることは疫学的研究により明らかにされている[1, 2]。野菜や果物には二次代謝産物であるファイトケミカル (Phytochemical) が含まれている。ポリフェノール等が抗酸化能を有すること、また酸化ストレスが多くの疾患の発症、増悪に関わっていることから、野菜や果物の摂取による疾患の予防効果には、それらの成分による酸化ストレスの抑制が関与しているものと考えられてきた。しかしながら、細胞に投与された場合、ファイトケミカルが効果を発揮するのは通常  $\mu\text{M}$  オーダー以上の濃度である。動物に経口投与された場合、直ちに代謝されるため、細胞がそのような高濃度のファイトケミカルに暴露される可能性は少ない[3]。また、生体内で酸化物質に代謝されてしまうものもあり、ファイトケミカルが生体内で実際に抗酸化物質として機能しているかどうかは必ずしも明らかではない[4]。さらには、抗酸化能を有しないファイトケミカルもさまざまな効果を示す。したがって、ファイトケミカルの機能性を考える場合、抗酸化能以外の作用メカニズムが重要と考えられる。

そこで、本稿では、抗酸化説以外の仮説として近年注目されているホルミシス、ゼノホルミシス仮説の視点から、細胞シグナル伝達モデュレーターとしてのファイトケミカルの役割を、レスベラトロール (Resveratrol) を中心に考察してみたい。

2. 共進化仮説

ファイトケミカルの機能性を説明する仮説として以前から提唱されているものとして、共進化 (Co-evolution) 仮説がある。共存する植物と動物が進化的に影響を及ぼし合うと、互いに相手に生物学的効果をもたらす化合物を作るようになる[5]。この仮説では、抗菌作用のあるファイトケミカルを産生する植物が多剤耐性遺伝子 MDR の阻害剤も産生している事実を、そのファイトケミカルを無毒化するために MDR 遺伝子の産生能を獲得した病原体に対処するために、植物がその阻害剤を産生するように進化したためと説明する。したがって、進化論的には、植物と動物の間に機能的な相互作用が存在すること、その相互作用をファイトケミカルが担っていることが示唆されている。

3. ホルミシス仮説

ホルミシスとは、高用量では毒性を示すストレスが、低用量ではむしろ生体にとって有益な効果をもたらす現象を指す[6]。ホルミシス効果を誘導する代表的なストレスとして、放射線、熱ショック、酸化ストレス、重金

連絡先：伊藤雅史  
TEL：058-371-4646  
FAX：058-371-4412  
E-mail：mito@giib.or.jp

属、アルコール、虚血等があり[7-10]、最近では、カロリー制限、運動による効果にもホルミシスが関与しているものと考えられている[11, 12]。ファイトケミカルの機能性を説明するメカニズムとして、Mattsonら (National Institute on Aging) は、ホルミシス説を提唱している[13]。植物は動物の攻撃から身を守るために進化の過程で様々なファイトケミカルを産生する能力を獲得してきた。動物がファイトケミカルを大量に摂取すると毒性が出るが、少量を摂取した場合は生体に有益な効果をもたらす、すなわちホルミシス効果が誘導される。例えば、キツネノテブクロに含まれるジギトキシンは、高濃度ではジギタリス中毒を起こすが、低濃度では心不全・不整脈の治療薬として用いられている。神経細胞では、ファイトケミカルは軽度のストレスとして働き、細胞シグナル伝達のモデュレーションを介して、転写因子を活性化しストレス応答性遺伝子の発現を誘導することにより、細胞を保護する (神経ホルミシス説)。

#### 4. ゼノホルミシス仮説

Sinclairら (Harvard大) は、ファイトケミカルの機能性をゼノホルミシス仮説で説明している[14, 15]。植物は紫外線・感染・乾燥等の外的ストレスを検知するとファイトケミカルを合成し、それにより自らのストレス応答システムを活性化させると考える。この場合、ホルミシス応答をするのは植物であり、動物はストレス応答に関わる共通のシグナルをファイトケミカルという形で植物から受け取り、そのストレス応答システムを活性化させることから、ゼノ (異種の) ホルミシスと呼ばれている。寿命制御遺伝子SIRT1を活性化するレスベラトロールを例にとると、早魃の到来を検知してレスベラトロールの合成を増加させた植物を摂取することにより、動物は実際に早魃が来て食べる植物が無くなる前に、SIRT1の活性化を介してストレス応答を増強する。この場合、植物と動物はもともとレスベラトロールで活性化されるストレス応答システムを持っていたが、動物はそのレスベラトロールを合成する能力を進化の過程で失い、植物に依存するようになったものと考えられている。

ホルミシス説では、植物は自らの身を守るために、動物に生物学的効果 (毒性) をもたらずファイトケミカルを産生する能力を獲得してきたこと、ゼノホルミシス説では、植物と動物がシグナル伝達システムをもともと共有し、ファイトケミカルを共通するシグナル分子として利用してきたことを想定している (図1)。したがって、ファイトケミカルの進化論的な位置づけに関して、両者に明確な相違はあるものの、ファイトケミカルが、細胞シグナル伝達分子に作用しそのシステムをモデュレートし、直接的あるいは転写因子の機能調節、遺伝子の発現制御を介して、様々な生物学的効果を発揮するという点では共通した考え方といえる。

#### 5. レスベラトロールに見るファイトケミカルの変遷

ところで、ファイトケミカルは多種多様であり、疾患の予防や改善を含め広く健康有用性に関する数多くの研

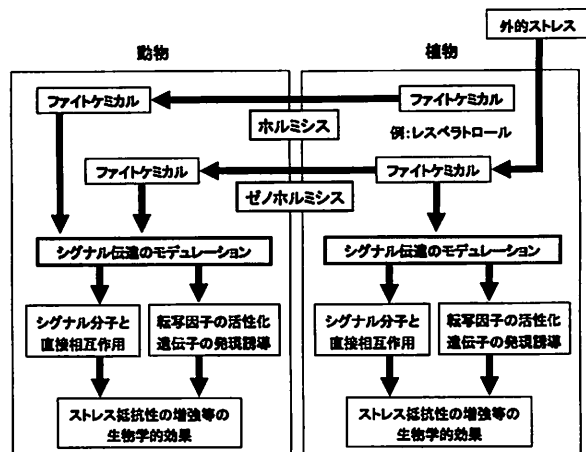


図1 ホルミシス・ゼノホルミシス仮説

レスベラトロールを例にとると、ホルミシス説では、植物が産生したレスベラトロールを動物が高用量摂取すると毒性を示すが、低用量では有益な効果をもたらすと考える。ゼノホルミシス説では、植物と動物がシグナル伝達システムを共有し、レスベラトロールを共通するシグナル分子として利用してきたと考える。いずれの説においても、レスベラトロールが、細胞シグナル伝達分子に作用しそのシステムをモデュレートし、直接的あるいは転写因子の機能調節、遺伝子の発現制御を介して、様々な生物学的効果を発揮する。

究がなされてきている。たとえば、代表的なものについて論文数 (総説も含む) で眺めてみると、カプサイシンが9,532編と最も多く、ケルセチン(6,689)、クルクミン(2,917)、レスベラトロール(2,856)、リコペン(2,372)、EGCG(1,749)の順となっている。ここでは、話題性にも富むレスベラトロール(3,5,4'-トリヒドロキシスチルベン)に焦点をあて、生物学的機能およびその発現メカニズムの変遷を眺めてみよう。レスベラトロールの根源ルーツはバイケイソウの根であり、日本人研究者 (Takaoka, M.J.)によって分離された(1940年)。当初は上述のように植物が外的侵襲 (害虫、カビ、感染など) に対して防御するための、いわゆる植物抗生物質 (Phytoalexin)として注目を集めていた。その後レスベラトロールは多くの植物に含まれていることがわかり、ベリー類やピーナツ、なかでもブドウ (果皮)には豊富であることで、さらなる関心が寄せられることになった。また、他のファイトケミカルと同様に抗酸化作用を有することからもその有用性が広く知られていた。その契機となったのは、巷によく云われる"フレンチパラドックス" (1987年) [16]である。つまり、フランス人は飽和脂肪の多い食事をとるのに、心血管疾患の発症リスクが低いという経験的観測があり、その原因として赤ワインが考えられた。実際に赤ワイン摂取と心血管病リスクが逆相関であることが疫学的研究によって裏付けされ、レスベラトロールの心臓保護作用 (Cardioprotection) が大きなセンセーションを惹き起こすこととなった(1992年)。その5年後に、がん予防作用 (Chemoprevention) が報告されるやレスベラトロールは二大疾患に対する守護神的存在とさえみなされるに至った。

さらに、興味深くもあり、また話題をヒートアップさせたレスベラトロールの新たな展開に遭遇することにな

る。それは上述したSIRT1の活性化因子としての新規機能そのものであり、また驚くべきことに、カロリー制限による寿命延長、疾患抑制の根拠として、このSIRT1との接点が見出された(2003年)[17]。つまり、カロリー制限によってSIRT1が活性化されるのである。これを契機としてレスベラトロール関連の論文引用数は急上昇し、今なお増加し続けている。SIRT1が多様な細胞機能、たとえば、細胞増殖、分化、アポトーシス、老化、あるいは心臓病、がん、糖尿病など多くの疾患と密接に関連していることから、SIRT1の活性化物質の開発が進められている。筆者らもスクリーニング系を構築し、主として植物由来の活性化物質の探索を試みている。

## 6. Beyond the antioxidant —細胞シグナリングモデュレーター

SIRT1活性化因子としてのレスベラトロールは確かにエポックメイキングであったが、他の多くのファイトケミカルにはこの作用は見られないか、あっても軽微であり、レスベラトロールはある意味では特異的である。ファイトケミカルの心臓病、がん、神経変性疾患などの予防、改善効果の根底には、その抗酸化作用があった。つまり、酸化ストレスが多くの疾患の重要な成因と考えられ、抗酸化機能こそがファイトケミカルの有用性であるとする説が長きにわたり広く一般に受け入れられてきた。レスベラトロールもその例外ではなく、他のファイトケミカルと同じように生体の活性酸素種(ROS)のscavengerとして位置づけられてきた。その一方で、最近ではこのいわゆる"Classical antioxidant"に加え、ファイトケミカルによる抗酸化酵素遺伝子の発現が目ざされている。したがって、直接的、間接的を問わず抗酸化作用はファイトケミカルの重要な機能であることには変わらない。

ところで、抗酸化作用に加え、ファイトケミカルの機能に新たな局面が展開されることになる。それは抗酸化だけでは説明できないいくつかの細胞応答が多くの研究者によって指摘されていた。我々もこの分野の研究を始めた頃には同じような経験に遭遇し、抗酸化説の一世風靡の中で説明に苦慮した。長年、細胞シグナリング研究に携わってきた筆者は、beyond the antioxidantにファイトケミカルをシグナリング分子あるいはそのモデュレーターとして捉えていたものの、新たな概念として提示するにはためらいがあった。果たせるかな、今やこの視点に基づく論文数からも分かるように、ファイトケミカルの more than the antioxidantは広く理解されている[18, 19, 20, 21]。

レスベラトロールの標的分子には実に多様なものが報告されている。レスベラトロールは細胞シグナル伝達系に直接的あるいは間接的に作用するが、前者はシグナリング分子に直接結合して、また後者は遺伝子発現を介してシグナル伝達系をモデュレートする。直接相互作用する例として、SIRT1、プロテインキナーゼC、F1-ATPase、MDR、ミエロペルオキシダーゼ、PTPB1、アロマターゼ、エストロゲン受容体、チユプリンなどがあり、

多くの場合はこれら標的分子の活性を抑制する。一方、遺伝子発現をモデュレートする例としては、細胞周期(Rb、CDK、サイクリン、c-myc、PTENなど)、転写因子(NF $\kappa$ B、STAT3、HIF-1 $\alpha$ 、NRF2、 $\beta$ -カテニン、PPAR $\gamma$ 、C/EBP $\alpha$ 、SREBP-1cなど)、抗アポトーシス(Bcl2、Bcl-XL、XIAP、survivinなど)、アポトーシス(p53、Bax、カスパーゼ3/9など)、血管新生(MMPS、VEGF、tPA、bFGFなど)、抗酸化酵素(SOD、HO-1、カタラーゼ、ベルオキシレドキシシン)などが知られている。主として培養細胞系での実験により示された標的分子の多様性と、実際の生体応答との関連性の解明が今後の重要な課題である。

最後に、特定のファイトケミカルまたは植物エキスを含む健康食品が販売されているが、ヒトでの疾患の予防・治療効果が実際に確認されたファイトケミカルや健康食品はない。また、ファイトケミカルの摂取推奨量、上限量についても不明な点が多く、健康への有用性が広く認知されるためには、今後、これらの点が解決される必要がある。また、野菜や果物に含まれるファイトケミカルの含有量は、気候、栽培方法などにより変化するため、栽培方法などに工夫を加えることにより、より機能性を高めた野菜、果物を作り出す試みもなされている。

## 文献

- 1 Hertog, MG, Feskens, EJ, Hollman, PC, Katan, MB and Kromhout, D, Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342:1007-1011, 1993.
- 2 Mukamal, KJ, Maclure, M, Muller, JE, Sherwood, JB and Mittleman, MA, Tea consumption and mortality after acute myocardial infarction. *Circulation* 105:2476-2481, 2002.
- 3 Baur, JA and Sinclair, DA, Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov* 5:493-506, 2006.
- 4 Halliwell, B, Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch Biochem Biophys* 476:107-112, 2008.
- 5 Li, XJ and Zhang, HY, Synergy in natural medicines: implications for drug discovery. *Trends Pharmacol Sci* 29:331-332, 2008.
- 6 Calabrese, EJ, Hormesis: from marginalization to mainstream: a case for hormesis as the default dose-response model in risk assessment. *Toxicol Appl Pharmacol* 197:125-136, 2004.
- 7 Johansson, L, Hormesis, an update of the present position. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30:921-933, 2003.
- 8 Rattan, SI, Repeated mild heat shock delays ageing in cultured human skin fibroblasts. *Biochem Mol Biol Int* 45:753-759, 1998.

