

第 36 回日本基礎老化学会大会

発表抄録

特別講演

ランチョンセミナー

日韓合同シンポジウム

市民公開講演会

口頭発表

ポスター

**The 36th Annual Meeting of
the Japan Society for Biomedical
Gerontology**

ABSTRACTS

【特別講演】

酵母から見えてきたオートファジーの世界

東京工業大学フロンティア研究機構

大隅 良典

生命活動は、絶えざる遺伝子発現によって維持されているが、同時に等量のタンパク質が壊れていることは意外に意識されない。生体は合成と分解の平衡状態にあり、構成要素は常に代謝回転しており、これは生命の本質的な性質である。

オートファジーはリソソームなどでの細胞質成分の主要な分解経路である。C. de Duveによってリソソームが発見され、50年前に細胞自身の成分が、リソソームへと送られる機構として電子顕微鏡観察からオートファジーと名付けられたが、その後オートファジーの理解は容易に進まなかった。

私は酵母が栄養飢餓に伴って、動物細胞と同様な膜動態を伴うオートファジーを誘導することを見いだした。酵母の利点を生かしオートファジー不能変異株が網羅的に得られ、初めてその課程に必須な ATG 遺伝子群が明らかになった。これらの遺伝子は高等動植物に至るまで広く保存されており、オートファジーが進化的に真核細胞の出現の初期に獲得されたことが分かる。これら遺伝子の同定は従来のオートファジーの研究の質を一変させた。即ち遺伝子のノックダウン、ノックアウト細胞、個体を作ることによりオートファジーの生理的な役割の解明が一気に進んだ。オートファジーの特性は単にタンパク質の分解過程でなく、細胞の超分子、オルガネラなどの大きな構造を分解できることにある。従って、オートファジーが単に飢餓時のアミノ酸などの供給による生存維持のみならず、細胞浄化、オルガネラの制御、感染防御、発生、老化、さらには様々な病態に関わることが明らかになりつつある。オートファジーが細胞の持つ基本的な機能であるので、さらに今後多様な生命現象に関わることが明らかになるに違いない。私はオートファジーの基本問題を解きたい思いから酵母に特化してこれまで研究を進めてきた。オートファゴソーム形成の膜動態の理解が必須であり、その機構に関する我々の研究の現状と最近の生理学的アプローチについて概説する。

Keywords : オートファジー、ATG、タンパク質、酵母

おおすみ・よしのり 1945年2月9日生

1967年東京大学 教養学部 基礎科学科 卒業 1974年東京大学 理学博士 1974-1977年ロックフェラー大学
博士研究員 1977年東京大学 理学部 助手 1986年 講師 1988年 助教授 1996年基礎生物学研究所 教授
2004年総合研究大学院大学 教授 2009年東京工業大学特任教授

主な受賞等：2005年藤原賞 2006年日本学士院賞 2009年朝日賞 2012年京都賞

【ランチョンセミナー】

クロトー：生理機能、分子機能、病態

神戸先端医療センター

鍋島 陽一

1997年、ヒトの老化症状に類似した多彩な変異表現型を示すマウスを発見し、その原因遺伝子 *a-klotho* を同定した。*a-Klotho* は β -glycosidase のホモログであり、腎尿細管、上皮小体、脈絡叢で主に発現しており、細胞質型、細胞膜型、分泌型として存在する。*a-Klotho* は Na^+, K^+ -ATPase 複合体と結合し、PTH の分泌、腎臓でのカルシウムの再吸収、脳脊髄液へのカルシウムの輸送を制御している、また、FGF23、FGFR1 と複合体を形成してビタミン D の合成を制御しており、カルシウム恒常性の制御因子である。また、*a-Klotho* はヒトにおいても電解質制御因子として機能している。同定した全ての *a-Klotho* 結合タンパク質の糖鎖は一定の割合でグルクロン酸修飾を受けており、このグルクロン酸を *a-Klotho* のグルクロン酸結合モチーフが認識し、特異的で、安定な結合を実現しており、*a-Klotho* はグルクロン酸を認識する新規レクチンである。また、FGF23 より同定した特殊な O 型糖鎖（末端はグルクロン酸）が *a-Klotho* に結合し、*a-Klotho* を FGF23 と結合しやすい状態へとシフトさせることを見だし、「タンパク間相互作用における糖鎖の新たな機能」を発見した。次に、*a-klotho* 変異が多彩な老化症状をもたらす要因を解析、タンパク分解の顕著な亢進が多様な老化関連疾患、組織ダメージの直接要因として作用していることを推定し、阻害剤の投与により早期老化類似症状の発症を抑える事に成功した。これまでの研究を振り返り、新たな方向を議論したい。

Keywords：クロトー、電解質恒常性、 Na^+, K^+ -ATPase、FGF23

なべしま・よういち 1946年4月24日生

1972年新潟大学医学部卒業 1976年新潟大学 医学博士 1976年新潟大学医学部助手（生化学） 1978年講師 1984年癌研究会癌研究所 研究員 1987年厚生省国立・精神神経センター 神経研究所遺伝子工学研究部長 1998年大阪大学細胞生体工学センター 教授 1998年京都大学大学院医学研究科 教授 2010年財）先端医療振興財団 先端医療センター長

主な受賞等：1987年朝日学術奨励金 1998年ベルツ賞（共同受賞） 2005年上原賞 2007年武田医学賞 2009年文部科学大臣表彰科学技術賞 2009年岡本国際賞 2010年紫綬褒章 2013年日本学士院賞

JKS-1

Expressional characteristics of human mesenchymal stem cells in progerin- and cultivation induced- aging cell model

Division of Brain Diseases, Center for Biomedical Sciences, KNIH
Sang Ick Park

Aging, as one of global megatrends, has attracted much attention worldwide with increasing expectation for average life span. Aging is characterized by progressive physiological and functional decline in postmitotic tissues, which may result from loss of overall tissue homeostasis and repair capacity of stem cells. In this regard, we focused on aging of adult stem cells, especially human mesenchymal stem cells (hMSC), which have multilineage differentiation capacity. To understand an underlying mechanism by which hMSCs are aged, we first examined expressional characteristics in progerin (Lamin A mutant) -induced aging cell model, taking Hutchinson-Gilford Progeria (HGPS) into account, as well as in long cultivation induced-aging model. For progerin expression, we used lentiviral transduction system and for aging of hMSCs we cultivated cells until 16 passages. Expressional differences were examined by microarray chip analysis between GFP versus progerin transduction and between 4 passage cells (as a young cell) versus 16 passage cells, respectively. Finally, we extracted common genes, the expressions of which are simultaneously up and down regulated in both aging models. By applying the expression data and pathways into network biology, we could suggest some hub genes, modules, and signaling pathways, by which the aging of hMSC could be controlled, providing a cue to improve the efficacy of stem cell therapy in geriatric chronic diseases.

JKS-2

Enrichment and Characterization of Human Dermal Stem/Progenitor Cells

Cell Science Research Team, Amorepacific Corporation R&D Center
Dong Wook Shin

Adult skin stem cells are considered an attractive cell resource for therapeutic potential in aged skin. Several studies have reported that human dermal stem/progenitor cells (hDSPCs) with multipotent properties exist within the dermis. However, these cells have not been well characterized, because methods for their isolation or enrichment have not yet been optimized. In the present study, we developed to enrich human dermal stem/progenitor cells (hDSPCs). We found that these hDSPCs showed high *in vitro* proliferation properties and differentiate into not only mesodermal cell types, but also neuroectodermal cell types. Several analysis revealed that these cells are different from the previously identified multipotent fibroblasts and skin precursors (SKPs). In addition, to examine the effects of hDSPCs on aged skin, we demonstrated that conditioned medium (CM) derived from hDSPCs has an anti-aging effects on ultraviolet A (UVA) -irradiated NHDFs.

Taken together, these data suggest that hDSPC can exert some beneficial effects on aged skin and may be used as a therapeutic agent to improve skin regeneration and wound healing.

Keywords: Human Dermal Stem/Progenitor Cells, multipotent, Conditioned Medium, Ultraviolet A, Aging

JKS-3

Toward personalized therapies by using aged patients own iPSCs (model experiments)

Department of Immunology, Nagoya University School of Medicine
Ken-ichi isobe, Sachiko Ito, Naomi Nishio, Yuri Tanaka, Zhao Cheng, Tetsuji Okawa, Suganya Thanasegaran

When applying the iPSCs for regenerative therapy in elderly patients, it is necessary to establish the iPSCs from elderly patients themselves then differentiate the iPSCs to specific cell types for transplantation treatments. Several questions are still remained. Recent paper indicates that iPSCs from MEF of C57BL/6 mice are rejected, when these cells are injected on the back of syngeneic C57BL/6 mice. Are aged iPSCs juveniled. We examined the immunogenicity of iPSCs from different ages. We found that iPSCs from C57BL/6 mice were not rejected in syngeneic C57BL/6 mice. Also iPSCs differentiated to macrophages were not rejected in syngeneic C57BL/6 mice. We succeeded to differentiated aged iPSCs to various tissue cells including neural crest cells. Transplantation of NC cells improved the nerve function in Diabetic mice.

Keywords: aged iPSCs, transplantation, personalized therapy

JKS-4

Lifespan extension by hormesis in *Drosophila*

Department of Biological Science, Inha University
Kyung-Jin Min

Hormesis means favorable biological responses by low exposures to toxins and other stressors. From an evolutionary perspective, plants have produced phytochemicals to dissuade insects and other pests from eating them. However, the amount of phytochemicals ingested by humans is subtoxic level and the ingested phytochemicals can induce hormesis, including anti-aging effects. The effects of curcumin, pinitol and mistletoe extract on lifespan of *Drosophila* will be discussed. Curcumin, a yellow pigment extracted from the rhizome of the plant *Curcuma longa* (turmeric) has been widely used as a spice and herbal medicine in Asia. It has been suggested to have many biological activities such as anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-cancer, chemopreventive, and anti-neurodegenerative properties. D-*chiro*-inositol, a member of inositol family, and pinitol, a 3-methoxy analogue of D-*chiro*-inositol, have been proposed to have anti-diabetic, anti-inflammatory, anticancer and stamina enhancing effects. *Viscum album coloratum* (Korean mistletoe) is a semi-parasitic plant growing on various trees. This plant has been shown to possess a variety of biological functions such as immunomodulating, apoptosis-inducing and antitumor activity. The beneficial effects of these compounds/extract including extension of lifespan will be discussed.

Keywords: hormesis, lifespan, anti-aging, *Drosophila*

JKS-5

Overexpression of malic enzyme in the fat body extends *Drosophila* lifespan

Department of Physiology, College of Medicine, Korea University
Joong-Jean Park

Malic enzyme (Men) converts malate to pyruvate and produces CO₂ and NADPH. Pyruvate produced by malic enzyme is transported to mitochondria and changed to acetyl-CoA, the fuel of the TCA cycle. Citrate converted from acetyl-CoA can be transported to the cytoplasm for lipid biosynthesis. Thus, malic enzyme is involved in both carbohydrate and lipid metabolism. In *Drosophila*, Men is highly expressed in the fat body. Recently we reported Men overexpression extended fly lifespan. In the present studies, we investigated how Men overexpression made such lifespan extension. Transgenic flies expressing specifically Men transgene were crossed with fat body-specific gene-switch Gal4 driver flies. Men overexpression in the fat body during larval period was sufficient to extend adult lifespan. In addition, such condition reduced the body weight, the levels of triglyceride and expression of lipogenic genes. Moreover, mRNA levels of hsp22 and mitochondrial ROS production were increased in the fat body of Men-overexpressing larvae. Together, our results suggest that lifespan extension by Men overexpression is related to mitochondrial ROS production and reduction of lipogenesis during larval period. (Supported by Basic Science Research Program through the NRF of Korea, funded by the Ministry of Education, Science and Technology 2009-0070901)

JKS-7

Nicotinamide-induced alteration of mitochondria status exerts beneficial effects on cellular functions

Department of Life Science, University of Seoul
Ho Jin Choi, So-Young Jang, and Eun Seong Hwang

Nicotinamide (NAM) is converted to NAD⁺ through salvage pathway once taken up in cells. When administered at high doses, it exerts positive effects on survival of various cell types *in vitro* and *in vivo*. Importantly, NAM treatment increases replicative lifespan of normal human fibroblasts and keratinocytes. As for an underlying mechanism for these cell-beneficial effects, we proposed NAM-mediated improvement of mitochondria quality possibly through activation of autophagy and mitochondria structural dynamics in association with the oxygen-scavenging nature of NAM itself. Autophagy activation appears to be mediated through an increase of the cellular NAD⁺/NADH ratio and possibly an activation of SIRT1 since the treatment of NAD⁺ or Asn, which increase the NAD⁺/NADH ratio, and SIRT1 activators commonly caused similar decrease in mitochondria content. We extended our investigation on the effect of NAM to other cell types, and found that NAM treatment prevented deterioration of the properties of human mesenchymal stem cells (MSC) during continued cell cultivation *in vitro* and also potentiated activation of primary human CD8⁺ T cells *in vitro*. The change in the mitochondria quality and quantity appears to be still associated with these changes. Whether the activation of SIRT1 through the NAM-mediated increase of the NAD⁺ redox in these cells is involved is under investigation and to be discussed.

Keywords: nicotinamide, senescence, mitochondria, stem cell

JKS-6

Metabolomics approach to understanding lifespan regulation in *Drosophila*

Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University
Toshiro Aigaki

There seems to be an inverse correlation between body size and lifespan in some species. Mutations decreasing body size are likely to increase lifespan. In order to identify novel genes that extend lifespan, we conducted a misexpression screen for genes reducing body size using a collection of *Drosophila* Gene Search (GS) lines. We first identified the insertions that reduce size of wings and eyes, and then measured lifespan. Among these, we found two genes, *wdb* and *lkb1*, that extended lifespan when overexpressed ubiquitously. We provide biochemical evidence showing that overexpression of *wdb* reduces the level of phosphorylated AKT, while overexpression of *lkb1* increases the level of phosphorylated AMPK and reduces the level of dephosphorylated S6K. Our results suggested that *wdb*- and *lkb1*-dependent lifespan extension is mediated by downregulation of S6K, a downstream component of the insulin/IGF and TOR signaling pathway. Metabolomics is a powerful approach to analyze physiological conditions associated with extended lifespan phenotype. We used liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) to investigate metabolomic changes caused by mutations affecting body size and lifespan. I will present how mutations in *lkb1* and *wdb* affect organismal metabolome.

Keywords: *Drosophila*, lifespan, metabolomics

JKS-8

A novel mechanism of p53-mediated DNA repair modulated by antioxidant selenium for cancer prevention

Department of Life Science, Dongguk University
Young Rok Seo

Selenium is an essential trace element which has been considered as chemopreventive agent against cancer, due to its antioxidant activity. Among several selenium compounds, selenomethionine (SeMet) has significant protective effect toward various genotoxic stresses via stimulating DNA repair process. However, its mechanism is still not well elucidated. In this study, we examined the mechanism of SeMet in terms of p53-mediated base excision repair (BER). Our data showed that the amount of DNA damage was rapidly decreased in the presence of SeMet when methyl methanesulfonate (MMS), a BER-inducing agent, was treated in the cells. In addition, the removal of apurinic/apyrimidinic sites was significantly enhanced in p53 wild type cells in response to SeMet. Furthermore, we observed the Gadd45a, known to involve BER as one of the p53 downstream genes, was accumulated by SeMet in p53 wild-type RKO cells. Indeed the interaction of BER-mediated repair proteins including PCNA (proliferating cell nucleus antigen) and APE/Ref-1 with Gadd45a was notably decreased by SeMet in p53 siRNA-treated cells. In *in vivo* study, the frequency and size of polyp in AOM/DSS model as an animal model for colitis-related carcinogenesis was decreased in response to SeMet. Moreover, proteins related with DNA repair including Trx (thioredoxin), p53 and Gadd45a were increased in SeMet treated AOM/DSS model. Those results suggested that BER activity might be dependent on wild-type p53 under the modulation of protein complexes with Gadd45a and repair protein including PCNA and APE/Ref-1 as a distinct chemopreventive mechanism of SeMet. Our study might provide an important evidence to develop the chemopreventive strategies against various oxidative stresses.

Keywords: Selenium, p53-mediated base excision repair

JKS-9

N-Glycan processing and β -amyloid production in Alzheimer's disease

Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology (TMIG)
Tamao Endo

Alteration of glycoprotein glycans often changes various properties of glycoproteins and associates with various diseases. To understand the significance of *N*-glycosylation in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) and in β -amyloid ($A\beta$) production, at first we examined whether the mutations in the amyloid precursor protein (APP) gene found in familial AD affect the *N*-glycans on APP. We determined the *N*-glycan structures of normal and mutant APPs. In comparison with normal APP, mutant APPs had higher contents of bisecting GlcNAc residues. Because *N*-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) is the glycosyltransferase responsible synthesizing bisecting GlcNAc, GnT-III mRNA expression levels in the brains of AD patients were measured. Interestingly, GnT-III mRNA expression was increased in AD brains. Furthermore, $A\beta$ treatment increased GnT-III mRNA expression in Neuro2a. Then, the influence of bisecting GlcNAc on the production of $A\beta$ was examined. Both $A\beta$ 40 and $A\beta$ 42 were significantly decreased in GnT-III transfected cells. When secretase expressions were analyzed in GnT-III transfectant cells, mature BACE was decreased.

Taken together, these results suggest that up-regulation of GnT-III in AD brains represents an adaptive response to protect them from additional $A\beta$ production.

Keywords: Alzheimer's disease, amyloid precursor protein, bisecting GlcNAc, *N*-glycan

JKS-10

A Protective Role for PAK4 in Parkinson's disease

Department of Biochemistry, Chungbuk National University College of Medicine
Eung-Gook Kim

Loss of mesencephalic dopaminergic (mDA) neurons in the substantia nigra pars compacta (SNc) and a resultant decline in the dopamine levels in the striatum is a cause of Parkinson's disease (PD). PD patients show a characteristic motor abnormality, including tremor, muscle rigidity, bradykinesia and postural instability. The molecular mechanisms for the mDA cell death have been intensively studied, but still remain poorly understood. In the present study, we explored the function of p21-activated kinase 4 on the survival of DA neurons in the SNc. Treatment with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced cell death concomitant with a decrease in PAK4 activity in cells and in vivo. Injection of lentivirus harboring active PAK4 to the striatum prior to 6-OHDA treatment potently protected the DA cell death, as monitored by number of live cells, DA nerve terminal densities and concentrations of DA and its metabolites. More importantly, these rats showed a significant improvement in several motor function tests, including the cylinder test and the single-pellet reaching task. The results provide evidence for a protective role for PAK4 in PD progression, and suggest PAK4 as a potential target in the management of PD.

市民公開講演会「百寿者から学ぶライフスタシス」

OL1

百寿者とライフスタシス

長崎大学・医学部・神経形態学（第一解剖）
森 望

「ライフスタシス」という言葉はおそらく皆さん聞いたことがない言葉だと思います。それはそのはず。今回、「百寿者」をテーマに市民公開講演会を開催するにあたって、私が重要と思うキーワードとして造語したものです。「スタシス」とは「安定」を意味します。「ライフ」を「安定」に保つ、そのことこそが、高齢期の生活を良質に保障する源となります。言ってみればあたりまえのことですが、それは生命の本質にもつながることなのです。年をとると、身体は衰えます。脳も衰えます。脳の老化の究極は、アルツハイマー病で知られるような加齢依存性の神経変性疾患です。「認知症」あるいは「ボケ」といわれるものですが、その場合、脳の中のニューロン、すなわち神経細胞に異常な凝集物がたまっていくことが根本原因なのです。蛋白質の代謝回転（ターンオーバー）が障害されて、細胞の中が糞詰まりになる。これが「神経変性」の原因となります。しかし、生体は本来「恒常性」という、生命の維持活動を常に一定のレベルに保とうという働きがあります。恒常性＝ホメオスタシス。細胞の中で機能するのは蛋白質ですが、この蛋白質の代謝回転、つまり新しく作られては壊れ、また作る。そのサイクルの乱れがプロテオスタシス、つまり蛋白質の一定の流れを維持します。それが崩れると、凝集物がたまる。そして神経は変性する。その結果、認知症になってゆく。ですから、細胞のホメオスタシス、蛋白質のプロテオスタシス、そして生命のライフスタシスのしくみが健康長寿を守るのです。ここではこの「ライフスタシス」をキーワードに百歳を過ぎててもお元気な「百寿者」（セントナリアン）の脳の秘密にせまってみましょう。

Keywords: 脳、老化、寿命、生体恒常性、蛋白質代謝、生命の質

OL2

百寿者エピソードからみた健康長寿達成のヒント

慶應義塾大学医学部内科（老年内科）
広瀬信義、新井康通

百寿者はヒト健康長寿のモデルとして1970年代より研究されてきた。我々は2000年より東京地区の百寿者の包括調査を始めた。百寿者の研究により、ヒトの老化像を明らかにしてその機序解明に迫ること、健康長寿の秘訣を明らかにする事が目的である。

百寿者調査の結果、1)ほとんどの百寿者は何らかの慢性疾患を持っていること、2)認知症もなく日常生活活動の高い百寿者は約20%であることが判明した。性格や幸せ感について調べると、特有の性格があることが分かった。男性では開放性が高いこと（好奇心旺盛で新しいことを受け入れることができること）、女性では外向的で開放性が高く誠実性が高いこと（几帳面であること）と言う特徴があった。また幸せ感が高く、これは体が動かなくても、また認知症があっても他の年代に比較すると高い傾向を示した。またご自分の人生についても良かったと言われる方が多い。この方々のエピソードは大変面白く、健康長寿達成のヒントが隠されている様に感じる。今まで調査に協力していただいた方々のエピソードを御紹介して百寿者の方々が私どもの人生の先輩であることを実感していただき健康長寿のヒントをつかんでいただけると幸いです。最後にいつも御紹介するエピソードをあげる。＜私が2、3歳だったこと私の祖母がいつも昔話を聞かせてくれた。多分江戸時代の話でよく聞けば面白かったと思うが、我慢できなくて逃げてしまった。今自分が年をとって孫達に昔の話をすると、みんな逃げて言ってしまう。多分自分の祖母も私と同じように感じたのだらう＞。