- 9 Chen, ZH, Yoshida, Y, Saito, Y and Niki, E, Adaptation to hydrogen peroxide enhances PC12 cell tolerance against oxidative damage. *Neurosci Lett* 383:256-259, 2005.
- 10 Kirino, T, Ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* 22:1283-1296, 2002.
- 11 Sinclair, DA, Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech Ageing Dev* 126:987-1002, 2005.
- 12 Radak, Z, Chung, HY, Koltai, E, Taylor, AW and Goto, S, Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 7:34-42, 2008.
- 13 Mattson MP, CA, Neurohormetic phytochemicals: low-dose toxins that induce adaptive neuronal stress responses. *Trends Neurosci* 29:632-639, 2006.
- 14 Lamming, DW, Wood, JG and Sinclair, DA, Small molecules that regulate lifespan: evidence for xenohormesis. *Mol Microbiol* 53:1003-1009, 2004.
- 15 Howitz, KT and Sinclair, DA, Xenohormesis: sensing the chemical cues of other species. *Cell* 133:387-391, 2008.
- 16 Richard, JL, [Coronary risk factors. The French paradox]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 80 Spec No:17-21, 1987.
- 17 Cohen, HY, Miller, C, Bitterman, KJ, Wall, NR, Hekking, B, Kessler, B, Howitz, KT, Goro-spe, M, de Cabo, R and Sinclair, DA, Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 305:390-392, 2004.
- 18 Athar, M, Back, JH, Kopelovich, L, Bickers, DR and Kim, AL, Multiple molecular targets of resveratrol: Anti-carcinogenic mechanisms. *Arch Biochem Biophys* 486:95-102, 2009.
- 19 Harikumar, KB and Aggarwal, BB, Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases. *Cell Cycle* 7:1020-1035, 2008.
- 20 Aggarwal, BB and Shishodia, S, Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 71:1397-1421, 2006.
- 21 藤村由紀、立花宏文 植物性食品成分の生体応答の分子機構 *化学と生物* 47:111-117, 2009.

## Phytochemicals and signal transduction-from the viewpoint of hormesis and xenohormesis hypotheses

Masafumi Ito<sup>1)</sup> and Yoshinori Nozawa<sup>1), 2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Longevity and Aging Research,  
Gifu International Institute of Biotechnology  
1-1 Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838 Japan

<sup>2)</sup>Department of Food and Health,  
Tokai Gakuin University  
5-68 Naka-kirinocho, Kakamigahara, Gifu 504-8511 Japan

Intake of larger amounts of vegetables and fruits are beneficial for prevention of a variety of diseases, which has been ascribed to the reduction of oxidative stress by phytochemicals contained in them, because most of them have the antioxidant capacity. However, it is not yet clear whether phytochemicals indeed act as antioxidants in vivo. In order to explain why and how phytochemicals exhibit a number of biological effects, the hormesis and xenohormesis hypotheses have been recently proposed. Although two hypotheses differ in terms of assumptions for the evolutionary role of phytochemicals, both assume in common that they may act on signaling molecules and modulate the signal transduction system, and exert various biological effects directly or indirectly through modulation of transcription factor function and gene expression alteration.

**Keywords:** Hormesis, Xenohormesis, Phytochemical, Signal transduction, Resveratrol

## 【トピックス】

### 多光子顕微鏡による生体組織の多色ライブイメージング

岡田 峰陽

理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫細胞動態研究ユニット

#### 1. はじめに

現在の医学生物学のほぼすべての分野において、個体レベルと分子レベルでの研究成果を、有機的に結びつける研究手法の重要性が指摘されている。最近、特に注目されている手法の一つが生体組織イメージングである。免疫システムの研究においては、運動性に富む多種類の免疫細胞の相互作用を、多光子顕微鏡を用いて観察するライブイメージングが浸透しつつある [1, 2]。多光子顕微鏡観察の特長は、組織の比較的深部を細胞レベルもしくはそれ以上の解像度で、光によるダメージを抑えてリアルタイム観察できるという点である。共焦点顕微鏡ではリンパ性組織の約100  $\mu\text{m}$ までの深さが限界だが、多光子顕微鏡では約300  $\mu\text{m}$ まで蛍光観察が可能である。しかしながら、通常の共焦点レーザー顕微鏡と異なり、多光子顕微鏡ではレーザーの数の制限などのために、同時に励起できる蛍光色素の種類に制限がある。出来るだけ多種類の細胞の挙動を、複雑な組織構造と同時に可視化・識別することは、組織内で起こっていることをより正しく理解するために必要である。そのために多光子顕微鏡観察の多色検出能の向上をめざした技術開発が進められている。ここでは、一般に普及している多光子顕微鏡における多色性の制限と、それを克服するための最新の顕微鏡システムについて述べ、また生体イメージングへの応用が注目され始めているレーザー技術について触れたい。

#### 2. 一般に普及している多光子顕微鏡による免疫組織イメージングの多色性の現状

一光子励起の共焦点レーザー顕微鏡では、UVレーザーから赤色レーザー、場合によっては近赤外レーザーまで、多種類のレーザーを搭載することによって、現在ではかなりの多色同時観察が可能になっている。しかし一般に普及している生物試料観察用の多光子顕微鏡では、価格やセットアップの複雑さの理由から、多光子励起するための超短パルスレーザーは一台のみしか搭載されていない。これらの顕微鏡に用いられているフェムト秒パルスチタン・サファイアレーザーの波長可変域は、最も広いもので約700 nm弱から1000 nm強である (注釈)。よってDAPIから、GFP (Green Fluorescent Protein)、

さらには一部のRFP (Red Fluorescent Protein) や、Alexa Fluor 633などまで、幅広く励起することが可能である。しかしながらスペクトル幅は10nmから数十ナノメートルであり、フェムト秒パルス発生を維持しながら可変域内で波長を変えるのに数秒から十数秒以上かかるため、同時に励起出来る蛍光色素の組み合わせは限られている。例えば、CFP (Cyan Fluorescent Protein) とGFPもしくはYFP (Yellow Fluorescent Protein) は、900nm前後のレーザー波長で効率よく同時に多光子励起できる(表1)。しかしながらtdimer2(12) [3]などのRFPを多光子励起するためには、最低でも1000nmより長波長のパルスレーザーが必要であり、この波長はGFPやCFPの励起には適さないで、これらを一台の多光子レーザーで同時にイメージングことは難しい (表1)。一方、生きた組織内の微細構造をin vivo抗体染色によって可視化する場合、染色シグナルが弱すぎて良い画像を得ることが出来ないケースが多い。この場合は、出来るだけ明るい (量子収率の高い) 蛍光色素でラベルした抗体を使い、励起波長もそれに最適のものを使わざるを得ないが、そうするとそれと近い波長の蛍光を発する明るい色素は、同時に可視化する細胞のラベルに使用することが難しくなる。

我々は、リンパ節内のリンパ管 (リンパ洞) の構造を、量子収率の高いAlexa Fluor488でラベルした抗LYVE-1抗体でin vivo染色し、Tリンパ球がリンパ洞に入ってリンパ節を出ていくメカニズムの研究を行った。リンパ節内深部にあるリンパ洞を明確に観るためには、Alexa Fluor488のシグナルを最も効率よく得る必要があったため、810nmでこれを励起した。しかしメカニズムの研究のためには、野生型のT細胞と、リンパ節からの移出に異常がある遺伝子欠損T細胞 (sphingosine-1-phosphate受容体の一つであるS1P1の遺伝子欠損) を同時に、リンパ洞構造とともに可視化することが必要であった。そこで片方のT細胞をrhodamine類の細胞ラベル化用蛍光色素CMTMRでラベルし、もう片方のT細胞をCMTMRとfluorescein類の細胞ラベル化用蛍光色素CFSE (Alexa Fluor488とほぼ同じ波長の蛍光を発する) で二重ラベルすることによって、2種類の細胞と構造の組織深部での同時可視化を行うことができた[4]。つまり、赤蛍光 (CMTMR) のT細胞、黄色蛍光 (CMTMR + CFSE) のT細胞と、緑蛍光 (Alexa Fluor488) のリンパ洞内皮細胞を識別した。このように多重ラベリングなど工夫も、複数種の細胞や組織内構造の同時可視化に有効である。

連絡先: 〒230-0045

神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22

TEL: 045-503-7026

FAX: 045-503-7018

E-mail: tokada@rcai.riken.jp



励起波長	第二高調波	CMAC	CFSE, Alexa 488	CMTMR
800nm	390 - 410nm	455 - 485nm	500 - 550nm	565 - 620nm
励起波長	第二高調波	CFP	GFP, CFSE (YFP)	CMTMR (Keima)
900nm	430 - 450nm	465 - 485nm	500 - 550nm (525 - 550nm)	565 - 620nm (590 - 640nm)
励起波長	第二高調波	tdimer2(12) RFP	Alexa Flour 633	
1000nm	490 - 510nm	565 - 620nm	630 - 680nm	

表1. フェムト秒レーザー (800nm, 900nm, 1000nm) による多光子励起可能な蛍光色素と、組織中のコラーゲン線維などから発生する第二高調波光 (入射光の約半分の波長)、およびそれを検出するためのバンドパスフィルターの波長域の目安を示す。

(注釈) 多光子顕微鏡で用いられるチタン・サファイアレーザーは、共焦点顕微鏡で使われているレーザーよりも波長が約2倍である (反対にエネルギーは約2分の1)。この長波長レーザーを短パルス (100フェムト秒以下のパルスが、1秒間に8千万回程度発生) に圧縮して用いることで、光子を2個同時にピンポイントで観察部位に当てることができる。2光子が同時に吸収されることで得られるエネルギーは約2倍となるため、1光子励起と比べて約2倍の波長での励起が可能となる。実際には個々の分子の構造によって、2倍よりも短波長側に吸収極大がくるブルーシフトと呼ばれる現象が起こるため、表1にあるように、例えば900 nmのレーザーでYFPやCMTMRなどの色素も効率よく励起することができる。多光子顕微鏡で共焦点顕微鏡よりも組織深部が観察できる理由としては、組織内で散乱されにくい長波長レーザーを用いる点が挙げられるが、さらに重要なのはピンポイント励起であるために、検出器の前にピンホールが必要ないので、高感度蛍光検出が可能であることである。

### 3. 新しい蛍光タンパク質と、デュアルレーザー多光子顕微鏡による多色解析能の向上

上述のようにCFPやGFPと、従来のRFPを一台の多光子レーザーで同時励起して、イメージングすることは難しい。しかし最近、宮脇らのグループは、ストークスシフトが通常の蛍光タンパク質より大きい (励起波長と蛍光波長が遠い) Keimaと呼ばれる蛍光タンパク質を開発し、これを用いれば容易にGFPやCFPとの同時多光子励起が可能であると報告している [5]。今までのところ、まだ実際に組織内イメージングに用いられている報告は少ないが、これから増えてくるだろう。

二台のチタン・サファイアレーザーを備えた多光子顕微鏡も、徐々に生体イメージングに普及しつつある。最大のメリットは勿論、同時多光子励起の難しい複数の蛍光色素を、二波長のレーザーで同時励起できることである。我々も最近、このデュアルレーザーシステムを用いており、レーザーの一つを900 nm付近で、もう一つを1000 nm付近で用いることで、CFPとRFPや、GFPと

Alexa Fluor 633の同時励起観察が可能となっている (図1、表1)。これ以外にも、coumarin類の細胞ラベル化用蛍光色素CMACとYFPの組み合わせは、一波長レーザーでは多光子励起観察が不可能だが、800 nm前後と900 nm前後の二波長を用いれば、効率よく同時観察が出来る (表1)。また二つのレーザーをポッケルス素子と偏光フィルターによって、高速で切り替えて用いれば、例えばCMACとCFPのように至敵励起波長は異なるが、蛍光スペクトルは似ている蛍光色素を区別して検出することも可能となり、さらなる多色検出能の向上が可能となる [6]。

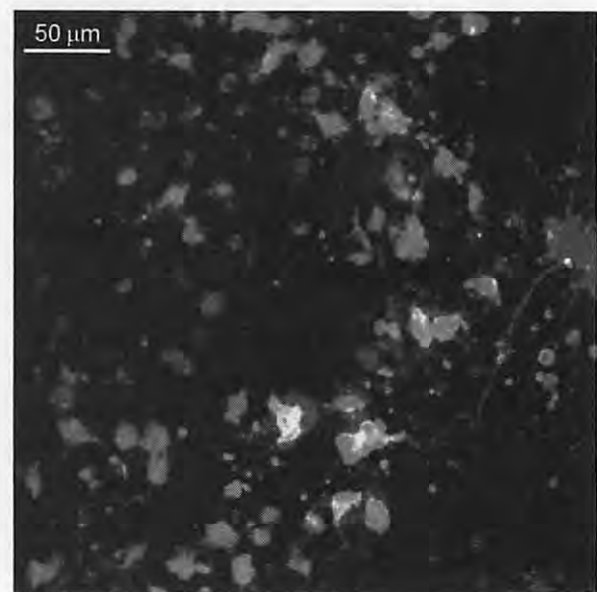


図1. (カラー図は表紙に掲載) 生きた脾臓組織における免疫応答中のGFP発現B細胞 (緑) と、Alexa Fluor 633でラベルした抗CD35抗体により染色した濾胞樹状細胞 (マゼンタ) を、900nmと1000nmのデュアルレーザーによって多光子励起観察を行った。濾胞樹状細胞は密なネットワークを形成し、B細胞への抗原提示の場を形成している。この画像はタイムラプスデータの一部分であり、実際の動画では、B細胞が毎分約6ミクロンの速さで、濾胞樹状細胞上を移動している様子が観察される。

#### 4. 多光子生体イメージングのこれからの飛躍の可能性

上述のように一部のRFPは1000 nmで励起可能だが、実際には殆どのRFPの至適な二光子励起波長は1000 nmよりも長波長域にある。このため、通常の生物試料観察用の多光子顕微鏡セットアップを用いたイメージングでは、これらのRFPのシグナル強度の制限がつきまとう。さらにこれらの顕微鏡セットアップでは、遠赤色に近い蛍光を発するHcRedやmKateといった蛍光タンパク質を励起することは不可能である。加えて、励起できるAlexa Fluorシリーズの蛍光色素は筆者らの試みたところではAlexa Fluor 633までで、Alexa Fluor 647より長波長励起のものは、多光子イメージングには使えなかった。このような問題を克服し、近赤外領域の蛍光を多光子励起でイメージングするための技術も、実はすでに生体イメージングに適用可能なところまで来ている。一つ目は、光パラメトリック発振器による波長変換であり、チタン・サファイアレーザーを光源に用いて、1000 nm-2000 nm超の長波長パルスレーザーを得ることができる。実際に、これを用いて得られた1280 nm付近のレーザー発振により、Alexa Fluor 680-dextranを静脈注射したマウスの脳内毛細血管のイメージングが報告されている [7]。また、チタン・サファイアレーザーよりも長波長のレーザーを発振できる、クロム・フォルステライトレーザーを用いることによっても、同様の遠赤色蛍光色素の二光子励起が達成される。例えば1230 nm付近のパルスレーザーによって、HcRedを発現したゼブラフィッシュ胚中の心臓の蛍光像が撮影されている [8]。このような長波長レーザーを、通常のチタン・サファイアレーザーと共に備えた多光子顕微鏡は、強力な多色性を持つことになると考えられる。

さらに長波長レーザーを使う別のメリットとして挙げられるのは、1200-1300 nmのレーザーは、800-900 nmのレーザーに比べて生体組織・細胞への光ダメージが小さいと報告されていることである [7, 8]。また、長波長レーザーによって達成される遠赤色・近赤外蛍光イメージングは、組織内の到達深度をもっと引き上げる可能性を持っている。遠赤色・近赤外波長帯域では、組織内の生体分子の自家蛍光などのバックグラウンドのシグナルが少なく、これは高感度イメージングを行う上で大きな長所である。また、長波長レーザーと近赤外蛍光は組織内で散乱されにくいので、組織深部での効率の良い多光子励起と、蛍光の回収が得られると考えられる。あとは遠赤・近赤外蛍光色素の量子収率の向上が達成されれば、組織内の到達深度を飛躍的に高める可能性がある。

#### おわりに

話が少しそれるが、免疫学で最も頻繁に用いられる解析方法の一つはフローサイトメトリーである。フローサ

イトメトリーは、近年その多色検出能が飛躍的に向上しており、複雑な免疫システムを読み解くための大きな助けとなっている。多光子顕微鏡による免疫組織イメージングは、フローサイトメトリーの多色性・定量性には永久に及ばないかもしれないが、それに少しでも近づけることが重要である。それによって、フローサイトメトリーで得られた情報とのより緻密な整合が可能となり、ライブイメージングデータの解釈の幅が広がるであろう。

#### 文献

1. Germain RN, Miller MJ, Dustin ML, et al. Dynamic imaging of the immune system: progress, pitfalls and promise. *Nat Rev Immunol* 6: 497-507, 2006.
2. Cahalan MD and Parker I. Choreography of cell motility and interaction dynamics imaged by two-photon microscopy in lymphoid organs. *Annu Rev Immunol* 26:585-626, 2008.
3. Campbell RE, Tour O, Palmer AE, et al. A monomeric red fluorescent protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 7877-7882, 2002.
4. Grigorova IL, Schwab SR, Phan TG, et al. Cortical sinus probing, S1P1-dependent entry and flow-based capture of egressing T cells. *Nat Immunol* 10: 58-65, 2009.
5. Kogure T, Kawano H, Abe Y and Miyawaki A. Fluorescence imaging using a fluorescent protein with a large Stokes shift. *Methods* 45: 223-226, 2008.
6. Zinselmeyer BH, Dempster J, Wokosin DL, et al. Chapter 16. Two-photon microscopy and multidimensional analysis of cell dynamics. *Methods Enzymol* 461:349-378, 2009.
7. Kobat D, Durst ME, Nishimura N, et al. Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation. *Opt Express* 17: 13354-13364, 2009.
8. Tsai TH, Lin CY, Tsai HJ, et al. Biomolecular imaging based on far-red fluorescent protein with a high two-photon excitation action cross section. *Opt Lett* 31: 930-932, 2006.

【トピックス】

Neuropeptide Yによる代謝制御と抗老化作用

－ヒトへの応用に向けたCR模倣物開発の標的探索－

千葉 卓哉、下川 功

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科探索病理学分野

キーワード：energy metabolism、neuroendocrine、CR mimetics、phytochemicals

はじめに

実験動物に対して摂取カロリーを自由摂食 (ad libitum: AL) 群の70%程度に制限するカロリー制限 (calorie restriction: CR)は、様々な老化病態の発症を抑制し、寿命を延長させる最も確実な介入方法として確立されている。CRの抗老化作用は、酵母からアカゲザルに至るまでその効果が見られ、このことはCRの抗老化作用が進化的に保存されていることを示唆している。CRによる寿命延長の分子メカニズムはまだ不明な点が多いが、神経内分泌系を介した代謝のシフトが重要であると示唆されている[1]。齧歯類等におけるCRは飢餓に近い状態にあるため、ヒトにおけるCRの抗老化効果を外挿するのは困難である。しかし、低体温や低血中インスリン濃度など、ヒトにおける長寿命バイオマーカーの変化と、CRを行った動物におけるそれらの変化には共通性が見られる[2]。そのため現在、代謝疾患改善剤や植物由来機能性分子(phytochemicals)などの作用機構の研究を中心として、CRの抗老化効果を模倣する物質 (CR mimetics)の研究開発が盛んに行われている。本稿では、CR模倣物開発の標的としてのレプチンシグナルの役割と、ヒトへの応用に向けたCR研究の現状について概説する。

CRによるNPYシグナルの活性化とその影響

CRの抗老化作用に関連するシグナル伝達系は、単一のものではなく複数のシグナルのクロストークから形成されると推測される。しかし、その中で特にレプチンなど神経内分泌系に影響を及ぼすシグナルが重要な役割を持つことが示唆されている[3-6]。

脂肪細胞由来因子 (アディポカイン) の一種であるレプチンは、視床下部の神経核である弓状核に作用して摂食行動や、エネルギー代謝を調節している[7]。レプチンは飢餓時などの代謝の適応に重要であるが[8]、CR下

においても重要なシグナルとして作用し、全身のホメオスタシスを調節していることが示唆されている[6]。弓状核には、摂食行動やエネルギー代謝を制御する2つの重要な神経細胞群が存在している[8]。その一つはneuropeptide Y(NPY)およびagouti-related peptide (AgRP)を産生している細胞群であり、もう一方はproopiomelanocortin (POMC)およびcocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)を産生する細胞群である(図1)。血中レプチン濃度の低下によって、NPY/AgRPニューロンは抑制が外れることで活性化され、一方POMC/CARTニューロンは活性が低下する(図1)。これらのニューロンは視床下部の他の神経核にも軸索をのびて影響を与えている。例えばNPYニューロンは

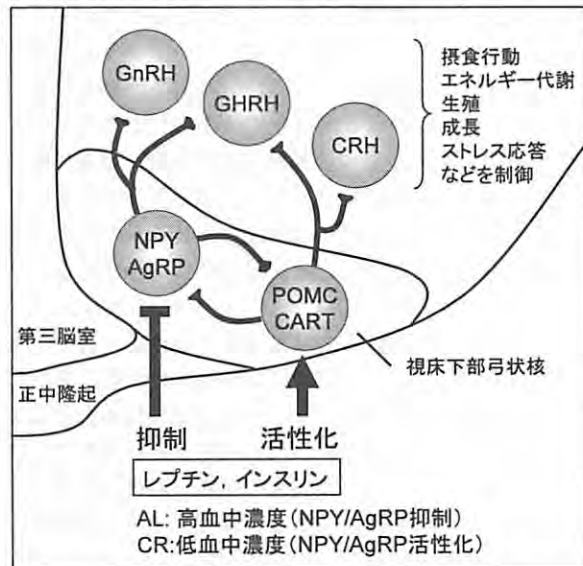


図1 神経内分泌系による生体機能の調節

レプチン、インスリンはNPY/AgRPニューロンを抑制し、POMC/CARTニューロンを活性化する。これら2つの神経細胞群は互いに拮抗的に抑制作用を持つとともに、室傍核等その他の神経核に存在するエネルギー消費や生殖、ストレス応答に関与するニューロンの活性を調節している。AL下では血中レプチン、インスリン濃度が高く、NPY/AgRPニューロンは抑制されているが、一方CR下においては血中レプチン、インスリン濃度が低下することでNPY/AgRPニューロンが活性化する(抑制が外れる)と示唆される。また、NPYは交感神経系を介して肝臓や脂肪組織などNPY受容体を発現している末梢組織にも影響を与えており、NPY活性化がCRによる代謝のシフトに重要な役割を持つものと示唆される。(文献13より引用改変)

連絡先：〒852-8523

長崎市坂本1-12-4

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科探索病理学分野

TEL: 095-819-7051

FAX: 095-819-7052

E-mail: takuya@nagasaki-u.ac.jp

gonadotropin-releasing hormone(GnRH)ニューロンと growth hormone-releasing hormone(GHRH)ニューロンを抑制し、corticotropin-releasing hormone(CRH)ニューロンを活性化することが示唆されている(図1)。NPY/AgRPニューロンはレプチン以外にも、インスリンによる負の制御や、胃から分泌されるホルモンであるグレリンによる正の制御を受けている[4]。これまでの研究から、我々はCR下においてはNPY/AgRPニューロンが活性化され、生殖などエネルギー消費の大きな活動を抑制し、一方でグルココルチコイド系を活性化させることで体細胞の維持にエネルギーを集中させ、その結果、老化抑制や寿命延長に有利な状況に代謝がシフトするという仮説を提唱した[6,9,10]。

#### 仮説の検証

我々は、上述の仮説を検証するために、CRラットの血中レプチンレベルと視床下部弓状核における遺伝子発現を解析した。その結果、ALラットと比較してCRラットでは血中レプチン濃度が低く、NPY/AgRPの遺伝子発現レベルが高いことを報告した[11]。さらに、浸透圧ポンプをもちいて生理的濃度のレプチンをラットの脳室内に14日間投与し、遺伝子発現変化を解析した結果、CRによって発現が亢進したNPY/AgRPは、レプチン投与によりAL群と同程度の発現レベルにまで低下することを明らかにした[12]。これらのことから、CR下におけるNPYニューロンの活性化に、レプチンシグナルの低下が重要な役割を持つことが示唆された。しかしながら、レプチン受容体に変異をもち、レプチンシグナルが欠損しているZucker obeseラットに対するCRの効果を検査した結果、野生型ラットと同様なNPY活性化とそれに引き続く神経内分泌系、および肝臓における糖、脂質代謝に関連する遺伝子発現の変化が見られることを明らかにした[13]。このことはNPYの活性化がCRによる代謝の適応に重要な役割を持つが、その活性化に関与する分子はレプチンシグナルのみではなく、インスリンやグレリンシグナルの関与や、あるいは他の未知の因子も関与する可能性を示唆している。NPYは神経系に広範に発現しており、肝臓や脂肪組織に対しては交感神経系を介して影響を与えている。したがって、視床下部弓状核におけるNPY発現亢進が、これらの末梢組織における代謝の適応をもたらすことが示唆される。現在我々は、NPY活性化剤がCR模倣物開発の有力な標的の一つであると考え、さらに研究を進めている。