Keywords: 百寿者、健康長寿、性格、幸せ感

OL3

百寿者のミトコンドリアエネルギー

東京都健康長寿医療センター
田中雅嗣

名古屋では「ごんさん」の娘4人姉妹の健康長寿が注目されている。ミトコンドリアは我々が生きていくために必要なエネルギーの大部分を作り出している細胞内小器官である。その設計図であるミトコンドリアDNAは母から子へと伝えられる。ミトコンドリアの呼吸鎖は細胞内での活性酸素種の主要な発生源である。加齢に伴って体細胞においてミトコンドリアDNAの酸化的損傷が蓄積するとミトコンドリア機能が低下する。ミトコンドリアの融合・分裂・監視による品質管理機構が破綻すると、細胞死、幹細胞供給の途絶、免疫異常などが生じる。私は加齢に伴う身体機能や認知能の低下に大きな個人差があることに注目し、環境要因だけでなく遺伝的要因が長寿あるいは疾患易罹性に影響を与えていると考えて研究を進めてきた。特定のミトコンドリアDNAの型が長寿あるいはメタボリック症候群・糖尿病・心筋梗塞・脳梗塞に関連があることを示した。最近、高齢者剖検2305例において24万個のアミノ酸置換を伴う遺伝子多型を解析した。肺癌・膵臓癌・脳梗塞・パーキンソン病・アルツハイマー病・嗜銀顆粒性認知症などに罹りやすい体質を規定する遺伝子多型が同定された。癌死亡例の脳病理所見は老人斑・神経原線維変化が軽度であり、高齢の非癌死亡例では脳病理変化が著しい傾向がある。悲観的に考えれば「癌・心筋梗塞を免れた人が認知症になる」と言える。超百寿者は癌・動脈硬化・認知症に罹り難い遺伝的体質を有すると考えられる。今後、超百寿者におけるミトコンドリア機能長期維持の遺伝的背景を明らかにしたい。

Keywords: ミトコンドリア・健康長寿・遺伝子多型・超百寿者

OL4

百寿者の食養と長寿遺伝子

順天堂大学大学院・加齢制御医学講座
白澤卓二

2010年の日本人の平均寿命は女性が86才、男性が79才で、日本は世界一の長寿国、人生80才時代に突入した。2001年にはヒトゲノムが解明、我々のゲノムには2万3千個の遺伝子があることが判明したが、果たして我々のゲノムの中に寿命を制御している遺伝子は存在するのだろうか？双生児の疫学研究から、寿命が遺伝子因ばかりでなく、環境要因にも大きく左右されることが判明。カロリー制限により、動物の寿命が延びることが知られているが、米国で行われているアカゲザルのカロリー制限の実証研究を紹介する。マサチューセッツ工科大学のレオナルド・ガレンテ教授により発見された長寿遺伝子Sir-2は、カロリー制限により、活性化されるメカニズムが明らかになった。また、フィトケミカルの中には、カテキンやクルクミンなど、アルツハイマー病の発症を予防する効果が動物実験や疫学調査で認められた食材があり、高齢期の食事あり方を考察する。また、活動的な百寿者では、インスリン感受性が高いことから、低GI食材など、インスリンの働きを助ける食材や食べ方を紹介し、環境要因が長寿遺伝子のスイッチをオンにして加齢のスピードを制御する加齢制御の考え方を紹介する。

OL5

百寿者の脳をみる

琉球大学・医学部・脳神経外科
石内勝吾

不老不死は古来からの人類の夢です。高齢化社会を迎えて元気に老いる道は無いものか我々の回りに様々な情報にあふれています。加齢は避けられませんがせめて老化の速度を遅くする事で、元気な老後を迎えたいものです。脳外科領域では脳ドックというのがあります。ひと昔前は「先生、脳梗塞が心配です」という訴えが多かったのですが、最近では「私の脳は萎縮していませんか?アルツハイマーではありませんか?」という質問が多く訊かれるようになりました。1990年代にヒトの脳にも神経細胞の再生、リニューアルをする細胞—神経幹細胞があることが確実となりました。それ以前はヒトの脳は再生しない、3歳を過ぎると神経細胞はほとんど消失していくから勉強をしてシナプスの連結を保ちほけないようにするしかないと生理学で学びました。幸いな事に、現在では、グランドゴルフや散歩程度の運動と新聞・料理の本を読むなどの知的刺激で神経幹細胞は増え脳が若返る事が判明しています。生涯にわたり創造的な活動行い100歳を越えて著作や政治活動を行う神経科学者も存在します。最近の脳科学の手法を用いると、幹細胞の量や機能を測定する事が可能です。百歳を超えてもお元気で生涯健康脳—みずみずしい脳を保持している方の脳の神秘について皆様に紹介いたします。すばらしい脳を持つ人は、皆すばらしい生き様と結びついています。

Keywords: 脳、神経幹細胞、脳萎縮、認知症、生涯健康脳

OL7

百寿者の頭脳を考える

九州大学名誉教授 (医学部・大脳生理学)
大村 裕

高齢者の生活の質 (Quality of Life/QOL) を維持する上で脳ほど重要な組織はない。脳は身体の制御塔であると同時に、環境や社会との情報交換を可能とする情報制御塔でもある。

どのようにしたら脳の老化を防げるのか? 老いない脳を維持できるのか? 問題は簡単ではないが、ここでは百歳を過ぎてもお元気で明晰な脳のしくみを考えてみる。

Keywords: 脳、老化、記憶、学習、知性

OL6

106歳を越えて私が今伝えたいこと

福岡教育大学名誉教授・健康長寿マイスター・しいのみ学園創設者
106歳児・世界の健康長寿のマスコットボーイ
昇地三郎 (しょうち さぶろう)

禍いを試練と受け止めて前進せよ。今からでも遅くはない。人生に余りはない。せっかく与えられた命を精一杯に生きる。どんな状況でも一歩を踏み出す勇氣を持つ。それには、私たち一人ひとりが自分自身に挑むしか方法がありません。私にしか、あなたにしか、できないことなのです。いつだって、遅くはありません。

【106歳を越えて、私がいま伝えたいこと】昇地三郎著 (こう書房) (2012.8.16)

健康長寿は誰にでもできる
毎朝五分、前向きに未来について祈る
足腰よりも脳を鍛えろ!
頭はこの世で使え、頭は常に使え
「一日一知」を積み重ねる
日記を書くで脳が若返る
「何を食べるか」ではなく「いかに食べるか」が大事
一日をキリッと始める冷水摩擦
棒体操で全身のバランスを整える
寝具は硬いものを選ぶ
若い人からも学ぶ謙虚さをもつ
どんなときでも人生に楽しみを見つける
科学には限界があるが、愛情に限界はない
小ささは小さきままに折れたるは折れたるままにコスモスの花咲く

OL8

百寿者万歳

東京都健康長寿医療センター
丸山直記

本日の講演から皆様は何を感じ取られたでしょうか?
遺伝子の重要性、エネルギーの源、食事を選ぶことの大切さ、そして脳の不思議。しかし、何よりも、しっかりとした意識と希望をもつこと。
日本基礎老化研究会は老化や寿命の研究を通じて、これからも日本の高齢者の健康長寿を応援していきます。
百寿者、万歳。

Keywords: 老化、寿命、百寿

T1

転写後調節機構を介した細胞老化の制御

国立長寿医療研究センター・老化細胞研究プロジェクトチーム
橋本理尋、川岸裕幸、○杉本昌隆

RNA 結合タンパク質 HuR は、様々な遺伝子の転写後発現調節を行うことにより、多彩な生命現象に関与することが知られている。HuR は細胞のストレス応答や増殖制御においても重要な役割を持ち、最近では細胞老化への関与も報告されている。本研究では、マウス細胞をモデルとして細胞老化における HuR タンパク質の詳細な機能解析を行った。

マウス胚性線維芽細胞において HuR の発現レベルを調べたところ、細胞老化が起こった細胞では HuR の発現は低下する傾向にあった。細胞老化を起こす前に HuR の発現を阻害すると、早期に細胞老化が誘導された。HuR の発現阻害はこの細胞では p16^{INK4a} の発現に影響を与えなかったが、p19^{ARF} の発現には著しい上昇が認められた。また ARF 遺伝子を欠損した細胞では HuR 発現阻害による細胞老化は見られないことから、HuR は p19^{ARF} の発現調節を行うことにより細胞老化を制御することが考えられた。さらに HuR による p19^{ARF} の発現制御機構について詳細な解析を行ったところ、HuR は ARF mRNA の核内局在を制御することによりその発現に影響を与えることが示唆された。またモデルマウスの解析結果からも、HuR による ARF 発現調節機構が生体内で細胞老化を介して組織機能に影響を与えることが示された。以上の結果より、ARF-p53 経路の活性化には従来から知られていた遺伝子発現調節機構とともに HuR などの RNA 結合タンパク質を介した転写後発現調節機構も重要な役割を持つことが明らかになり、転写後発現調節が個体の老化現象に関与する可能性が示唆された。

Keywords: 細胞老化, p19^{ARF}, RNA 結合タンパク質

T3

Molecular insights into the mechanism of regulation of cellular senescence and transformation by CARF

National Institute of Advanced Industrial Science & Technology (AIST),
E-mail: renu-wadhwa@aist.go.jp
Renu WADHWA, Rumani SINGH and Sunil KAUL

CARF (Collaborator of ARF) is a serine rich 75-kDa protein that was first identified as a regulatory factor of ARF-induced activation of p53 pathway, a key regulator of cellular senescence and apoptosis. Suppression of CARF induced aneuploidy and mitotic catastrophe resulting in apoptosis suggesting that it is an essential survival protein. It was shown to interact with p53-HDM2 complex, causing stabilization and hence activation of transcriptional activation function of p53. We found that CARF itself is regulated by proteasomal degradation mediated by HDM2 and in turn acts as a transcriptional repressor of HDM2. Consistent with these feed-forward and feed-back regulatory circuits, we demonstrate that CARF is upregulated during the growth arrest of cancer cells. Serially passaged human normal fibroblasts and the ones induced to senesce by drugs, oncogenic RAS and shRNA-mediated knockdown of TRF2 also showed upregulation of CARF. Furthermore, we found that dosage of CARF is a critical factor in determining the proliferative fate of cells. Whereas overexpression of CARF induced growth arrest/senescence, its superexpression led to increased cell proliferation suggesting its role as a delicate bridge between cellular senescence and transformation.

Keywords: CARF, over-expression, senescence, DNA damage, super-expression, transformation

T2

老化関連因子 TARSH の細胞老化と癌抑制に関する機能解析

1) 独立行政法人国立長寿医療研究センター 2) 市立奈良病院
3) 京都府立医科大学
1) 原田種展¹⁾ 松田剛典¹⁾ 杉本昌隆²⁾ 寺内邦彦³⁾ 島田順一¹⁾ 丸山光生

TARSH (Target of NESH-SH3) タンパク質は、低分子量 G タンパク質として知られる Rac 依存的なアクチン重合反応に関与する分子である NESH (ABI3) の SH3 ドメインに結合する分子として単離され、ヒト TARSH (h TARSH) 遺伝子は肺癌や悪性甲状腺癌患者で顕著な発現低下を示すことが報告されている。我々はマウス TARSH (m TARSH) 遺伝子がマウス胎児線維芽細胞 (MEF) の細胞老化過程において一過的に発現上昇していること、正常マウス組織においては肺特異的に発現が見られたこと等を明らかにしてきたことより、TARSH が癌化および細胞老化の双方に深く関与する機能分子であるという仮説を立て、その検証を進めている。これまでの本大会においても、m TARSH ノックダウンベクター (sh-m TARSH) を導入した NIH-3T3 細胞あるいは MEF を用いた *in vitro* の試験系で、TARSH タンパク質の発現抑制とゲノムの不安定化、細胞分裂、細胞周期調節機構における機能解析を行い、TARSH タンパク質がゲノムの安定性を監視するチェックポイントとして機能している可能性を示唆する結果を報告してきた。

我々は現在、TARSH の細胞増殖と癌化、とりわけ腫瘍抑制性に対する機能を明らかにすることを目的に TARSH 遺伝子欠失マウス (TARSH KO マウス) を作成し、解析を続けている。具体的には、mTARSH を強制発現させた MEF を用いて行った細胞増殖性の比較実験、ならびに hTARSH 遺伝子を過剰発現させたヒト非小細胞性肺癌細胞株 A549 株をヌードマウスに皮下移植した際の腫瘍増殖性への TARSH の関与について検討している。また、TARSH の生理学的機能について、腫瘍増殖性のみならず、加齢に伴う腫瘍発症率の変化や転移の可能性についても TARSH KO マウスを用いた *in vivo* の解析を進めているので合わせて結果を紹介したい。

Keywords: 細胞老化, 肺癌

T4

Life span modulation by ALT1, alanine-metabolizing enzyme, in *Saccharomyces cerevisiae*.