#### NPYに関する最近の話題

NPYは脂肪細胞からも分泌され、Y1受容体を介して脂肪前駆細胞の増殖に関与することや[14]、脂肪細胞で発現しているY2受容体が交感神経系から分泌されたNPYによって活性化され、ストレス下における肥満の発症と関連することが示された[15]。これらの結果はCRによるNPYの活性化は、脂肪を貯蓄する方向に作用している可能性を示唆している。さらに、グレリンによるNPY/AgRPニューロンの活性化にUCP2が必須であるこ

とが示され[16]、一方で視床下部においてUCP2を過剰発現するトランスジェニックマウスが長寿命を示すことが報告されている[17]。これらの結果は、グレリン受容体であるGタンパク共役型受容体とミトコンドリア機能との関連を示すものであり、さらに視床下部における神経内分泌系の変化が寿命制御に重要な役割を持つことを示唆する有力な証拠であると考えられる。また、NPYトランスジェニックラットが対照群と比較して長寿命であることも報告されている[18]。したがって、これらの研究結果とCRによる寿命延長との機能的関連について今後さらに詳しく検討する必要がある。

#### ヒトに対するCRの効果

現在、ヒトに対するCRの臨床試験であるCALERIE (Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy)プロジェクトが米国の複数の施設において実施されており、成果が報告されてきている[19]。また、以前から行われているボルチモアにおける長期縦断疫学調査の結果、ヒトにおける長寿バイオマーカーとして、低体温、低血中インスリン、高血中DHEAS(dehydroepiandrosterone sulfate)が報告されている[2]。これらの変化は、CRを行ったアカゲザルにおけるバイオマーカーの変化と類似している。ただし、ヒトでのいわゆるダイエットによる体重減少に伴う糖尿病や心疾患等の病態発症の抑制は、実験動物に対するCRの効果の本質とは異なる、二次的なものであると示唆される。実験動物に対するCRは飢餓に近い状態にあるため、ヒトにおけるCR研究と比較することは困難である。しかし少なくとも、健康で活動的な期間の延長に、ヒトにおけるCRが貢献することは間違いのないであろう。

#### CR模倣物

ヒトに対する強いCRは、不妊などの負の効果も招くことから、実際に食事制限を行わなくとも、CRの抗老化効果を模倣することができる化合物の開発が重要である[20]。現在、既存の代謝疾患改善剤やphytochemicals等をもちいて、CR模倣物としての評価が盛んに行われている(表1)。これまでの報告では、齧歯類において遺伝子発現や血中パラメーターなど、CRの効果の一部再現することは可能であるが、寿命を延長させる効果は見られないものが多い[21,22]。しかしながら、寿命延長が見られなくともQOL(生活の質)の向上が得られるのであれば、これらの物質のヒトへの応用研究は重要な意味を持つものと考えられる。

酵母においてヘテロクロマチンの制御に関連するsir2が老化に関与することを発見したMITのGuarente教授と、線虫の長寿命変異体であるdaf-2などの研究で知られるUCSFのKenyon教授は共同で、Elixir Pharmaceuticals社の設立に関与した。また、Guarente教授の下で研究を行っていたSinclair博士は、Sirtris Pharmaceuticals社の設立に関与し、両社とも医薬品としてのCR模倣物開発を目指して研究を行っている。Elixir社は最近、リード化合物の利用に関してNovartis社との間で提携

機能	候補分子
NPY 活性化剤	ghrelin
IGF-1 阻害剤	soy isoflavones, flavonoids
2型糖尿病治療薬	metformin, glipizide
高脂血症治療薬	fenofibrate
抗肥満ホルモン	adiponectin
抗酸化剤	coenzyme Q10
Sirtuin 活性化剤	resveratrol
PPAR 活性化剤	rosiglitazone, pioglitazone
解糖阻害剤	2-deoxy-D-glucose

表1. CR模倣物開発の標的とその候補分子

を結び、Sirtris社はGlaxoSmithKline社の傘下に入り、すでに複数のリード化合物を糖尿病やガンに対する治療薬として臨床試験を実施している[23,24]。

先に述べたように、我々はCR模倣物としてのNPY活性化剤に興味を持っている。現在、実際に臨床で使われている医薬品の提供を製薬企業より受け、NPY活性化作用など、そのCR模倣物としての評価を動物実験により行っている。また、我々が開発したCR模倣物のスクリーニング系を利用した新規の候補物質の探索研究も実施している(特願2009-189136、特願2007-61075)。CRの抗老化機構の解明に基づく、その研究成果の応用は、薬学、栄養学など他の研究領域と融合し今後ますます重要になると考えられる。

#### おわりに

生体におけるCRの作用点は臓器特異性があるなど、実際にはより複雑なものであると考えられる。したがって、今後もCRの抗老化作用の解明に向けた基礎老化研究が重要であることは言うまでもない。以前まで、CRに関する研究はALと比較して研究することに対する疑問符が常についてまわっていた。たとえALが病的な状態にあると考えたとしても、CRによって生物本来の最長寿命に近づく機構の解明は、科学的に重要な意味を持つ。このことは近年、CR研究が異分野の研究と融合することでより大きな研究領域を形成しつつあることからうかがえる。これらの学際的研究から、老化の分子機構に関する新たな知見がもたらされることが期待される。

#### 文献

[1] Masoro EJ. Food restriction in rodents: an evaluation of its role in the study of aging. *J Gerontol* 43:B59-64, 1988.  
 [2] Roth GS, Lane MA, Ingram DK, Mattison JA, Elahi D, Tobin JD, Muller D. and Metter EJ. Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science* 297:811, 2002.

[3] Barzilai N, Banerjee S, Hawkins M, Chen W. and Rossetti L. Caloric restriction reverses hepatic insulin resistance in aging rats by decreasing visceral fat. *J Clin Invest* 101:1353-1361, 1998.  
 [4] Chiba T, Yamaza H, Higami Y. and Shimokawa I. Anti-aging effects of caloric restriction: Involvement of neuroendocrine adaptation by peripheral signaling. *Microsc Res Tech* 59:317-324, 2002.  
 [5] Katic M and Kahn CR. The role of insulin and IGF-1 signaling in longevity. *Cell Mol Life Sci* 62:320-343, 2005.  
 [6] Shimokawa I and Higami Y. A role for leptin in the antiaging action of dietary restriction: a hypothesis. *Aging (Milano)* 11, 380-382, 1999.  
 [7] Ahima RS and Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 62:413-437, 2000.  
 [8] Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ and Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-671, 2000.  
 [9] Shimokawa I and Higami Y. Leptin signaling and aging: insight from caloric restriction. *Mech Ageing Dev* 122:1511-1519, 2001.  
 [10] Shimokawa I and Higami Y. Leptin and anti-aging action of caloric restriction. *J Nutr Health Aging* 5:43-48, 2001.  
 [11] Shimokawa I, Fukuyama T, Yanagihara-Outa K, Tomita M, Komatsu T, Higami Y, Tuchiya T, Chiba T, Yamaza Y. Effects of caloric restriction on gene expression in the arcuate nucleus. *Neurobiol Aging* 24:117-123, 2003.  
 [12] Komatsu T, Chiba T, Yamaza H, To K, Toyama H, Higami Y and Shimokawa I. Effect of leptin on hypothalamic gene expression in calorie-restricted rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61:890-898, 2006.  
 [13] Chiba T, Komatsu T, Nakayama M, Adachi T, Tamashiro Y, Hayashi H, Yamaza H, Higami Y, Shimokawa I. Similar metabolic responses to calorie restriction in lean and obese Zucker rats. *Mol Cell Endocrinol* 309:17-25, 2009.  
 [14] Yang K, Guan H, Arany E, Hill DJ and Cao X. Neuropeptide Y is produced in visceral adipose tissue and promotes proliferation of adipocyte precursor cells via the Y1 receptor. *FASEB J* 22:2452-2464, 2008.  
 [15] Kuo LE, Kitlinska JB, Tilan JU, Li L, Baker SB, Johnson MD, Lee EW, Burnett MS, Fricke ST, Kvetnansky R, Herzog H, Zukowska Z. Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-in-

- duced obesity and metabolic syndrome. *Nat Med* 13:803-811, 2007.
- [16] Andrews ZB, Liu ZW, Wallingford N, Erion DM, Borok E, Friedman JM, Tschop MH, Shanabrough M, Cline G, Shulman GI, Coppola A, Gao XB, Horvath TL, Diano S. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature* 454:846-851, 2008.
- [17] Conti B, Sanchez-Alavez M, Winsky-Sommerer R, Morale MC, Lucero J, Brownell S, Fabre V, Huitron-Resendiz S, Henriksen S, Zorrilla EP, de Lecea L, Bartfai T. Transgenic mice with a reduced core body temperature have an increased life span. *Science* 314:825-828, 2006.
- [18] Michalkiewicz M, Knestaut KM, Bytchkova EY and Michalkiewicz T. Hypotension and reduced catecholamines in neuropeptide Y transgenic rats. *Hypertension* 41:1056-1062, 2003.
- [19] Redman LM, Heilbronn LK, Martin CK, de Jonge L, Williamson DA, Delany JP and Ravussin E. Metabolic and behavioral compensations in response to caloric restriction: implications for the maintenance of weight loss. *PLoS ONE* 4:e4377, 2009.
- [20] Ingram DK, Zhu M, Mamczarz J, Zou S, Lane MA, Roth GS and deCabo R. Calorie restriction mimetics: an emerging research field. *Aging Cell* 5:97-108, 2006.
- [21] Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, Swindell WR, Kamara D, Minor RK, Perez E, Jamieson HA, Zhang Y, Dunn SR, Sharma K, Pleshko N, Woollett LA, Csiszar A, Ikeno Y, Le Couteur D, Elliott PJ, Becker KG, Navas P, Ingram DK, Wolf NS, Ungvari Z, Sinclair DA, de Cabo R. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* 8:157-168, 2008.
- [22] Spindler SR. Use of microarray biomarkers to identify longevity therapeutics. *Aging Cell* 5:39-50, 2006.
- [23] Smith JJ, Kenney RD, Gagne DJ, Frushour BP, Ladd W, Galonek HL, Israelian K, Song J, Razvadauskaite G, Lynch AV, Carney DP, Johnson RJ, Lavu S, Iffland A, Elliott PJ, Lambert PD, Elliston KO, Jirousek MR, Milne JC, Boss O. Small molecule activators of SIRT1 replicate signaling pathways triggered by calorie restriction in vivo. *BMC Syst Biol* 3:31, 2009.
- [24] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, Bemis JE, Xie R, Disch JS, Ng PY, Nunes JJ, Lynch AV, Yang H, Galonek H, Israelian K, Choy W, Iffland A, Lavu S, Medvedik O, Sinclair DA, Olefsky JM, Jirousek MR, Elliott PJ, Westphal CH. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature* 450:712-716, 2007.

【トピックス】

DNA損傷誘導性アポトーシスにおけるCHK1の限定分解によるアポトーシスシグナル制御

沖田 直之<sup>1</sup>、吉村 美幸<sup>2</sup>、渡辺 和史<sup>1</sup>、坂上 徹<sup>1</sup>、近江 恵理<sup>2</sup>、田沼 靖一<sup>2</sup>、樋上 賀一<sup>1</sup>

1、東京理科大学 薬学部 分子病理・薬物代謝学研究室、2、生化学研究室

1. 細胞のストレス応答における生死選択

様々なストレスによって引き起こされるDNA損傷は、ゲノムの恒常性を脅かす事象であり、それに対して適切な応答をすることは、生命にとって極めて重要である。事実その応答は、非常に複雑、且つ巧妙に制御されている。図1は、DNA損傷応答と細胞の運命についての概略図である。細胞がDNA損傷を受けると、細胞周期チェックポイントが起動する。このとき、細胞はDNA損傷の修復を開始する一方で、その「傷」の程度を判断し、修復完了による「生」か、アポトーシスによる「死」を選択する。しかし、これらの傷が完全に修復されずに蓄積していくと、遺伝情報に変異が入り、がん化を引き起こす危険性が高まる。このような変異に伴うリスクは、アポトーシスが誘導されるような激しいDNA損傷時の方が大きいと考えられる。すなわち、DNA損傷に対する生体防御にとって、修復の遂行による「生の継続」、及び修復の断念による「死の遂行」を確実に実行していくことが、細胞のみならず個体にとっても非常に重要となる。

我々は、これまでアポトーシス時のチェックポイント制御に焦点を当てて研究を行ってきた。本稿では、我々が発見した細胞周期制御因子Checkpoint kinase1 (CHK1)キナーゼのアポトーシス時限定分解[1]の分子メカニズムとアポトーシスシグナル制御への関与についての最新の知見とアポトーシス時の限定分解の意義について紹介する。

2. 細胞周期制御リン酸化酵素CHK1キナーゼのアポトーシス時における限定分解の発見

これまでに、DNA損傷応答においては、Ataxia-telangiectasia mutated (ATM)及びATM and Rad3-related kinase (ATR)シグナリング経路が中心的な役割を果たすことが明らかにされてきた[2, 3]。その中の重要なエフェクターキナーゼの一つがCHK1である。CHK1はN末端側にキナーゼドメイン、C末端側に自己抑制領域を有する全長476アミノ酸からなるSer/Thrキナーゼである。その下流の基質としてはp53、Histone H3、Cell division cycle 25C (CDC25C)が知られており、DNA損傷に反応して、ATRやATMによってCHK1自身