Department of Pharmacology, College of Medicine, Inha University
Sung-Keun Lee

Importance of alterations in metabolic pathways has been implicated as important factors affecting life span. However, the determination of specific pathways and enzymes involved in life span remain largely unexplored. Meanwhile, caloric restriction (CR) has been known to extend life span of many species. In yeast, CR extends both replicative life span and chronological life span. Using metabolomics and genetic approaches, we identified metabolites affecting CR-induced chronological life span in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Among 23 metabolites with altered profile by CR, we found that alanine level is inversely correlated with yeast chronological life span. Later analysis using deletion mutant of *ALT1*, the gene encoding the major alanine transaminase, revealed that life span modulation by *ALT1* is *TOR1*-independent. Further studies showed that *alt1* Δ completely suppresses cytochrome C oxidase subunit 2 expression. This study shows the importance of small molecule metabolism and relevance of metabolomics combined with genetic approach in the mechanistic studies in life span.

T5

細胞周期制御因子 Dbf4 は DNA 損傷に反応する
チェックポイントタンパクとして機能している

¹ 早稲田大学人間科学学術院基礎老化学研究室

² Department of Biochemistry, The Scripps Research Institute
千葉卓哉¹, Xiaohua Wu².

【序論】ゲノムの恒常性維持に関与するタンパク質の異常によって、老化と似た表現型を早期に示す疾患が引き起こされる。我々はこれまで、Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) による NBS1 の制御が、S 期に DNA 複製が一度だけ起こることに重要であること、および DNA 複製ライセンス因子 Cdt1 の過剰発現による複製ストレスを、Ataxia Telangiectasia and Rad3-related (ATR) が抑制することを明らかにしてきた。今回我々は、ATM、ATR の標的として S 期制御因子である Dbf4/Cdc7 キナーゼ複合体の機能解析を行った。【方法】電離放射線 (IR) による二本鎖切断、ヒドロキシ尿素 (HU)、紫外線 (UV) による複製ストレスを培養細胞に与え、Dbf4 のリン酸化を解析した。同定されたリン酸化部位の変異体を作製し、ATM、ATR との関連、およびチェックポイントタンパクとしての機能を解析した。【結果】Dbf4 の 539 番目のセリン残基 (S539) が ATM、ATR によって直接リン酸化された。その部位の変異体を導入した培養細胞では、IR によって DNA 合成が抑制されなかった。しかし、ATM、ATR によるリン酸化を受けても Dbf4/Cdc7 のキナーゼ活性に変化は見られなかった。この活性の維持は HU による DNA 複製フォークの崩壊抑制に重要であった。さらに Dbf4 のリン酸化は、Cdt1 の過剰発現によって誘導される DNA 再複製防止に重要であることが示された。【結語】DNA 損傷による発ガンの防止に重要な、ゲノム構造の維持に、ATM/ATR による Dbf4 のリン酸化が関与していることが示唆された。

Lee AY, Chiba T et al. 2012, JBC, 287:2531-43.

Liu E, Lee AY, Chiba T et al. 2007, JCB, 179:643-57.

Wu X, Avni D, Chiba T et al. 2004, G&D, 18:1305-16.

Keywords: DNA damage, Cell cycle regulation, Progeroid syndrome.

T7

Maintaining Energy Level through Caloric Restriction is
a Critical Mechanism Guaranteeing Cellular Longevity
in Budding Yeast

Division of Biotechnology, College of Life Sciences & Biotechnology, Korea University, Seoul, Korea

Joon-Seok Choi, Cheol-Koo Lee

The free radical theory of aging emphasizes cumulative oxidative damage in the genome and intracellular proteins due to reactive oxygen species (ROS) generation to be the major cause for aging. Caloric restriction (CR) has been known as a representative treatment that prevents aging; however, its mechanisms of action remain elusive. Here, we show that CR extends the chronological life span (CLS) of budding yeast by maintaining cellular energy levels. CR reduces the generation of total ROS and mitochondrial superoxide; however, CR does not reduce the oxidative damage in proteins and DNA. Calorie-restricted yeast has higher mitochondrial membrane potential, and they sustain consistent ATP levels during the process of chronological aging. Our results suggest that CR extends yeast CLS by improving the efficiency and maintenance of energy metabolism rather than by reducing the oxidative damage.

Keywords: caloric restriction, chronological lifespan, reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential, ATP

T6

MST1-mediated phosphorylation of FOXO enhances
its transcriptional activity in response to oxidative stress

¹Dept. Cognitive Brain Sci., Natl. Ctr Geriatr. Gerontol, ²Dept. Molec. Endocrinol. Bone Biol., Merck Research Laboratories.
Yanagino T¹, Itoh Y¹, Glantschnig H², Maruyama W¹, Motoyama N¹.

FOXO transcription factors regulate cell survival, homeostasis and longevity in response to oxidative stress. Recent studies suggest that, in primary neuronal cells, MST1 induces nuclear accumulation and activates FOXO proteins in response to oxidative stress by phosphorylating FOXO3 at serine 207. However, the precise mechanism of MST1-mediated FOXO activation is still unknown.

Oxidative stress leads to the nuclear accumulation of FOXO3 in MST1-depleted HeLa and HEK293 cells. In spite of nuclear accumulation, the expression of stress-induced FOXO-targeted genes, such as *GADD45a* and *SESN1* gene, was markedly reduced in MST1-depleted cells. Reporter gene assays revealed that MST1 activated constitutively a nuclear form of FOXO3 as well as wild type FOXO3. In MST1-depleted cells, oxidative stress-induced binding of FOXO3 to SIRT1 was drastically reduced, and acetylation of FOXO3a was increased, thereby reducing its binding to the promoter region of *GADD45a* gene. Furthermore, MST1-depleted HeLa cells showed decreased cell viability in response to oxidative stress similar to FOXO-depleted cells. Collectively, these findings implicate that MST1 plays a key regulatory activating function in the transcriptional activity of FOXO family proteins in response to oxidative stress.

Keywords: FOXO, MST1, Oxidative stress, SIRT1, Transcription

T8

後期高齢者テロメア長測定の意味について

名古屋大学医学部老年内科

飯田万由, 林 登志雄, 山口知恵, 前田守彦, 伊奈孝一郎

【背景と目的】末梢血単核球のテロメア長短縮は、生命予後と関連する可能性が示唆される一方、虚血性心疾患、脳血管障害、糖尿病、アルツハイマー型認知症等の様々な疾患で認められ、酸化ストレスとの関連が示唆されている。一方これらの多くの成績は非高齢者に行われたもので、測定値にばらつきが大きい上に、高齢者、特に後期高齢者での検討は少なく知見もわずかである。【方法】我々は118名の後期高齢者(75-101歳、85.51 ± 8.12歳)及び15名の非高齢者、15名の前期高齢者を対象に原疾患、治療法(投薬内容等)、末梢血単核球テロメア長(サザンプロット法)及び各種生化学成績、ADLを測定し、更に末梢血テロメラーゼ活性を測定している。

【結果】テロメア長は後期高齢者では5~8.4kbpの範囲で変動していた。年齢、性、現疾患との関連性、炎症反応との関連性、ADLとの関連性について検討しているが現段階では顕著なもの認めない。テロメア長とテロメラーゼの活性は現段階では相関していないが変動が大きく再検討を行っている。ADLとの関連は現在解析中である。

【考察と結論】我々は後期高齢者の生命予後規定因子として栄養指標(albumin)、ADL (bADL) 及び血管内皮機能(血中NO代謝物濃度)を報告している(JAGS2007等)。今回の結果解析はこれにreplicative senescenceの関与、またテロメラーゼ活性制御を介しこれらも変動しうる可能性を示唆していると推察する。更に詳細な解析を進めている。

Keywords: 末梢血単核球細胞、後期高齢者、テロメア長、テロメラーゼ、

T9

ゾウリムシにおける性的若返りポリペプチド・イマチユリンの遺伝子解析

石巻専修大学・理工学部
芳賀信幸

単細胞真核生物であるゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は淡水に生息し、自由遊泳生活を営む。環境に餌となるバクテリアが豊富に存在するときには、細胞分裂を繰り返して個体数を増やすが、貧栄養状態になると、接合を行い、有性生殖によって新しい世代を形成する。

ゾウリムシの生活史は接合能力の発現状態によって、未熟期、成熟期、老衰期に分けることができる。接合能力は、接合完了後約 50 回分裂して、初めて発現する。単細胞生物でありながら、生活史が未熟期から始まり、性的成熟期と老衰期を経てクローンとしての死を迎えるまでのプロセスは、多くの多細胞生物の生活史と共通している。

我々はマイクロインジェクションによる細胞質移植と核移植実験を通して、未熟期の細胞には成熟期の細胞を未熟期に若返らせるポリペプチドが存在することを明らかにし、その後、生化学的手法により細胞質因子の抽出と同定を行い、イマチユリンと名付けた。

今回は、イマチユリンをコードしている遺伝子の全塩基配列を決定し、その内部構造を明らかにしたことを報告する。イマチユリン遺伝子は、二つのドメインによって構成されており、5' 側はグルタミン・S-トランスフェラーゼ遺伝子の一部、また 3' 側はチオレドキシシン遺伝子の一部と相同性の高い塩基配列を有していた。これらは原核生物にも見られる起源の古い遺伝子である。YFP 融合イマチユリン遺伝子を構築し、未熟期、成熟期および老衰期の細胞でトランスフォーマントを作製したので、これらの特徴も合わせて報告する。

T11

Modulation of lifespan by sensory neurons in *C. elegans*

Department of Life Science/I-BIO/WCU ITCE,
Pohang University of Science and Technology
Seung-Jae Lee

Sensory neurons of *C. elegans* influence various physiological processes, including aging. However, the molecular mechanisms underlying these effects are poorly understood. Here we report how different effectors act downstream of sensory neurons to influence several physiological outputs, including lifespan. By performing microarray analysis, we identified transcripts whose levels are affected by mutations in the intrafagellar transporter gene *daf-10*, which cause defects in the morphology and function of many ciliated sensory neurons in *C. elegans*. Among the genes with altered expression in *daf-10* mutant animals, we found transcriptional targets of DAF-12/nuclear hormone receptor and DAF-16/FOXO transcription factor, which affect development and lifespan. Furthermore, we found that a solute transporter gene *mct-1/2* was induced by *daf-10* mutations and was necessary and sufficient for long lifespan. Thus, sensory input seems to influence a diverse set of transcriptional responses that modulate basic biological processes in *C. elegans*.