がリン酸化及び活性化され、さらに活性化CHK1がこれら下流因子をリン酸化することで、細胞周期チェックポイントを起動する(図2)。したがって、我々はアポトーシス時のチェックポイント制御に関する研究を行うにあたり、CHK1のリン酸化をチェックポイントの活性化の指標として用いていた。その中で、アポトーシスが誘導されるような濃度のDNA損傷誘導剤を処理した細胞の抽出液のウエスタンブロッティングにおいて、完全長CHK1の減少と共に、限定分解産物が増加することを見出した。このChk1の限定分解は、Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )や抗Fas抗体などのdeath receptor刺激やthapsigarginなどの小胞体ストレスによるアポトーシス誘導時よりも、cisplatinやetoposideといったDNA損傷誘導性アポトーシス時に顕著に生じた(図3)。また、細胞透過性の不可逆的caspaseファミリー阻害剤であるz-VAD-fmkによってこの限定分解が顕著に阻害されたことより、caspase依存的経路において制御されていることも判明した。これまで、CHK1のタンパクレベルでの制御機構としては、DNA損傷誘導時におけるユビキチンプロテアソーム系による分解が知られていたが[4]、今回の発見より、アポトーシス時にもCHK1のタンパクレベルを制御する機構が存在することが明らかとなった。ちなみに、Checkpoint kinase2 (CHK2)に関してはこのような現象は観察されなかった。

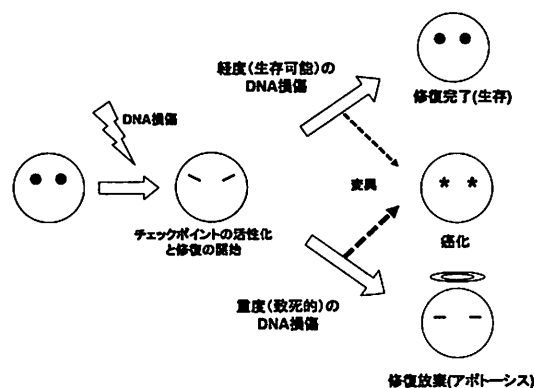


図1. DNA損傷応答と細胞運命

hCHK1....

- 細胞周期チェックポイントを制御するSer/Thrキナーゼ
- リン酸化基質; p53, Cdc25C, Histone H3

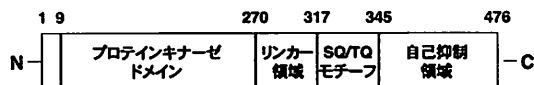


図2. CHK1の機能と構造

連絡先: 〒278-0022

千葉県野田市山崎2641

TEL: 04-7124-1501 内線6536

FAX: 04-7121-3676

E-mail: nokita7@rs.noda.tus.ac.jp

### 3. 限定分解サイト及び責任プロテアーゼの同定

まず、pan caspase inhibitorの結果より触媒酵素としてcaspaseファミリーの関与が強く疑われたので、限定分解産物の分子量及びcaspaseの認識配列であるX-X-Aspを有する配列をピックアップ(258、262、299、326、336、351、385、387)し、これらのAspをGluに変異させたFLAG、Mycタグ付きの各種変異CHK1発現ベクターをU2OSにトランスフェクション後、アポトーシスを誘導し、限定分解が阻害される変異の同定を試みた。その結果、299及び351のAspをGluに変異させたときに、限定分解が阻害されることが判明した。また、残りの一カ所site Xの限定分解はcaspaseではないアポトーシス関連プロテアーゼによって限定分解をされる可能性が示唆された。次に、責任caspaseを同定するために、アポトーシスに参与するCaspase-2、3、6、7、8、9、10とCHK1を37°Cで24時間インキュベートしたところ、Caspase-3と-7がCHK1を限定分解できることが判明した(図4)。一方で、少なくとも今回の反応条件下ではsite-Xで切断できるcaspaseは存在しなかった。これらのことから、site-Xを切断する責任酵素は、caspaseファミリーではない可能性が高いことが考えられた。アポトーシスに参与する代表的な非caspaseファミリープロテアーゼであるHTRA2に関しては、siRNAを用いた実験よりCHK1の限定分解には関与していないことがわかっており、現在プロテアーゼ阻害剤を用いて、責任酵素の絞り込みを行っている。

### 4. アポトーシス時CHK1限定分解の生理的意義

これまでに分かっているCHK1の下流シグナルの制御メカニズムについて図5に示した。DNA損傷非存在下において、CHK1はクロマチン上でHistone H3のThr11の

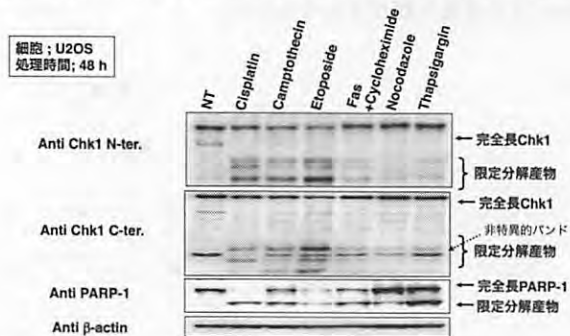


図3. アポトーシスにおけるCHK1限定分解

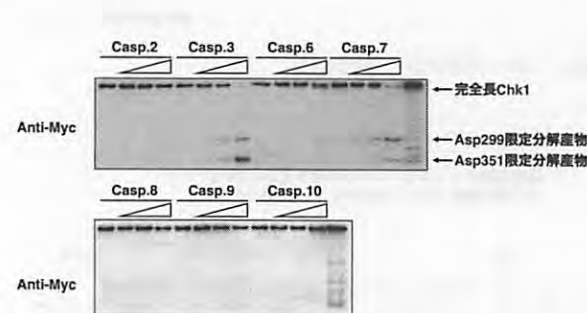


図4. In vitro caspase切断アッセイ

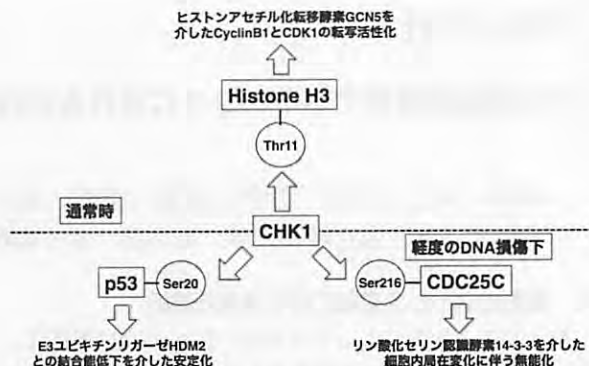


図5. DNA損傷応答におけるCHK1の下流シグナル経路

リン酸化を担うことで、Cyclin B1やCyclin dependent kinase 1 (CDK1)の転写を正に制御している。一方で、DNA損傷を受けた場合には、クロマチンからの解離により、Thr11のリン酸化メンテナンスができなくなり、これらの因子の発現は負に制御される。この他にも、DNA損傷時にCHK1はp53のSer20のリン酸化によるタンパク安定化及び転写能活性化や、CDC25Cのリン酸化によるホスファターゼ活性の下流制御を行っている。これらのシグナルカスケードがチェックポイントの起動に必要なわけであるが、CHK1限定分解の意義を考える際にはまず、アポトーシスを誘導するような激しいDNA損傷を受けた際の応答が、これらの応答と同じかどうかを解析する必要がある。最新の知見では、DNA損傷の程度によってCHK1による下流因子の制御に差異があることが分かっており、アポトーシス時には特殊なチェックポイントの制御系が存在している可能性が示唆された。今後、CHK1の限定分解の生理的意義や、アポトーシス時のチェックポイント制御系を明らかにするためには更なる解析をしていく必要がある。

### 5. 細胞周期制御因子の限定分解が有する生理的意義

これまでに、CHK1以外にもDNA損傷応答に関わる

タンパク質名	責任caspase	非caspaseファミリーによる限定分解	参照
ATM	3	ND	5
BLM	3	ND	6, 7
BRCA-1	3	ND	8
c-ABL	3, 6, 7, 8, 10	ND	9, 10
CDC25A	3	ND	11
CHK1	3, 7	Yes	1
CLSPN	7	ND	12, 13
DNA-PKcs	3	ND	14-16
MLH1	3	ND	17
p21	3	ND	18-20
p27	3	ND	18, 21
PARP-1	3, 7	Yes	22, 23
RAD9	3	ND	24
RAD51	3	ND	25, 26
RB	3	ND	27-29

表1. アポトーシス時に限定分解されることが報告されているDNA損傷応答関連因子



様々な因子がアポトーシス時に限定分解されることが報告されてきた(表1)。しかし、CHK1のようにcaspaseファミリー、非caspaseファミリーによる多重制御が報告されている因子は非常に少ない。また、非常に興味深いことに、DNA損傷応答に重要であるATR-CHK1、ATM-CHK2に着目すると、アポトーシス時に限定分解を受けるのは、CHK1及びATMである。このように、限定分解される因子、あるいは限定分解される因子が存在する経路とそうでないものの差は何なのか?この問いに答えていくには、アポトーシス時限定分解に関する研究対象を、ある特定の「タンパク質」から「経路」へとシフトし、致死率の変動だけでなく、「Quality of Death」がどのように変化するかを解析していくことも必要であろう。アポトーシス時の限定分解が、生体において実際に果たす役割を明らかにするためには、限定分解耐性トランスジェニックマウスの解析が有用であると考えられるが、その報告はまだ数少ない。タンパク質翻訳後修飾の一種であるポリADPリボシル化を司り、その限定分解がアポトーシスのマーカーとしても用いられているpoly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1)の限定分解耐性マウスは、正常に発育するが、リポポリサッカライドなどのエンドトキシンや小腸や腎臓の虚血再還流に対して高い抵抗性を示す[30]。これは、nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)が制御する炎症系のメディエータの産生の抑制に伴うものであるとされており、個体の生活環の中でもアポトーシスによる限定分解は重要な役割を果たしていることが推測される。

2003年にヒトゲノムの解説がなされ、その後も一塩基多型や疾患に関わる遺伝子変異等数多くの遺伝情報が蓄積されてきている。今後、アポトーシスのタンパク質限定分解異常を原因とする疾患が発見される可能性が高いであろう。また、限定分解を作用点とした遺伝子治療への道が開かれる可能性もあり、この分野はまだまだ発展する伸びしろを有していると考えられる。

## 6.謝辞

本研究は、「(独) 科学技術振興機構 シーズ発掘試験」及び「東京理科大学奨励研究助成」により補助された。この場を借りて深く感謝申し上げる。

## 参考文献

- Okita N, Kudo Y, Tanuma S. Checkpoint kinase 1 is cleaved in a caspase-dependent pathway during genotoxic stress-induced apoptosis. *Biol Pharm Bull* 30: 359-362, 2007.
- Dasika GK, Lin SC, Zhao S, Sung P, Tomkinson A, Lee EY. DNA damage-induced cell cycle checkpoints and DNA strand break repair in development and tumorigenesis. *Oncogene* 18: 7883-7899, 1999.
- Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature* 432: 316-323, 2004.
- Zhang YW, Otterness DM, Chiang GG, Xie

- W, Liu YC, Mercurio F, Abraham RT. Genotoxic stress targets human Chk1 for degradation by the ubiquitin-proteasome pathway. *Mol Cell* 19: 607-618, 2005.
- Smith GC, d'Adda di Fagagna F, Lakin ND, Jackson SP. Cleavage and inactivation of ATM during apoptosis. *Mol Cell Biol* 19: 6076-6084, 1999.
- Bischof O, Galande S, Farzaneh F, Kohwi-Shigematsu T, Campisi J. Selective cleavage of BLM, the bloom syndrome protein, during apoptotic cell death. *J Biol Chem* 276: 12068-12075, 2001.
- Freire R, d'Adda Di Fagagna F, Wu L, Pedrazzi G, Stagljar I, Hickson ID, Jackson SP. Cleavage of the Bloom's syndrome gene product during apoptosis by caspase-3 results in an impaired interaction with topoisomerase III- $\alpha$ . *Nucleic Acids Res* 29: 3172-3180, 2001.
- Zhan Q, Jin S, Ng B, Plisket J, Shangary S, Rathi A, Brown KD, Baskaran R. Caspase-3 mediated cleavage of BRCA1 during UV-induced apoptosis. *Oncogene* 21: 5335-5345, 2002.
- Barilà D, Rufini A, Condò I, Ventura N, Dorey K, Superti-Furga G, Testi R. Caspase-dependent cleavage of c-Abl contributes to apoptosis. *Mol Cell Biol* 23: 2790-2799, 2003.
- Requirement of caspase-mediated cleavage of c-Abl during stress-induced apoptosis. Machuy N, Rajalingam K, Rudel T. *Cell Death Differ* 11: 290-300, 2004.
- Mazars A, Fernandez-Vidal A, Mondesert O, Lorenzo C, Prévost G, Ducommun B, Payrastra B, Racaud-Sultan C, Manenti S. A caspase-dependent cleavage of CDC25A generates an active fragment activating cyclin-dependent kinase 2 during apoptosis. *Cell Death Differ* 16: 208-218, 2009.
- Clarke CA, Bennett LN, Clarke PR. Cleavage of claspain by caspase-7 during apoptosis inhibits the Chk1 pathway. *J Biol Chem* 280: 35337-35345, 2005.
- Semple JI, Smits VA, Feraud JR, Mamely I, Freire R. Cleavage and degradation of Claspain during apoptosis by caspases and the proteasome. *Cell Death Differ* 14: 1433-1442, 2007.
- Song Q, Lees-Miller SP, Kumar S, Zhang Z, Chan DW, Smith GC, Jackson SP, Alnemri ES, Litwack G, Khanna KK, Lavin MF. DNA-dependent protein kinase catalytic subunit: a target for an ICE-like protease in apoptosis. *EMBO J* 15: 3238-3246, 1996.
- Teraoka H, Yumoto Y, Watanabe F, Tsukada