Keywords: *C. elegans*, sensory neurons, lifespan, microarray, FOXO, nuclear hormone receptor

T10

乳酸菌 *Lactobacillus gasseri* SBT2055 による線虫の寿命延長とその作用機構

1. 北海道大学 遺伝子病制御研究所 プロバイオティクス・イムノロジー研究部門 2. 雪印メグミルク株式会社 ミルクサイエンス研究所
中川久子¹、細谷知広^{1,2}、塩崎拓也¹、酒井史彦^{1,2}、守屋智博^{1,2}、中山洋佑¹、宮崎忠昭¹

Lactobacillus gasseri SBT2055 (SBT2055) は、整腸作用、免疫機能活性化や内臓脂肪蓄積抑制作用などを示すことが報告されており、疾病予防への有用性が期待されている。本研究では、線虫 (*C. elegans*) を用いて SBT2055 による寿命制御効果およびその作用機構を検討した。N2 野生株の成虫に、標準食大腸菌 (OP50)、または SBT2055 を給餌し、生存率および運動能変化を解析した。その結果、SBT2055 は、OP50 に比べ生存率の有意な上昇 ($p < 0.001$, 29% 延長)、および加齢に伴う運動能低下の抑制効果 ($p < 0.001$) を示した。この SBT2055 による寿命延長の作用機構を検討するため、寿命関連遺伝子変異体を用いて生存率を解析した。インスリン様シグナル伝達因子 DAF-16 の変異による短寿命モデル線虫 (*daf-16* 変異体) では、SBT2055 は OP50 の給餌に比べ生存率が有意に上昇し ($p < 0.01$, 39% 延長)、N2 野生株と同様の傾向を示した。一方、酸素高感受性短寿命モデルの *mev-1* 変異体では、SBT2055 と OP50 の給餌による生存率の差は認められなかった。また、N2 野生株を用いて寿命関連遺伝子の発現解析を行った結果、SBT2055 給餌により *daf-16* の発現変化は認められなかったが、*skn-1* と *pha-1* の発現量が亢進しており、*mev-1* 変異体の結果と合わせると酸素感受性が寿命調節に関与する可能性が考えられた。これらの結果より、SBT2055 は寿命延長作用を有し、その機構は SKN-1 および PHA-1 の発現制御によるものであり、DAF-16 を介さない機構による可能性が示唆された。

Keywords: 乳酸菌、寿命、老化、運動能

T12

健康寿命の延長のメカニズム解明

東海大学大学院生物科学研究科
須田 直

老化・寿命に遺伝的要因や環境要因が影響するのは当然であるが、第3のファクターとして「偶然」^{[1][2]}の要素を忘れて人が多いことに驚く。この第3の要因は、寿命の半分ほどを担っており、決して無視できない。この延長線上に「老化とは、個性化の過程である」という視点が存在するため、個体のバラツキに着目して老化の過程を研究することに重要な意味が生じてくる。このような立場から、線虫 *C. elegans* 1 個体あたりの遺伝子発現量や ATP 量を計測し、その変動係数 (ノイズ) を解析した結果、それらのノイズ増大のタイミングと老化開始のタイミングとが同期することを見出した。

そこで、この実験系を適用して、健康寿命がどのような構造 [2] をしているのか、延長するとすればどのような機構によるのか、その基本原理を明らかにすることを目的に研究を行ったので報告する。

実験法として、まず精緻な生存曲線を求めるために、老化のモデル動物として線虫 *C. elegans* を用い、「寿命方程式」^[2] を使用して定量的に解析した。なお、実験には *daf-16 (mu86)* 短命変異体株を用いた。通常、大腸菌 OP50 株を餌として与えて飼育するが、UV 照射で殺菌した大腸菌を餌として与えると寿命が延長する。この興味深い現象を利用して、健康寿命の延長の仕組みを明らかにする。

【文献】

[1] C.E. Finch and T.B.L. Kirkwood, 2000. *Chance, Development, and Aging*. Oxford University Press.

[2] H. Suda et al. 2012. *Mech. Ageing Develop.* 133, 600-610.

Keywords: Chance variations, Stochastic fluctuations, Healthspan.

T13

Senomorphic Aging: the unification of evolutionary aging theories

Tokyo Metropolitan University, Department of Biological Sciences, Hachioji
1-1, Tokyo 192-0397, Japan
Trindade LS, Aigaki T and Balduino A

After a century of aging research the dispute over whether the aging process is active or passive persists and a comprehensive and universally accepted theoretical model remains elusive. Evolutionary aging theories primarily dispute whether the aging process is exclusively adapted to favor the kin or exclusively non-adapted to favor the individual. Interestingly, contradictory data and theories supporting both exclusively programmed and exclusively non-programmed theories continue to grow. However, this is a false dichotomy; natural selection favors traits resulting in efficient reproduction whether they benefit the individual or the kin. Thus, to understand the evolution of aging, first we must understand the environmental-dependent balance between the benefits and disadvantages of extended lifespan in the process of spreading genes. Here, we discuss a hypothesis named senomorphic aging, which attempts to explain the apparent contradictory data surrounding the evolution of lifespan.

Keywords: Senemorphism; Evolution; Kin and Natural selection.

T15

老齢 SAMP1 マウスは皮膚の光老化様変化を自然発症する

¹愛知県コロニー発達障害研・病理²ホーユー(株)総合研³京都産業大・工¹鈴鹿医療科学大・薬
千葉陽一¹、佐倉正明^{1,2,3}、古川純子¹、河村則子¹、竹内実³、細川昌則¹

【背景】皮膚の光老化は、紫外線(UV)への慢性暴露により皮膚の構造及び機能的変化が引き起こされる病態で、酸化的ストレスや炎症性分子、matrix metalloproteinase (MMP)の発現上昇がその分子機構として注目されている。今回我々は、高酸化的ストレス状態を示すSAMP1マウスの皮膚が、光老化類似の変化を示すか否かにつき検討した。【材料と方法】12-70週齢のSAMP1マウス及びコントロールのSAMR1マウスより背部皮膚を採取し、ホルマリン固定後パラフィン切片を作製し、組織学的検索に供した。炎症性分子及びMMPの発現は、背部皮膚より抽出したRNAを用いて定量的PCR法により評価した。皮膚の過酸化脂質量の指標としてthiobarbituric acid reactive substances (TBARS)量を測定した。【結果】SAMP1マウスは、UV照射をしない状態でも、真皮の弾性線維、glycosaminoglycanや肥満細胞の増加、真皮のGrenz zoneの形成など、光老化と類似した組織学的変化を48週齢以降に認めた。また、炎症性分子(TNF- α 、IL-6、IFN- γ 、iNOS)や、エラスチンの分解に関わるMMP(MMP-7、-12)の発現がSAMP1マウスで加齢とともに上昇した。また、SAMP1マウスでは加齢とともに皮膚のTBARS量が増加した。以上の変化は、SAMR1マウスでは70週齢まで認められなかった。【考察】SAMP1マウスは、加齢とともに皮膚光老化と類似の組織学的変化と光老化関連分子の発現変化を示した。本マウスで自然発症する高酸化的ストレス状態が、この病態の発現に寄与している可能性が考えられた。

Keywords: 光老化、SAMP1マウス、酸化的ストレス、炎症性サイトカイン

T14

皮膚創傷治療改善効果のあるオリゴヌクレオチドの同定及び機能解析

長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 探索病理学
森 亮一、下川 功

創傷治癒遅延・創傷部位の増悪は、様々な病態だけでなく加齢・生活環境に起因する生理変化と密接に関連している病態である。従って、世界中でも特に有効な治療法が求められている病態の一つと考えられている。

そこで本研究では、創傷治癒過程及び肥厚性瘢痕・ケロイド等の皮膚病態に関連すると推察される老化関連転写因子に着目し、関連分子のスクリーニングを行った。そして、遺伝子改変動物・マイクロアレイ解析を用いて機能解析を行い、分子メカニズムの解明を行った。さらに、一連の解析によって皮膚創傷治癒改善効果が期待される転写因子については、アンチセンスオリゴを作製して、治療への応用を試みた。その結果、本研究で作製されたアンチセンスオリゴは、創傷治癒改善効果が認められた。

本研究によって作製された皮膚創傷部位特異的に効果のあるアンチセンスオリゴは、皮膚創傷治癒改善効果のみならず、他臓器における線維化や炎症制御にも応用可能と推察される。また、老化関連遺伝子の発現制御は、組織修復機構においても重要な役割を担っていると推察される。

Keywords: 創傷治癒、転写因子、アンチセンスオリゴ

T16

高グルコース間歇刺激による血管内皮細胞の老化機序について

名古屋大学医学部老年内科
前田守彦、林 登志雄、山口知恵、伊奈孝一郎、飯田万由

【目的】細胞老化は個体老化や動脈硬化症等に深く関与している。高齢者は加齢と共に食後高血糖等の耐糖能異常を示し、糖尿病罹患率も高い。我々は糖尿病性内皮機能障害の一因である高グルコースが細胞老化を示す事を報告している。今回、食後高血糖モデルとして高グルコース間歇刺激の細胞老化への影響を見いだしその機序を検討した。

【方法】ヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)を用い、高グルコース(22mM)で3日間、持続性又は間歇性(毎回2時間、2回/日)に刺激し細胞老化への影響を調べた。老化指標として、SA- β -galactosidase活性を用いた。ROSやtelomeraseの活性などを確認した。

【結果】高グルコース間歇刺激は持続刺激に比べSA- β -gal活性が有意に上昇し、細胞内DHE活性が大きく上昇し、NADPH oxidaseの主要なサブユニットであるp22phoxの発現も上昇した。一方telomerase活性は持続刺激に比べ低下率が低かった。p-eNOS/eNOSの低下、培養液中のNO_xの減少やNO産生能の低下が確認された。siRNAによりp22phoxの発現を抑制したHUVECでの間歇刺激では、SA- β -gal活性およびDHEの活性が持続刺激のものと同程度に低下した。

【考察】以上より、高グルコースにより老化が促進されるが、持続刺激と間歇刺激ではより間歇刺激において老化が促進されることが示された。またその機序として、持続性刺激ではtelomeraseの低下、間歇刺激ではROSの産生の上昇が主な原因となり、間歇刺激においてはp22phoxが大きく関与していることが示唆された。

Keywords: 血管内皮細胞、高グルコース、間歇刺激、活性酸素

T17

Liver X 受容体アゴニストにより 内皮細胞老化は抑制される

名古屋大学医学部老年内科

林 登志雄、山口知恵、前田守彦、伊奈孝一郎、飯田万由

【背景】血管内皮細胞老化は内皮機能異常を惹起し動脈硬化症発症進展に寄与する。肝 X 受容体 (LXR) はコレステロール排出を促進し炎症を抑制する重要な転写抑制因子である。両者の関連に関する報告はこれまでなかった。

【方法と結果】我々は、特異的リガンドによる LXR 活性化は、高グルコース下の培養ヒト内皮細胞における老化マーカーとされる老化関連ガラクトシダーゼ (SA β gal.) 活性の上昇を抑制し、replicative senescence マーカーとされるテロメア長短縮をも阻害する事を見出した。この LXR 活性化の効果は活性酸素種の低下と内皮 NO 合成酵素活性の上昇に関連していた。siRNA を用いた検討により、LXR- β が内皮細胞老化予防に寄与していた。LXR 標的遺伝子として up regulate される ATP 結合カセット輸送体 (ABCA1 と ABCG10) 及びステロール調節因子結合蛋白質 1 (SREBP-1c) はこの LXR- β による内皮細胞老化予防の基幹因子ではなかった。LXR リガンドを糖尿病ラットに経口投与すると重篤な脂肪肝ができるが、ピクエナイド剤であるメトホルミンの投与により血糖制御に至らないレベルでも、LXR リガンドの内皮細胞老化抑制度を弱める事なくこの脂肪肝生成が抑制された。

【結論】これらより、本研究において内皮細胞老化制御に新しい機序が即ち LXR の抗動脈硬化作用と関連し、メトホルミンの同時投与が LXR による肝臓の中性脂肪代謝を介する副作用を予防する事に有用である事が示された。