- K, Suwa A, Enari M, Nagata S. CPP32/Yama/apopain cleaves the catalytic component of DNA-dependent protein kinase in the holoenzyme. *FEBS Lett* 393: 1-6, 1996.
16. Han Z, Malik N, Carter T, Reeves WH, Wyche JH, Hendrickson EA. DNA-dependent protein kinase is a target for a CPP32-like apoptotic protease. *J Biol Chem* 271: 25035-25040, 1996.
  17. Chen F, Arseven OK, Cryns VL. Proteolysis of the mismatch repair protein MLH1 by caspase-3 promotes DNA damage-induced apoptosis. *J Biol Chem* 279: 27542-27548, 2004.
  18. Levkau B, Koyama H, Raines EW, Clurman BE, Herren B, Orth K, Roberts JM, Ross R. Cleavage of p21Cip1/Waf1 and p27Kip1 mediates apoptosis in endothelial cells through activation of Cdk2: role of a caspase cascade. *Mol Cell* 1: 553-563, 1998.
  19. Gervais JL, Seth P, Zhang H. Cleavage of CDK inhibitor p21(Cip1/Waf1) by caspases is an early event during DNA damage-induced apoptosis. *J Biol Chem* 273: 19207-19212, 1998.
  20. Zhang Y, Fujita N, Tsuruo T. Caspase-mediated cleavage of p21Waf1/Cip1 converts cancer cells from growth arrest to undergoing apoptosis. *Oncogene* 18: 1131-1138, 1999.
  21. Eymin B, Sordet O, Droin N, Munsch B, Haugg M, Van de Craen M, Vandennebee P, Solary E. Caspase-induced proteolysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 mediates its anti-apoptotic activity. *Oncogene* 18: 4839-4847, 1999.
  22. Kaufmann SH, Desnoyers S, Ottaviano Y, Davidson NE, Poirier GG. Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: an early marker of chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res* 53: 3976-3985, 1993.
  23. Lazebnik YA, Kaufmann SH, Desnoyers S, Poirier GG, Earnshaw WC. Cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE. *Nature* 371: 346-347, 1994.
  24. Lee MW, Hirai I, Wang HG. Caspase-3-mediated cleavage of Rad9 during apoptosis. *Oncogene* 22: 6340-6346, 2003.
  25. Flygare J, Armstrong RC, Wennborg A, Orsan S, Hellgren D. Proteolytic cleavage of HsRad51 during apoptosis. *FEBS Lett* 427: 247-251, 1998.
  26. Huang Y, Nakada S, Ishiko T, Utsugisawa T, Datta R, Kharbanda S, Yoshida K, Talanian RV, Weichselbaum R, Kufe D, Yuan ZM. Role for caspase-mediated cleavage of Rad51 in induction of apoptosis by DNA damage. *Mol Cell Biol* 19: 2986-2997, 1999.
  27. An B, Dou QP. Cleavage of retinoblastoma protein during apoptosis: an interleukin 1 beta-converting enzyme-like protease as candidate. *Cancer Res* 56: 438-442, 1996.
  28. Jänicke RU, Walker PA, Lin XY, Porter AG. Specific cleavage of the retinoblastoma protein by an ICE-like protease in apoptosis. *EMBO J* 15: 6969-6978, 1996.
  29. Fattman CL, An B, Dou QP. Characterization of interior cleavage of retinoblastoma protein in apoptosis. *J Cell Biochem* 67: 399-408, 1997.
  30. Pétrilli V, Hecceg Z, Hassa PO, Patel NS, Di Paola R, Cortes U, Dugo L, Filipe HM, Thiermermann C, Hottiger MO, Cuzzocrea S, Wang ZQ. Noncleavable poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates the inflammation response in mice. *J Clin Invest*. 114: 1072-1081, 2004.

## 【学会報告】

### 国際基礎老化学会(International Association of Biomedical Gerontology, IABG) :

#### 歴史と個人的感想、および第13回IABG会議の報告

後藤佐多良

順天堂大学大学院 健康スポーツ医科学研究所

第13回国際基礎老化学会会議(Congress of the International Association of Biomedical Gerontology, IABG)が2009年5月18日から20日までカナダのケベック市(Québec city)で開催された。その参加報告を書くにあたり、今年パリで開催された国際老年学会会議(World Congress of the International Association of Gerontology, IAG, 現在はGeriatricsが加わってIAGG)よりも日本からの参加者・発表者が少なく知名度も低い、我々の学会の国際版ともいえるIABGのことを書き留めておきたい。

第1回IABG会議は、1985年7月ニューヨークで開催された第13回IAG会議に先立って開かれ、私は両学会に参加した(1)。IAG会議は4年に一回開催されて、生物学・医学・社会学など老年学の幅広い分野に亘って研究発表が行われる。今年は第19回会議がパリで開催された。基礎老化学は他の老年学領域に比べて進歩が速い上に、IAG会議では研究発表に充てられる時間・スペースが少なく、会議全体の流れは参加者が圧倒的に多い老年社会学や老年医学の研究者の意向に左右されて十分な発表・討議が出来ないという問題があった。ネブラスカ大学のDenham Harman教授(“老化のフリーラジカル説”提唱者、現・名誉教授)は、こうした事情および彼の“一匹狼”的パーソナリティ(筆者の独断かもしれないが)から、IAGの生物学部門とは別に基礎老化学に特化した国際会議を開催することを提案した。彼は「会議の目的」を以下のように謳っている。

1. 基礎老化学の研究が健康寿命および活動寿命の延伸と高齢社会の社会的・経済的問題を軽減できる可能性を一般の人々に理解してもらう。
2. 基礎老化学の研究に携わっている世界の研究者の情報交換を促進する。

この組織はIAGのように一国を代表する団体が集まって構成されたものではなく、世界各国の老化生物学に関心をもつ個人が任意に集まって作られた学会である。会長(理事長)は、会議の世話人が次の会議まで務め、理事会組織も有志の集まりの感がある、会議の終わりに次回の世話人を選ぶこと以外に特に役割をもたない。後述の会議録以外は学会誌も発行していない。第1回会議は、Harman自ら、Helen夫人とともに会場の入り口の小さなテーブルで受付をするというような手作りの会議であったように記憶する。それでも参加者は150名超え

て基礎老化学への関心の高さがうかがわれた(1)。日本からの参加は故木谷健一先生と私の他1,2名だった。木谷先生は招待講演(「消化器系の加齢変化」)をされた。

以来、2年に一度、“理事会”の推薦による世話人によって世界各地で開催されてきた(日本では国立長寿医療研究センター(現・国立長寿医療センター研究所)が開設された1995年に初代センター長木谷先生を世話人として幕張で開かれた(2))。IABG会議は創設以来、参加者の便宜のために、IAG会議開催年には、同時期に同じ場所で開かれてきたが、前々回(2005年)にIAG会議が南米(リオデジャネイロ)で開かれた時は、地理的不便さから初めて時期も場所も別にして開催された(第11回会議、オーフス(デンマーク))。今回も同様(IAG:パリ(7月); IABG:ケベック市(5月))であった。開催時期・場所をIAGと袂を分かつようになった前後から、“Harman哲学”の影響が弱まり、IABG会議が変容してきたような気がする。生物学的老化の本質を究めようという姿勢から、自分の研究を“流行”の老化研究に関連付け、老化研究もしています、という姿勢の研究や、第10回会議世話人のAubrey de Greyのようにヒトの寿命は大幅に延ばすことが出来ると安易なアンチエイジングを謳う姿勢の研究発表が多くなった。世代交代が進んだ結果ともいえるが、本格的な老化研究者の参加が少なくなり、生物学的老化の本質に触れるような研究発表が減ったのは残念である。なお、2001年の第9回会議(バンクーバー、カナダ)は、85歳のHarman博士が自ら掲げた会議の目的に沿って基礎老化学の重要性を強調して世話人を買って出て、自身でシンポジウム講演を行うとともに500ページを超える会議録を編集した。高齢にしてなお学問に対する情熱を持ち続けていることを示した点で印象に残る会議であった(3)。

IABG会議録は、第2回がオランダの老化研究所TNO刊でTrends in Biomedical Gerontology vol.1として、また第4回以降は会議テーマをタイトルにNew York Academy of Scienceの会議録シリーズとして出版されている(第1回と3回は出版なし)。

以上、第12回(2007年、ギリシャ)を除いて全ての会議に参加してきた一人としてIABGの始まりと変遷について個人的感想を交えて述べた。

以下は、今回の会議の報告(抜粋)である。世話人はLaval大学(カナダ)のRobert Tanguay教授。会議の

テーマは“Aging, cancer and age-related diseases: common mechanisms?”。参加総数106名で、カナダからの参加者が半数を超え、日本からの参加は筆者一人だった(事務局発表)。参加者が開催国にこれほど偏っていることはこれまでの会議にはなかった。なおHarmanは第10回までは必ず出席して自ら講演を行い会議をリードして来たが、さすがに高齢の上、長距離旅行には体調万全とはいえなくなったため前回、今回は姿を見せなかった。

会議は11セッションの招待講演(39題)とポスターセッションから選ばれた口頭発表(17題)およびポスターセッション(32題)から成り、朝8時から午後5時まで3日間にわたって行われた。冒頭のセッションでCollin Farrelly (Queen's大学政治学部・カナダ)は社会科学の立場から高齢社会における老化研究のもつ意義について、がんがなくなっても寿命は3年延びるだけだ(アメリカの場合)という例を挙げて(日本の場合については文献4参照)、個々の加齢関連疾患への対処よりも老化そのものの研究に力を入れる方が健康寿命の延伸には効果的だと論じた。にも拘わらず、NIHの総予算のうちわずか0.1%が長寿科学に投資されているに過ぎないという、日本にも当てはまる状況を指摘した。日本の社会老年学研究者や政府機関に影響力のある老化研究者の方々にもこうした視点を持っていただけるとありがたいのだが。

“Model systems and approaches in aging research” sessionでは、Siegfried Hekimi (McGill大学・カナダ)が線虫のSOD gene (5つある)を別々にあるいは組み合わせさせて変異させても寿命は短縮しないこと、sod-2 mutantは酸化マーカーが上昇するのに寿命は延長すること、マウスのmitochondria MCLK1 gene (線虫のCLK-1 geneのorthologue)の(+/-) mutantでは酸化ストレスが亢進しているが寿命が延びていることなどを示して、老化のミトコンドリア酸化ストレス説は支持されないと結論した。Brian Clark (Aarhus大学・デンマーク)は、健康長寿の分子メカニズムを探るためにヨーロッパを中心としたプロテオミクス・コンソーシアム“Proteome” projectを立ち上げた。In vitro細胞老化系を中心的モデルとして各種パラメータ(個々のタンパク質濃度・翻訳後修飾・相互作用・代謝回転など)に注目したいということだが、まだ具体的な成果は上がっていないようである。“健康長寿”を掲げているが、なぜ個体老化を対象にしないのか疑問である。”Metabolic interventions” sessionでは、Lloyd Demetrius (Harvard大学・USA)が持論のmetabolic stability theory of agingに基づいてカロリー制限の抗老化・寿命延長効果は生物のもつ代謝安定性によって決まるという考えを披露。彼はmetabolic entropyという概念を導入し、それが最長寿命と正の相関をすると指摘する。ヒトのように安定性の高い生き物(low entropy species)では、安定性の低いげっ歯類(high entropy species)と違ってカロリー制限のような外的影響で寿命が大幅に変わることはない主張する。Suresh Rattan (Aarhus大学・デンマーク)は、細胞老化系でマイルドな熱ストレスがストレスタン

パク質の誘導合成を通じてホルミシス効果を生み、細胞がストレス耐性になることから、老化分野にホルミシスの考えを導入したが、今回特に新しい発表はなかった。Nobert Dencher (Darmstadt工科大学・ドイツ)は、長崎大学の下川教授と共同でミトコンドリアの呼吸鎖複合体の構成がカロリー制限の抗老化作用と関係する可能性について論じた。私はミトコンドリアタンパク質のアセチル化がカロリー制限によって大幅に増加することがその抗老化作用と関係する可能性について述べた。”Stress resistance and aging” sessionでは、Tom Johnson (Colorado大学・USA)が、同一環境下で飼育された遺伝的に均一な線虫の個体別寿命が大幅に異なる仕組みは何かという確率論的疑問に答えるために、熱ショックタンパク質遺伝子のプロモータにつないだ蛍光タンパク質遺伝子(reporter gene)の発現を指標にして研究した。遺伝的に同一の個々の株は発現レベルが幅広く分布し、一個の株に由来する集団内での発現分布も幅広かった。異なる位置に導入されたreporter gene(赤と緑の蛍光タンパク質遺伝子)の発現強度は同一個体内ではよく似ていたため、転写因子のような共通要因が関係していると考えられるという。遺伝的に均一のはずの個体の寿命のバラツキの原因が遺伝子発現のバラツキによるのかどうかは明らかでないが、現在種々の角度から研究中である。私見：ヒトや動物の寿命に対する遺伝の寄与率は20-30%とされている。残りが環境と確率と考えて、確率の影響がどのくらいか、興味がある。確率の中身にはエピジェネティックな変化を引き起こす化学的変化もあると思われるが、寿命が違う個体の死因に違いがあるのかも含めて研究の発展を期待したい。”Protein quality control in aging” sessionではHeinz Osiewacz (Johann Wolfgang Goethe大学・ドイツ)がPodospira anserinaというカビをモデルにした老化研究でミトコンドリアタンパク質の品質管理に関して、異常タンパク質分解酵素として知られるミトコンドリアのLon proteaseを過剰発現させると寿命が延びること、酸化ストレスの指標に使われるaconitaseの活性が上昇することなどを報告した。世話人のRobert Tanguayは、老化研究者というよりもストレスタンパク質の専門家だが、ショウジョウバエのミトコンドリアの熱ショックタンパク質HSP22を過剰発現させると高齢での運動能が高く保たれて、寿命が延びることを報告した。”Chaperons and protein folding in neurodegenerative diseases” sessionではAvi Chakrabarty (Toronto大学・カナダ)が蛍光プローブanilino-naphthalenesulfonate (ANS)を使ったタンパク質のミスフォールディングを生き細胞内で検出する方法について述べたほか、Tali Gidalevitz (Northwestern大学・USA)が線虫の長寿変異株age-1でHSP-1 RNAiによって熱ショックタンパク質の発現を抑えると長寿化は消失すると報告するなど、タンパク質凝集と老化に関わる発表が多くあった。”Oxidative stress, DNA damage and repair” sessionではDNA修復研究の大御所Vilhelm Bohr (NIA・USA)が修復変異とヒトの早老症候群に関して概説し、線虫の長寿変異株

age-1 やdaf-2で紫外線傷害修復能が亢進していること、色素性乾皮症遺伝子の欠損で線虫の寿命が縮まることなどを述べ、老化におけるDNA修復の重要性を強調した。

最終日、sessionが始まる前にIABGの長老Brian Clark (前述) が今回欠席のDenham Harmanについて、次第に知る人が減っていると思うが、と前置きして、IABGを創始したこと、彼の略歴、酒もタバコもたしなまず、10年前の82歳まで一日2マイル走っていたこと、体重は130ポンド(約63キロ)に維持して健康管理にとめていること、などを紹介した。午後は“What's next? Healthy aging” sessionで 前述のAubrey de Grey (Cambridge大学・UK) の“再生医療は老化に対抗できるか”という講演や百寿者研究のClaudio Franceschi (Bologna大学・イタリア) の話があったが、残念ながら、私は翌日ポストンで用がありケベックを離れたため聞けなかった。

新型インフルエンザ発生とパンデミックが懸念される中で行われた会議で(開催中、茶飲み話にもならなかったが)、日本から参加予定のRenu Wadhwa博士(産総研)が海外渡航自粛措置で来訪出来ず講演がキャンセルされるハプニングがあった。“流行地”のカナダ・アメリ

カに出かける筆者も大学から医療従事者用のN95マスクを支給されるなど、学問以外でも記憶に残る会議参加であった。

今回は、2011年にBrighton大学(UK)のRichard Faragher(細胞老化の研究者)を世話人として開催される。

註

- (1) 後藤佐多良：第1回国際基礎老化学会議および第13回国際老年学会議—生物学関連領域について AG-ING 4 (1): 52 (1986-7)
- (2) Kitani K, Aoba A, Goto S (eds.): Pharmacological Intervention in Aging and Age-associated Disorders. Ann NY Acad Sci. 786: 1-464 (1995).
- (3) Harman D: Increasing Healthy Life Span: Conventional Measures and Slowing the Innate Aging Process. Ibid. 959: 1-525 (2001).
- (4) 後藤佐多良：高齢社会における基礎老化学の役割. 日本老年医学会雑誌 43: 289-292 (2006)

## 【学会報告】

### 第32回日本基礎老化学会を終えて

石井 直明  
東海大学医学部

本年6月18日より20日まで第26回日本老年学会、そして分科会として第32回日本基礎老化学会が開催されました。本年は老年学会が50周年を迎え、また横浜開港150周年という記念の大会となり、5,220名もの参加があったと学会から最終報告がありました。初日の18日は老年学会が開催され、多くの講演の他に各学会から選出した痴呆症をテーマとしたポスターの発表があり、基礎老化学会会員の三浦正巳先生(東京都老人総合研究所)が優秀賞を授与されました。19日と20日に各学会の分科会が開催され、基礎老化学会は145名の参加者がありました。日本基礎老化学会は韓国基礎老化学会と連携しており、今回は10名の韓国研究者を招待して日韓合同シンポジウムを開きました。韓国からは学生も5名参加してくれました。

一般口頭発表とポスター発表に加えて、国内外にいる新進気鋭の若手研究者を演者として迎え、カロリー制限など抗老化に関するシンポジウムを開きました。またアメリカのNIHから天然資源から抗老化物質の探索研究で有名なSige Zou博士、水素水の研究で大きな注目を集めている日本医大の太田成男教授のお二人に特別講演をお願いしました。それぞれ活発な議論が行われ、特に多くの若い人たちに参加していただき、発表の質も大変高く、基礎老化研究のさらなる発展を予感させてくれた学会となりました。

今回、議論をする時間が十分取れなかったことは大きな反省事項だと思っています。老年学会開催のときは日本基礎老化学会に与えられた期間は2日しかないにもかかわらず、韓国との合同シンポジウムも考えると、一般発表に費やせる時間はあまりありませんでした。ポスター数を増やすことで口頭発表の時間を増やすことを考えたのですが、1枚のポスターパネルの設置に一人の参加費に匹敵する費用が必要という経済的な理由から、こ

れ以上ポスター数を増やすことができなかったという事情がありました。一方ではポスター発表は若手の発表の訓練にはならないという意見もありますので、今後、日本基礎老化学会としてどのような発表形式が最適なのかを考えていく必要があると思います。老年学会は日本基礎老化学会、日本老年医学会、日本老年社会学会、日本老年歯科学会、日本老年精神医学会、日本ケアマネジメント学会の6つの老年学を担う学会ですが、新たに日本老年看護学会も加わることから、次回は平成23年にさらに規模を大きくして東京・新宿副都心で開催されます。日本基礎老化学会は他の学会に比べて参加者が少ないですが、この学会で果たす役割・貢献度は高いことを示す必要があります。そのためには他の学会からも興味をもたれる質の高い発表をしていくことだと思います。

今回の大会では副会長を川田浩志准教授(東海大学医学部内科学系血液腫瘍内科)が、事務局として安田佳代技術員とコロラド大学留学から帰国したばかりの石井恭正助教が務め、私の研究室メンバー全員が協力してくれました。本年は老年学会開催の年ということで、他学会や学会支援会社との打ち合わせが大変でしたが、パシフィコ横浜で開催されたために参加費・学会補助金のみでは賄え切れない経費がかかりその調達にも苦勞しました。幸い、学校法人東海大学総合研究機構から補助金を受け、また多くの企業のご支援を賜り運営が可能となりました。ここで改めてお礼申し上げますと共に、学会を盛り上げていただきましたすべての参加者の方々に厚く感謝の意を表します。

第32回日本基礎老化学会大会長・日本基礎老化学会理事長  
医学部基礎医学系分子生命科学・教授 石井 直明  
2009年7月16日

【随 筆】

老化研究事始め—低カロリーで霊長類の寿命延長

三井 洋司  
徳島文理大学 香川薬学部

はじめに

前回までに、加齢で減少するホルモンの補充療法やサプリメント（いわゆる健康食品として）の摂取によって、老化を遅延させ、寿命を延長するとの喧伝にのるのは、かなり危険な賭けだろうと、論じました。更に、活性酸素のように、DNA塩基、特にテロメア配列のGGGTTA構造を傷害する作用を持つ分子について、その消去を目指した抗酸化剤の摂取も、多数の治験報告が有りながら、人間の健康に有効との結論は得られていないと述べました。本稿の読者は、自分の家族、友人にどのようなアドバイスをできるでしょう。単なる健康寿命の延長でなく、ヒト最高寿命の延長には、細胞移植や遺伝子操作、発生の学的操作、等しか取る手段は無いのでしょうか？

第16話 カロリー制限食と運動にどんな違い？

お気づきのように、カロリー制限によってラットの寿命を延長出来る事を示した最初の科学的論文が、1935年、米国の栄養学者 MacCayによって発表されています。その重要性が再認識されて以来、酵母、線虫、ショウジョウバエ、魚類、更にはマウス、ラットの哺乳動物に至る迄、いろいろな条件が検討された上、その再現性が幾度も確認されてきています。今では、動物の老化を遅らせ、最大寿命を延長させる唯一の普遍的な方法として注目されています。人間への適用が真剣に検討されている現在の状況で、アカゲザルをモデルとした霊長類の実験結果は、極めて重要な示唆を与えてくれる筈です。

げっ歯類での実験結果によると、栄養素が不足しない範囲で、カロリー制限の率が大きい程、又、年齢的により早く実施される程、その寿命延長効果が高くなると分かっています。老い先短い我々は、早く結論を知りたいものです。しかし、その寿命延長の程度は、10%から60%と、動物の系統や、遺伝的バックグラウンドで異なってしまいます。結局、ヒト種では本当にどうか、また、欧米人でなく日本人ではどうかという、効果の最終結論が必須である事を示しています。

ここで、多くの人が誤解をしていると思う点を、述べておきましょう。適度な運動は健康に良いと謳われています。しかし、運動によって脂肪を減らし、カロリー制限と同様にスリムになれば、おなじ寿命延長効果が得られるかという、其れは違います。運動で体脂肪を燃焼させ、スリムになれば、慢性疾患の防止に役立ち、健康寿命や平均寿命は延びるけれど、カロリー制限と違って、最大寿命は延びないのです。

もう一つ誤解され易いのは、カロリー制限法がいわゆる世間のダイエットと同類だろうと思われ易い事です。

栄養価の無いものを多く食べる事がここでいうカロリー制限ではありません。むしろ、十分な栄養素を確保、具体的には「全ての栄養素について食事摂取基準値を確保」した上で、エネルギー総量を減らす事なのです。減らすエネルギー源は、実験的にはタンパク質、脂肪、炭水化物のどれでも構わないようですが、炭水化物を60%、タンパクと脂肪はそれぞれ約20%程度にバランスを取って、カロリー総量を減らすのが良いと私は考えています。さて、そうしたカロリー制限食で、何が起こるのでしょうか？

第17話 寿命はなぜ延長する？

MacCayがラットでカロリー制限食（CR）による寿命延長を発表した頃は、多くの科学者はその重要性に気がつきませんでした。しかし、線虫やショウジョウバエなどで寿命延長が確認され、寿命遺伝子なども議論されるようになり、哺乳類での研究が重視され、加速されました。そして、寿命延長が確かな科学的事実として再確認されると、どうして其れが起こるか、と不思議にも思われました。

日本でも以前より言われる「腹八分目の健康法」と同一視されそうですが、単に健康寿命の延長でなく、CRでは最大寿命の延長をきたしますから、生物学的な意義は質的に異なります。

不規則な餌不足が常態化していたであろう動物の生活史から考えると、今の飽食状態の連続こそが異常な例外です。生物は、餌不足のとき、どう適応するように進化したのでしょうか。

餌不足の時は、この状態で次世代を作れば餌不足が加速しますから、其れを避ける為に、一時的にも生殖機能を低下させ、生殖可能期間を先延ばしにするのではないのでしょうか。この先延ばし時期に、加齢の進行が押さえられる機序が有るのでしょうか。これが生物適応から考えた寿命延長の遠因にあたると思われる。

第18話 寿命延長にどのような機序が働くか

では、このCRによって、いったいどのような変化が起こるかを、いろいろな視点から考えてみましょう。まず、代謝面からそれを考えれば、血中グルコースの維持は必須です。グリコーゲンはずぐにでも枯渇しますから、タンパク質や脂質の分解産物を經由する糖新生が亢進するに違い有りません。また、糖の分解によるエネルギー産生は、糖新生經由の血中グルコースでは不十分だろうし、ATPへの変換効率も悪いですから、先に蓄積していた体脂肪を分解して、 $\beta$ -酸化によるATP産生に切り替えざ