Keywords: 血管内皮細胞、高グルコース、肝 X 受容体、脂肪肝、メトホルミン

T19

マウス F 型 ApoA-II の C 末ペプチドによるアミロイド線維形成阻害機序と アミロイドーシス発症軽減効果

信州大学大学院 医学系研究科 加齢生物学講座

澤下 仁子、李 琳、田 耕、森 政之、樋口 京一

【目的】マウス AApoAII アミロイドーシス関連タンパク質 ApoA-II は N 末 6-16 番と C 末 48-65 番が線維形成コア領域で (Sawashita et al. BBA '09)、この領域内にもみアミノ酸置換がある F 型 ApoA-II を持つマウスはアミロイドーシスを発症せず、その C 末合成ペプチドには線維形成阻害作用があることを明らかにしている (Sawashita et al. In revision)。本研究では、線維形成阻害ペプチドの作用機序とマウスに対する発症抑制能を解析した。【方法】*In vitro* 実験: アミロイドーシス高発症マウスが持つ C 型 ApoA-II の線維形成コア領域の合成ペプチド (N 末: c6/16, C 末: c48/65)、及び 62 番を F 型 (N62K) や他のアミノ酸 (N62R, N62A) に置換した C 末ペプチドを用い、重合、線維伸長、及び線維分解反応を解析した。*In vivo* 実験: AApoAII アミロイドーシス高発症マウス (Ge et al. Lab Invest '07) の腹腔内に、c48/65 あるいは N62K を封入した浸透圧ポンプを留置した。翌日、肝由来 AApoAII 線維を投与してアミロイドーシスを誘発し、線維沈着程度を評価した。【結果・考察】*In vitro* 実験: 62 番置換 C 末ペプチド (N62K, N62R、及び N62A) には線維分解作用は無かったが、c6/16 と c48/65 の重合や線維伸長を阻害した。阻害作用は重合初期に最強で、線維形成初期に線維核と相互作用して線維の伸長を阻害すると考えられた。*In vivo* 実験: c48/65 や溶媒投与マウスと比較して N62K 投与マウスの線維沈着程度は有意に低く、生体での阻害ペプチドの有効性が示唆された。この線維形成阻害ペプチドが他のアミロイドーシスにも有用であるか、さらに検討が必要である。

Keywords: マウス AApoAII アミロイドーシス、アミロイド線維形成阻害ペプチド、線維形成阻害機序

T18

食品成分 (L-シトルリン及び L-アルギニン) が動脈硬化及び血管老化の進展抑制に及ぼす影響に関する研究

名古屋大学医学部老年内科

山口知恵、林登志雄、前田守彦、伊奈孝一郎、飯田万由

【目的】L-シトルリン (L-Cit) 及び L-アルギニン (L-Arg) が動脈硬化進展、血管老化に与える影響を血管内皮細胞にて検討した。

【方法】培養血管内皮細胞を、高グルコース刺激 (HG:22mM, 三日間)、L-Cit :300 μ M、L-Arg :300 μ M、双方 (LA+LC:150 μ M ずつ) を同時投与し 1) 細胞老化マーカー、2) NO 合成酵素等にて内皮機能面から調べた。各アミノ酸トランスポーターの siRNA にて細胞内外のアミノ酸移動制御下での細胞老化を検討し機序を検討した。【結果】細胞老化マーカーの影響① SA- β -gal. では HG 下で L-Arg に作用を認めず、L-Cit 及び LA+LC 時は老化抑制効果を認めた。

② Telomerase activity 培養後一、三日で検討した。HG で低下する telomerase 活性は、L-Arg、L-Cit、及び併用で回復傾向にあった。

③ 内皮機能の代表である NO 産生系への影響と Arginine paradox に関し siRNA にて検討した。eNOS 蛋白は HG で低下し、L-Arg が増加させた。活性型の peNOS は L-Arg、L-Cit 双方で増加し、LA + L-Cit に相乗効果を認めた。NADPH oxidase の中核 p22phox は変動しなかった。NO 産生を DAF2 (NO 産生直接測定) で検討した。HG 下で L-Cit による NO 産生作用大、L-Arg との相乗効果を認めた。

④ L-arg、L-cit の膜トランスポーター、cationic arginine transporter、SN1 transporter の siRNA にて検討した。Cationic Arg. Transp.1: HG での抑制効果を認め、L-Cit 効果が担保された。SN1 阻害が HG 誘導老化そのものに影響した。細胞内アミノ酸濃度との関連をみた。

【結論】細胞老化抑制にアミノ酸、特に L-Cit が一定程度寄与する可能性が示唆された。

Keywords: 血管内皮細胞、高グルコース、アミノ酸、シトルリン、アミノ酸トランスポーター

T20

エボジアミンは脂肪細胞の mTOR-S6K シグナルを 阻害しインスリン抵抗性を改善する

¹ 中村大・生命健康、² 岩手医大・消化器内科、³ 長崎大・医・解剖
山下 均¹、楠堂達也¹、竹内 環¹、山下ゆかり¹、王 挺²、森 望³

生薬ゴシュユの主要成分であるエボジアミンは肥満を予防し、耐糖能を改善する作用をもつ機能性化合物である (Endercinol2008)。我々は、前回までの本大会において、エボジアミンがエネルギー代謝やインスリン抵抗性に関連する mTOR シグナルを阻害しインスリン抵抗性改善に寄与する可能性を報告してきた。今回、エボジアミンのシグナル伝達に及ぼす効果について脂肪細胞を用いてさらに検討を行った。成熟脂肪細胞をインスリン刺激すると、時間依存的に mTOR 及び S6K のリン酸化が亢進し、インスリン抵抗性に関連する IRS-1 のセリンのリン酸化が上昇した。一方、エボジアミンにはこれらのシグナルに対する単独作用はほとんどみられなかったが、インスリン誘導性の mTOR-S6K シグナル経路の活性化を強く阻害し、IRS-1 のセリンリン酸化を抑制することが明らかとなった。同様な効果はロシグリタゾンにおいても認められた。これらの結果は、エボジアミンが脂肪細胞において mTOR-S6K シグナル経路を介してインスリン抵抗性を改善するように作用することを示すものと考えられる。現在、さらに詳細な分子メカニズムの解明を進めている。

Keywords: エボジアミン、インスリン抵抗性、脂肪細胞、mTOR-S6K シグナリング

T21

レスベラトロールによる脂肪細胞分化抑制と アポトーシス誘導のライブセルイメージング

¹⁾ 和歌山県立医大・医・R1 実験施設、²⁾ 浜松医大・メディカルフォトニクス研・分子病態イメージング
井原勇人¹⁾、小川美香子²⁾、間賀田泰寛²⁾

【背景と目的】 赤ワインなどに多く含まれるレスベラトロールには、抗肥満、抗老化の生理活性がある事が報告されている。我々は、レスベラトロールが脂肪細胞から分泌される悪玉アディポカインの一つであるレジスチン遺伝子発現を著しく抑制すると共に、脂肪細胞の分化を抑制することを見いだしてきた。今回、ライブセルイメージング法で、レスベラトロールによる脂肪細胞分化抑制は分化初期細胞のアポトーシスによる事を明らかにし、また合わせて ob/ob 肥満マウスへの経口投与による体重減少効果と CT による脂肪組織の減少効果についても検討したので報告する。

【方法】 BioStation によるライブセルイメージングでは、3T3-L1 前駆脂肪細胞の分化過程を BODIPY 493/503 で、またレスベラトロール添加によって生じたアポトーシス誘導の初期反応は Annexin V-Alexa568 にて可視化した。肥満マウス ob/ob にレスベラトロール (50 mg/kg) を1ヶ月間経口投与し、脂肪組織量の変化を小動物用 CT によって画像化した。

【結果】 1) BODIPY を培養上清中に添加することにより、3T3-L1 前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化過程を経時的に観察する事ができた。次に、この培養に Annexin V-Alexa568 を同時に加え、レスベラトロールによるアポトーシス誘導の有無を検討した。その結果、2) 当初予想した BODIPY によって蛍光染色される成熟した脂肪細胞がアポトーシスによって死滅していくのではなく、その下側から分化しようとしている分化初期細胞が選択的にアポトーシス誘導を受けていることが明らかとなった。3) 高度肥満 ob/ob マウスにレスベラトロールを1ヶ月間にわたり経口投与したところ、68 g あった体重が 62g にまで減少し、CT スキャンによる腹部脂肪組織量の変化では、主に皮下脂肪の減少が認められた。

Keywords: レスベラトロール、脂肪細胞、アポトーシス

T23

脳インスリン様シグナル介した脳老化調節機構

1. 宮崎大学医学部神経内分泌代謝学分野 2.Div. Endocrinology, Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, USA
田口明子^{1,2)}、福岡屋航¹⁾、倉田栄子¹⁾、Morris White²⁾

加齢に伴う代謝の衰退は糖尿病やメタボリックシンドロームなどの代謝疾患発症の要因であるだけでなく、脳機能の生理的低下や神経変性疾患発症にも関与していることが判ってきている。近年、中枢神経系におけるインスリン様シグナルの役割に注目が集まっており、我々を含む各国の研究グループから本シグナルの主要調節分子であるインスリン受容体基質 Insulin Receptor Substrates2 (IRS2) の欠損は寿命を延長し老化を遅らせ、またアルツハイマー病モデルマウス脳におけるβアミロイドの蓄積と死亡率を改善させる事が明らかになった。

生理的脳老化現象である認知機能の変化は海馬歯状回の神経細胞新生が加齢と共に減少することに関係しているが、この調節機構への脳 IRS2 の関与については未だ不明であったため、脳 IRS2 欠損マウス (BIRS2ko^{+/and/+}) を用いて解析を行った。成体脳海馬歯状回において IRS2 は成熟神経細胞だけではなく神経幹細胞/前駆細胞にも発現し、老齢 BIRS2ko^{+/and/+} マウス歯状回での細胞増殖は対照群に比べ有意に増大していた。また、老齢時の認知機能について行動解析を行った結果、老齢対照マウスに比べ老齢 BIRS2ko^{+/and/+} マウスの記憶、学習能力は高く保持されていた。これらの結果から、海馬歯状回の IRS2 シグナル経路は神経細胞新生を介した認知機能を負に制御し、脳老化調節に重要な役割を果たしている可能性が示された。

Keywords: 脳インスリン様シグナル、成体脳細胞新生、認知機能

T22

ミトコンドリア酸化ストレスに惹起される 脳内環境の加齢変化と記憶障害

¹⁾ 東海大学医学部分子生命科学、²⁾ 東海大学教育・研究支援センター
石井恭正¹⁾、高梨由美¹⁾、柳原倫太郎¹⁾、浅利真司¹⁾、安田佳代²⁾、石井直明¹⁾

これまでに筆者らは、ミトコンドリア電子伝達系複合体 II の SDHC サブユニット V69E アミノ酸変異により、電子伝達が部分的に阻害され、ミトコンドリア O₂^{*} を過剰発生する *Tet-mev-1* モデルマウスを用いて、その表現型解析に尽力してきた。

最近、若齢期 (4-8 ヶ月齢) と壮年期 (10-14 ヶ月齢) において海馬依存的な学習記憶能力を C57BL/6j 標準マウスと比較した結果、壮年期の *Tet-mev-1* マウスにおいて長期記憶形成に異常が確認された。しかし、脳内でのアミロイド β 1⁴² 蓄積や乳酸アシドーシス、細胞死等の神経変性疾患様の異常は確認されなかった。酸化ストレス発生とその障害を解析した結果、若齢期の *Tet-mev-1* マウスでは、抗酸化能力が亢進することで ROS 産生は抑えられていたが、壮年期になると、その抗酸化能力の亢進は抑えられ過剰な ROS 産生が生じていた。壮年期の *Tet-mev-1* マウスでは JNK/SAPK ストレス応答シグナルの活性化が確認され、アストロサイト細胞骨格を構成する中間径フィラメント GFAP 蛋白質量の低下が確認された。これらの結果から、海馬領域でのミトコンドリア酸化ストレスの発生はグリア・神経細胞連関を脆弱化し、長期記憶形成に障害を生じるものと示唆された。一方、若齢期の *Tet-mev-1* マウスでは p38MAPK-PP2A セリン/トレオニン脱リン酸化酵素シグナルが著しく抑圧されており、リン酸化 CREB が増大することで海馬依存的な学習記憶能力が亢進されていることを確認した。

以上の結果から、ミトコンドリア電子伝達系複合体 II 異常によりミトコンドリア O₂^{*} を産生する *Tet-mev-1* モデルマウスは、若齢期において抗酸化能力を亢進することで脳内環境を活性化するが、その影響により脳内環境の加齢変化 (グリア・神経細胞連関の脆弱化) が早期化する加齢性記憶障害モデルであると示唆された。

Keywords: ミトコンドリア、酸化ストレス、老化、記憶障害

T24

α4β2 型ニコチン受容体サブタイプの長期刺激は 大脳皮質アセチルコリン遊離を増加させる

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、慶応義塾大学薬学部・薬理学、北里大学薬学部・分子薬理学
内田さえ、渡辺さおり、三澤日出巳、川島紘一郎

【目的】 大脳皮質に遊離されるアセチルコリン (ACh) は認知機能を担う重要な伝達物質である。大脳皮質 ACh は主にマイネルト核 (NBMC) から大脳皮質に投射するコリン作動性神経に由来する。我々はこれまでに、ニコチン受容体 (nAChR) の長期刺激が成熟ラットにおいて大脳皮質 ACh 遊離の基底値および NBMC 刺激による遊離反応を増大させること、この効果は老齢ラットでは認められないことを報告した。本研究ではこの nAChR 長期刺激効果に関わる nAChR サブタイプを成熟ラットで調べた。

【方法】 代表的な nAChR サブタイプである α4β2 型作動薬 (ABT-418) および α7 型作動薬 (GTS-21) を浸透圧ポンプを用いて 14 日間持続皮下投与した。実験日に麻酔下で頭頂葉の細胞外液 ACh 濃度をマイクロダイアリス法と HPLC-ECD 法を用いて測定し、基底値と NBMC 電気刺激に対する ACh 遊離反応を観察した。

【結果】 α4β2 型 nAChR 作動薬の長期投与は、NBMC 刺激による大脳皮質 ACh 遊離反応を増大させた。他方、α7 型 nAChR 作動薬の長期投与は ACh 遊離に影響を及ぼさなかった。

【結論・考察】 nAChR 長期刺激による大脳皮質 ACh 遊離の増大効果には、α4β2 型サブタイプの関与が考えられた。老齢ラットでは nAChR 長期刺激効果が認められないことから (Uchida et al. 2013)、α4β2 型 nAChR の機能が低下している可能性が示唆された。

Keywords: cortical acetylcholine release, nicotinic receptor subtypes, nucleus basalis of Meynert, aging, rat

T25

ホスホチロシンアダプター ShcB 欠損マウス における小脳機能とプルキンエ細胞内 カルシウムシグナル系の阻害

¹京大・兼、²徳島文理大・香川兼、³長崎大・医、⁴国立がん研究センター
辻澤 昌^{1,3}、岸本 泰司²、山本 伸一郎¹、大神 和子³、
安田 邦彦³、堺 隆一¹、竹島 浩¹、森 望³

Shcファミリー分子は、受容体型チロシンキナーゼ等におけるリン酸化チロシン（ホスホチロシン）に結合する一方で、自身の持つCHドメインに結合するGrit等のシグナル伝達因子を介して細胞内にシグナルを伝達する「ホスホチロシンアダプター分子」である。Shcファミリーには、ShcA、ShcB、ShcCの3種類の分子が存在し、このうちShcAの或るアイソフォームが欠損するマウスは長寿化することから、寿命制御への関与が示唆されている。一方、神経系ではShcAの発現は殆ど見られずShcB、ShcCの発現が報告されているが、神経型Shcファミリー分子の機能については多くの点で未だに不明である。

ShcBは小脳皮質の主要細胞であるプルキンエ細胞で強い発現が見られることから、小脳機能への関与が考えられる。そこでまず、ShcB遺伝子欠損（ShcB-KO）マウスの小脳機能について調べたところ、小脳依存的な運動協調と瞬膜反射条件付けに異常が見られた。

次に、この異常の細胞・神経回路レベルでの原因を調べたところ、形態面での顕著な異常は見られなかったが、小脳依存的な学習の細胞レベルでの基盤とされる、平行線維-プルキンエ細胞シナプスにおける長期抑圧（long-term depression; LTD）に阻害が見られた。

さらにLTDに関与するシグナル系を調べたところ、プルキンエ細胞内のカルシウムストアに著しい阻害が見られた。以上の結果はShcBの小脳機能への関与を示すとともに、アダプター分子によるカルシウムストア機能制御の可能性を示す初めての報告でもある。

Keywords: ホスホチロシンアダプター、Shc、小脳、運動学習、シナプス可塑性、プルキンエ細胞、カルシウム放出

T27

高濃度水素水によるゲフィチニブの急性肺傷害抑制

¹生体環境応答・東京都健康長寿医療センター研、²解析人体病理・日本医大
鈴木徹也¹、寺崎泰弘²、渡名喜梢¹、○大澤郁朗¹

ゲフィチニブ（イレッサ）はEGFレセプターのチロシンキナーゼを選択的に阻害する分子標的薬で、非小細胞肺癌で顕著な腫瘍縮小効果を示す。しかし、急性肺障害などの死に至る重篤な副作用が知られ、その効果的な抑制手段が求められている。水素分子を高濃度に含む水素水は、放射線照射による肺繊維化や抗がん剤シスプラチンの腎毒性をマウスで抑制した。臨床でも肝がん放射線治療時のQOL改善が報告されている。そこで、水素水によるゲフィチニブの副作用抑制効果を検証した。

生後7週齢雌マウスにナフタレン200 mg/kgを腹腔内投与し、ゲフィチニブは200 mg/kg/dayで経口投与した。水素水もしくはコントロール水（水素再脱気水）は自由摂取させた。結果、コントロール水摂取群ではナフタレンとゲフィチニブの併用により急激な体重低下が観察され1週間に以内に12.5%のマウスが死亡したが、水素水摂取群で死亡した個体は無く体重低下も有意に抑制された。また、BALF中の細胞数とCCL2の増加、肺組織での単球・マクロファージとT細胞の増加がいずれも水素水の摂取で顕著に抑制された。尚、水素水投与はゲフィチニブによるTNF α 抑制効果に影響しなかった。

マウスへのゲフィチニブ単独投与で大きな病変は観察されないが、ナフタレンによる肺障害時にゲフィチニブを投与すると予後不良となる。ヒトにおいてもゲフィチニブの副作用を間質性肺炎や喫煙歴が増悪させることが指摘されており、今回のナフタレンとの併用モデルはこれに類似する。水素水が体重低下や肺病変を顕著に抑制したことは併でもゲフィチニブの副作用を抑止できる可能性が高く、早期の臨床応用が期待される。現在、ゲフィチニブの抗がん作用に対する水素分子の影響を調べている。

Keywords: 水素分子、抗がん剤、副作用、抗炎症効果

T26

成体神経幹細胞におけるSirt1の役割

名古屋市立大学大学院 医学研究科 再生医学分野
岸本憲人、澤本和延

成人の脳にも神経幹細胞が存在し、継続的に新しい神経細胞（ニューロン）が産生されていることが明らかになってきた。しかしながら、そのニューロンの産生は加齢に伴い著しく減少し、その原因として加齢に伴う神経幹細胞数の減少が考えられてきたが、そのメカニズムは不明である。われわれは、成体神経幹細胞の老化メカニズムを解明するための新たな研究モデルとして、ゼブラフィッシュ成魚の脳室壁付近（脳室下帯）の細胞構築を明らかにし（Kishimoto *et al.*, *J. Comp. Neurol.*, 2011）、さらに、脳室下帯で産生されたニューロンが脳傷害部位へ移動して失われたニューロンを再生させることを明らかにした（Kishimoto *et al.*, *Dis. Model. Mech.*, 2012）。これまでに、ゼブラフィッシュ若齢魚と老齢魚の脳室下帯の細胞構築を比較し、加齢に伴い神経幹細胞数が顕著に減少し、新生されるニューロン数の減少および脳傷害後のニューロン再生能の低下が生じることを明らかにしてきた。本大会では、ゼブラフィッシュ成魚の脳室下帯に存在する神経幹細胞の維持にSirt1が重要であることを報告する。

ゼブラフィッシュ脳室下帯に存在する神経幹細胞でSirt1が発現し、その発現レベルは加齢に伴い低下していた。神経幹細胞特異的にSirt1をノックダウンすると神経幹細胞数が減少することから、Sirt1が神経幹細胞の維持に必要であることがわかった。さらに、遺伝学的解析から、Sirt1がNotchシグナリングを介して神経幹細胞の維持に寄与していることが明らかになった。

Keywords: ゼブラフィッシュ、神経幹細胞、脳室下帯、Sirt1

T28

老化とエピジェネティクス：加齢と食餌制限による ラット腎臓のヒストン修飾および遺伝子発現変化

¹東京都健康長寿医療センター研究所・老化バイオマーカー、²順天堂大・院・
スポーツ健康医科学研究所
○川上恭司郎^{1,2}、中本英子²、形本静夫²、後藤佐多良²

【目的】ヒストン修飾は、スクレオソームやクロマチンの高次構造変化を介して遺伝子発現調節などに関わる。我々は現在までにラット肝臓においてヒストンH3のアセチル化の加齢による減少や食餌制限による増加を報告した。今回はラット腎臓における加齢および長期食餌制限の影響を見るためヒストン修飾量、炎症関連遺伝子のmRNA量、クロマチン免疫沈降法によるヒストン修飾の遺伝子特異性の解析を行った。

【方法】食餌制限群と自由摂食群の雄ラット（9, 27ヶ月齢）腎臓を用いた。ヒストン修飾は特異的抗体を用いたウエスタンブロット法、mRNA量はRT-PCRにより解析した。クロマチン免疫沈降法はNelsonらの方法に従い、各種プライマーを用いて定量的PCRを用いて比較した。

【結果・考察】ヒストンH3のアセチル化は若齢において食餌制限群が高値を示した。ヒストンH3の9番目リジンのアセチル化と10番目のリン酸化は加齢により増加したが、老齢の食餌制限群では若齢自由摂食群と変わらない値を示した。炎症関連遺伝子（TGF β 1, TNF α , IL1 β ）のmRNA量は加齢で増加したが、老齢の食餌制限群では増加は抑制されていた。遺伝子発現の変化とヒストン修飾の関与を調べるためにクロマチン免疫沈降・定量的PCR（ChIP-qPCR）を行った。ヒストンH3の9番目リジンのアセチル化抗体を用い、それぞれの遺伝子の転写開始点付近を調べると若齢食餌制限群が高い値を示した。