るを得ないでしょう。(心筋細胞ではCRでなくとも、この $\beta$ -酸化をエネルギー生産に利用しています)。

神経内分泌系から言えば、CRとなれば当然、摂食中枢の視床下部が応答するでしょう。脂肪が消費されるので、脂肪細胞から分泌されるレプチンは低下します。それによってレプチン受容体の有る視床下部では摂食活動を高めようとしますが、レプチンの低下は、同時に、性ホルモンの分泌低下、そして生殖機能の低下をまねくこととなります。別のホルモン系で言えば、カロリー不足で、同化ホルモン系の必要度は下がりますから、インスリン、IGF-1、T3も下がってきます。運動機能を押さえ、消化吸収の効率を上げる為に、交感神経系の伝達物質であるノルエピネフリン (NE) を下げてきます。同時にこのNEの低下は、褐色脂肪細胞での熱産生を下げますから、体温が低下します。こうした一連の応答は、カロリー摂取の減少に合わせて、エネルギーの消費量も下げ、エネルギーの使用優先度を変更し、かつ効率的に使用しようとする適応結果と思われます。一方、視床下部の応答結果で、おそらくCRF、ACTHを介して、血中コルチゾールの上昇が有りますから、ストレス応答反応が作動します。

したがって、いろいろな面でストレス耐性が高まる筈です。それと同時に、各種の炎症反応も抑えてくれる筈です。

当然、CRにも限度が有りますから、過度になりすぎれば、ストレスホルモンのコルチゾールは身体に破壊的に作用します。リンパ球系の破壊、タンパクの分解等様々です。青春のさなかにプログラム死する事で知られる魚のシャケは、受精後にステロイドホルモンが大量分泌されて、死ぬ運命ですから、この場合はストレス耐性ホルモンでなく、死のホルモンとなる訳です。

これ迄に述べた細胞や分子レベルの変化は、げっ歯類動物でCRにより得られるいろいろな視点からの知見を、実感として分かるように、辿ってみたものです。(当然、寿命延長に関わる分子として、SIRT1,mTOR、PGC-1 $\alpha$ が気になるでしょうが、この文脈からは触れないでおきます。)

これらの結果、ラット等は がん、動脈硬化、脳卒中、心臓病等の慢性疾患の発症が遅れ、平均寿命の延長だけ

でなく最大寿命の延長も起こっているのです。

## 第19話 アカゲザルの死亡率、20年の総括

Wisconsin大学で20年前に始めた霊長類でのCR効果について、アカゲザルのモデルを使った研究論文がScienceの2009年7月号に報告されました。かいつまんで紹介してみましょう。

平均寿命27歳、最大寿命40歳というアカゲザルを76匹使って得られた結果です。およそ10歳頃のアダルトになってからCRを始めています。

各個体について、通常の摂取量を測定後、カロリーをその10%減で1ヶ月、次の1ヶ月で更に10%と段階的に減らし、最終的に30%減の餌を与え続けて約20年後の結果です。今、平均寿命を少し超えたところですから、人間で言えば、現在最長85歳程度になっている状況です。

20年間にわたるいろいろな疾病の発症率や死亡率等を算出しています。

その結果、CR摂取によって、外観は若々しく見え、さまざまな悪性腫瘍、心血管病、糖尿病、そして脳萎縮などの老化関連疾病の発症が著しく遅くなっており、死亡率は大きく減少しています。

この状況では、平均寿命の延長は、おそらく確実でしょう。

しかし、こうした加齢に伴う慢性疾患の減少だけでは、最大寿命が延びるか否かは、まだ結論出来ない事も、明らかです。

個人的な印象では、自分も試してみたいくなるようなデータ提示です。

果たして、危惧されている筋肉の脆弱化、骨量の減少、免疫機能と生殖能の低下はどうなっているのでしょうか。本文には触れられていません。

この後、15年、遅くとも20年たてば、霊長類で最大寿命の延長が起きるかどうか、また、質的にも遜色のない生活が送れそうか、詳細な報告が公表されそうです。

そんなに待てないあなた(いや私も)、今回はこのCR効果を人間自身で確認する二つの運動、すなわち、自発的な実践者の会、及びNIH支援による大学病院での大規模CR治療の結果をご紹介します。



【研究室紹介】

東京大学医学部附属病院22世紀医療センター

抗加齢医学講座

井上 聡 特任教授

抗加齢医学講座は、2006年に東京大学医学部附属病院22世紀医療センターに設立された寄附講座で、東京大学本郷キャンパス病院地区の中央診療棟（II）8Fに研究室を有し、同病院老年病科を協力診療科、同大学大学院医学系研究科加齢医学講座を協力講座としている。

肥満、糖・脂質代謝異常、メタボリック症候群、骨粗鬆症、変形性関節症、動脈硬化症、認知症、加齢黄斑変性症、前立腺癌、乳癌ならびに易感染性といった各臓器の加齢変化に伴い発症する疾患の遺伝的素因と環境要因の両面を解明し、そのメカニズムを探求するべく研究を行っている。特に性ホルモンをはじめとする内分泌因子、核内受容体とそれらの標的因子、関連因子が個体老化と疾患に果たす役割に関して重点をおいている。また個体の老化メカニズムについて探り、個体、臓器、細胞の各レベルでの老化の基礎研究を進めるとともに、様々な疾患の予防、健康のための医学を目指している。これらの成果は、疾患の診断ならびに治療への臨床応用へと結びつき、このようなアプローチにより、臨床と基礎の基盤のもとに抗加齢医学としての新しい分野の学問を確立することを本講座の目的としている(図1)。

研究

人は加齢に伴い、各臓器における変化が進行し、健康を損なう様々な状態を同一人に重複して引き起こすようになる。代謝の加齢における代表的な変化として肥満と糖・脂質代謝異常があげられる。一方、運動器の加齢における代表的な疾患としては骨粗鬆症(Osteoporosis)、変形性関節症(Osteoarthritis)、筋減少症(Sarcopenia)等がある。また、前立腺癌や乳癌といった癌も加齢とともに発症頻度は増加し、生活の質(Quality of daily living)ならびに生命予後を大きく左右する。以上のように、

肥満、糖・脂質代謝異常、骨粗鬆症、変形性関節症、筋減少症、前立腺癌ならびに乳癌は、各臓器の加齢変化として捉えることが出来る一面をもつ。これら疾患は遺伝的要因と生活習慣がその発症基盤に存在していると考えられている。当講座ではこのような疾患の発症メカニズムを探求し、その予防、診断、治療へと結びつく臨床応用をめざした研究を行っている。特に、抗加齢医学の分野では、いまだ病気になっていない段階で健康長寿を目指して対応していく予防医学のアプローチ、ならびに個体、臓器、細胞の各レベルでの老化のメカニズムを探るアプローチを重視している(図2)。

これらを達成するため、エストロゲンやアンドロゲンといった性ホルモンをはじめとする内分泌因子が老化と疾患に果たす役割に関して重点をおいている。性ホルモンは核内受容体をその作用点とし、それら受容体の入り口から出口までをネットワークとして探っている(図3)。



図2

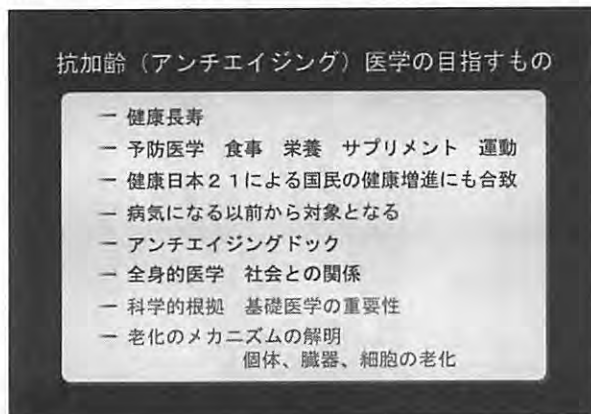


図1

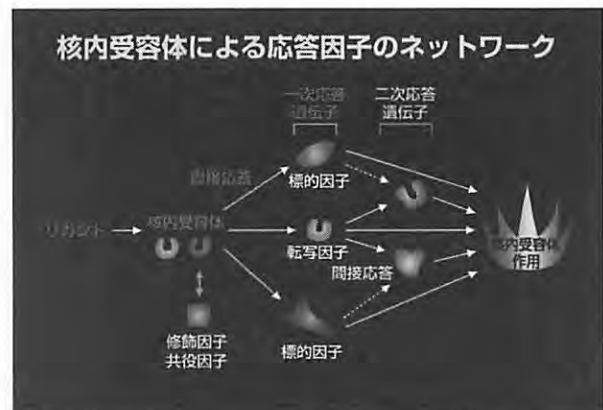


図3

研究の手法としては、これら核内受容体の標的因子とその機能解明に力を注ぎ、ゲノムDNA、RNA、蛋白質の多面的レベルでの系統的探索を行っている(図4)

エストロゲンに関する研究において、独自に標的遺伝子群を見出してきた。特に、ゲノム結合部位クローニング法を開発し、同手法によりEstrogen-responsive finger protein (Efp/TRIM25)を発見し、その生体、病態での役割に関して多くの知見を得ている。すなわち、Efpが乳癌(図5)やインフルエンザをはじめとするウイルス感染症の発症や進行において重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、EfpはTRIMファミリーという蛋白質の一員である。TRIMファミリーはヒトでは約60種類程度存在する。我々はEfp以外のTRIMファミリーである、TRIM5 $\alpha$ 、Terf (TRIM17)、TRIM44といった蛋白質の癌や自然免疫、老化と老年病における機能解析を進めている(図6)。

アンドロゲンに関する研究においては、免疫沈降法とゲノムタイリングアレイ(DNAチップ)を組み合わせ、ヒトゲノム上のアンドロゲン結合部位を検出するChIP-chip法で標的因子の系統的同定に成功した。そこで、UGT1A1、CDH2、APP、FOXP1といった新規アンドロゲン応答遺伝子をゲノム上から包括的に同定し、その新規機能と前立腺癌における臨床的意義を明らかにしている。

さらに、骨粗鬆症治療薬でもあるビタミンKが、核内受容体ステロイドXレセプターを介して働く、新しい作用

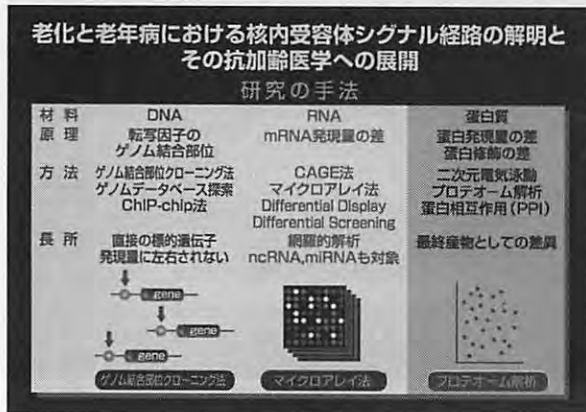


図4

乳がん治療の新規分子標的としてのEfp



図5

機構を解明し、その標的遺伝子としてTsukushiを発見した。このような、核内受容体標的因子群の探索と機能解明について図に示す(図7)。

一方、骨粗鬆症、変形性関節症、加齢性黄斑変性症をはじめとする加齢に伴い発症する疾患の遺伝的素因を探索すべく遺伝子多型(SNP/CNV)を活用したヒト遺伝解析と、それら疾患関連遺伝子、核内受容体とその標的因子、関連因子の遺伝子改変動物やES細胞、iPS細胞を用いた遺伝学、発生再生研究を進めている。

以上、当研究室はこのようなアプローチにより、抗加齢医学という新しい分野の学問の確立と、臨床応用を目指している。

TRIMファミリーの自然免疫・ウイルス防御作用メカニズムの解明

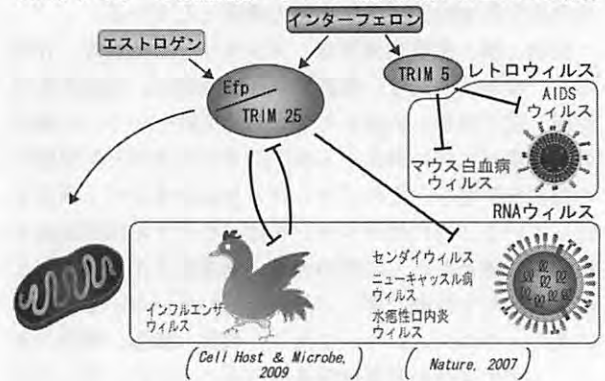


図6

核内受容体の標的因子・シグナル経路探索に基づく加齢性疾患における新規分子標的の発見

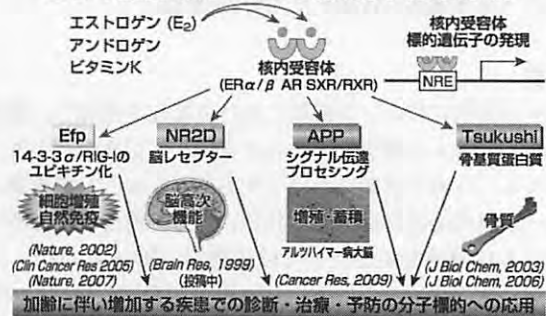


図7



図8

## 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33巻 第3号

平成21年（2009）9月30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