以上の結果より、炎症関連遺伝子のmRNA量とChIP-qPCRには関連性がないことが判った。ヒストン修飾と遺伝子発現との関連性については更なる解析が必要である。

Keywords: エピジェネティクス、ヒストン修飾、食餌制限、アセチル化

T29

miR-205による尿細管細胞のストレス応答制御と尿細管老化の抑制

東京大学医学部腎臓・内分泌内科
稲城玲子、村津四葉、南学正臣

microRNA (miR) の腎病態生理活性の解明を目指しヒト尿細管細胞 (HK-2) の miR microarray 解析を行い、ストレス負荷 (虚血再灌流、小胞体ストレス) による細胞障害 (細胞増殖抑制、細胞内 ROS 増加、細胞死誘導) が miR-205 の有意な発現低下を伴うことを明らかにした。そこで miR-205 の HK-2 における病態生理活性を loss/gain of function assay にて検討したところ、1) miR-205 は細胞保護的なストレス適応応答 (虚血適応応答、抗酸化酵素発現) を高めるのに重要であること、2) 過剰なストレス下で miR-205 の発現が低下すると、ストレス適応応答が抑制され、結果的に尿細管細胞のストレス感受性が亢進し、細胞死に至ることが明らかとなった。さらに in silico 解析や 3'UTR reporter assay による miR 標的遺伝子探索にて、miR-205 は虚血 / 小胞体ストレス応答経路 (HIF 経路、UPR 経路) の抑制因子であるプロリン水酸化酵素 1 (PHD1) の 3'UTR に結合し、PHD1 発現抑制を介してストレス適応応答 (特に抗酸化酵素発現) を高め、尿細管細胞恒常性に寄与することを明らかにした。さらに興味深いことに miR-205 の発現低下は尿細管細胞の細胞増殖抑制と共に老化マーカー (Senescence associated- β -gal, p53) の著明な発現亢進を招き、尿細管修復能 (cell migration) の低下を引き起こした。

以上、miR-205 は尿細管細胞において虚血や小胞体ストレスで惹起される細胞保護的適応シグナルを高め、尿細管細胞恒常性に寄与する重要な miR であることが示された。よって尿細管細胞 miR-205 の発現低下は、ストレス感受性や老化の原因となることが示された。

Keywords: microRNA、小胞体ストレス、虚血、プロリン水酸化酵素

T30

ラット排尿筋収縮反応の加齢性変化に対するカロリー制限食の効果

東京大学大学院医学系研究科 コンチネンス医学¹、泌尿器外科学⁴
東京都健康長寿医療センター 老化機構研究チーム²、老化制御研究チーム³
横浜市立大学大学院医学研究科 泌尿器病態学⁵
○伊藤悠城¹、相澤直樹¹、藤田泰典²、伊藤雅史²、堀田晴美³、本間之夫⁴、窪田吉信⁵、井川靖彦¹

[目的] 今回我々は、老齢ラットを用いて膀胱収縮機能の加齢性変化を検討するとともに、カロリー制限が老齢ラットの膀胱収縮機能にどのような効果をもたらすのかを併せて検討した。

[方法] Fischer 雄性ラットを、6 か月齢の若齢群 (n=8)、25-28 ヶ月齢の普通食老齢群 (n=8)、カロリー制限食老齢群 (n=8) の 3 群に分けた。カロリー制限食群は、6 週齢から 1 週間に 3 日普通食を与えたラットを用いた。各群のラット膀胱を摘出し、その排尿筋筋条片を organ bath 内に懸垂し、高 K⁺ (62mM)、カルバコール (CCh)、経壁電気刺激 (electrical field stimulation: EFS) による収縮反応を検討した。

[結果] 3 群間において高 K⁺ に対する収縮反応に差を認めなかったが、普通食老齢群の CCh に対する収縮反応は若齢群と比較して低下していた。更に普通食老齢群は若齢群と比較して、EFS に対する収縮反応が減弱しており、アトロピン感受性の収縮反応の割合は減少し、M-ATP 感受性の収縮反応の割合は増大していた。カロリー制限食老齢群と若齢群では、CCh と EFS に対する収縮反応に差を認めなかった。

[考察] 加齢およびカロリー制限は排尿筋自体の特性に影響を与えないが、加齢によりムスカリン受容体の機能と神経刺激による膀胱収縮機能は低下し、さらに神経刺激におけるコリン作動性成分の減少とブリン作動性成分の増大が認められた。これらの機能障害がカロリー制限により予防可能であることが今検討で初めて示唆された。

Keywords: 老齢ラット、膀胱機能障害、カロリー制限

T31

細胞質活性酸素と SOD1 は機械的刺激応答に伴う骨量変化を制御する

¹千葉大院医、²順天大院医、³東京医科歯科院医
○清水孝彦¹、森川大智^{1,2}、野尻英俊²、齋田良知²、渡辺憲史¹、麻生義則³、金子和夫²

運動器の恒常性は機械的刺激が重要であり、長期臥床・麻痺・無重力環境などにより機械的刺激が減弱すると、骨・筋は萎縮を呈する。我々は細胞質に局在する抗酸化酵素 SOD1 の欠損マウスで骨量が顕著に減少することを報告した。本研究では、機械的刺激減弱における活性酸素と SOD の関与を検討した。機械的刺激減弱モデルとしてマウスに尾部懸垂を行い、7 日後に採取した骨髄細胞での活性酸素産生量を蛍光試薬と FCM にて測定したところ、荷重群に比し有意に蛍光強度が増強していた。尾部懸垂後 7 日の骨髄細胞では、ALP や Runx2 など骨芽細胞分化関連遺伝子の mRNA 発現レベルの低下と破骨細胞分化マーカー (Cathepsin K) の発現レベル上昇が認められた。同時に、細胞内 SOD のうち SOD1 の特異的な発現上昇が認められたが、SOD2 の発現レベルに変化は見られなかった。尾部懸垂による骨髄内活性酸素の増加に対する SOD1 の関与が示唆された。次に、SOD1 欠損マウスにて尾部懸垂を行い、3D- μ CT 解析を行った。欠損マウスの大腿骨で骨量の減少が増悪した。骨形態計測においては、欠損マウスにおいて骨形成率の減少が有意に悪化した。尾部懸垂による骨吸収活性上昇率には有意差は認められなかった。さらに抗酸化剤ビタミン C を尾部懸垂時に腹腔内に投与したところ、有意に骨萎縮が軽減した。骨における機械的刺激減弱と活性酸素産生の関連性が明らかとなった。以上の結果より、SOD1 は機械的刺激減弱で発生した活性酸素による骨萎縮に対して防衛的役割があることが示唆された。

T32

免疫老化における Zizimin ファミリーの機能解析

独立行政法人 国立長寿医療研究センター 研究所 老化機構研究部
松田剛典、小栗沙織、早川朋子、丸山光生

種々の生体機能と同様に免疫機能も加齢に伴い低下することが知られており、なかでもリンパ球を中心とした獲得免疫系の変化は高齢者が抱える多くの疾患の罹患率や経過や予後と密接に関わっていることが知られている。我々は、免疫系の組織や細胞において特異的に発現している新規グアニンスクレオチド交換因子 (GEF) である Zizimin (Ziz) ファミリー遺伝子を指標に加齢に伴う免疫機能の低下にリンパ球をはじめとする多様な免疫担当細胞やそれらの細胞から産生されるサイトカインがどのように関与しているのかを分子レベルで解析することを通して、免疫老化のメカニズムの解明を目指している。Ziz ファミリー遺伝子 Ziz1, Ziz2, Ziz3 は、それらの C 末端に存在する CZH2 ドメインを介し低分子量 G 蛋白質 Cdc42 と結合し、活性化する遺伝子で、アクチン重合の制御等を介して細胞の運動性に関わるとされている。なかでも T 細胞依存的抗原刺激後のマウス脾臓中心における成熟 B リンパ球で高発現する遺伝子として我々が単離した Ziz2 は、野生型 C57BL/6 マウスの老齢個体 (24 ヶ月齢) においては、そのタンパク質の発現量が顕著に低下していたことから、免疫系における老化関連遺伝子のひとつとして注目している。これまでに、LPS で刺激した骨髄由来樹状細胞において Ziz2 の発現が上昇し Cdc42 が活性化され、糸状仮足 (フィロポディア) の形成が促進される事を報告してきた。本発表では、Ziz2 と同様に免疫系組織で発現が確認されている Ziz3 との比較を中心に近年作製した Ziz2 遺伝子欠失マウスや Ziz3 遺伝子欠失マウスを用いた骨髄、末梢の免疫担当細胞のフローサイトメリー解析や、免疫応答前後の免疫担当細胞内で発現している Ziz ファミリー遺伝子の発現解析等、現在行っている研究内容を紹介する。

Keywords: 免疫老化、Zizimin、GEF、B 細胞、糸状仮足

T33

Molecular evidence to the anti-cancer and anti-aging activities in the water extract of Ashwagandha leaves

National Institute of Advanced Industrial Science & Technology (AIST),
E-mail: s-kaul@aist.go.jp
Sunil KAUL and Renu WADHWA

Cancer is a leading cause of death accounting for 15-20% of global mortality. Its high incidence in aging society has further prioritized its basic and clinical research in last 2 decades. Although advancements in diagnostic and therapeutic technologies have improved cancer survival statistics, 75% of the world population live in under-developed regions and have poor access to the advanced medical remedies. Natural therapies hence become an alternative choice of treatment. Ashwagandha, a tropical herb used in Indian Ayurvedic medicine, has a long history of its health-promoting and therapeutic effects. In the present study, we have investigated the anti-cancer activity in the water extract of Ashwagandha leaves (ASH-WEX). By combining the chemical- and cell-based activity analyses, we demonstrate that ASH-WEX has anti-cancer activity and is predominantly assigned to its component triethylene glycol (TEG). Molecular analysis revealed that WEX and TEG activate p53 and pRB tumor suppressor pathways in cancer cells and increase the adhesion characteristics of cells. We also demonstrate that WEX is capable of causing differentiation of neuroblastoma cells and may serve as a natural drug for age-related pathologies.

合同 P23

マウス老化アミロイド (AApoAII) の沈着は小胞体ストレスを誘導する

信州大学医学系研究科疾患予防医科学系加齢生物学
羅 宏敏、銭 金澤、王 耀勇、田 耕、澤下 仁子、森 政之、樋口 京一

【目的】マウス老化アミロイドーシスでは AApoAII アミロイド線維が、加齢とともに全身の細胞外に沈着する。これまでに我々は熱ショック転写因子 (HSF1) 欠損マウスでは AApoAII 沈着が促進される事を明らかにした。最近、アミロイドーシスと小胞体ストレスとの関連が指摘されている。本研究では、AApoAII アミロイドーシスと小胞体ストレスとの関係を解析した。【方法】2ヶ月齢の R1.P1-Apoa2c 雌マウス尾静脈に AApoAII アミロイド線維 1 及び 100 µg を投与し、アミロイドーシスを誘発した。2 及び 4 月後にマウスを屠殺して全身のアミロイド沈着量を判定した。肝、腎及び心臓の小胞体分子シャペロンと小胞体ストレスシグナル伝達系の遺伝子及びタンパク質の発現変化を測定した。【結果および考察】1) アミロイドーシス誘発2ヶ月後には AApoAII アミロイドが全身に沈着し、4ヶ月後ではさらに重篤化した。2) アミロイド沈着に伴い、肝臓での小胞体分子シャペロン GRP78/ BiP の mRNA 発現量の有意な増加が RT-PCR と Rael-time PCR により示された。GRP78/ BiP タンパク質の増加は Western blot 解析でも確認された。さらに、免疫組織染色法で細胞周囲のアミロイド沈着によって細胞内 BiP 量が増加することが示された。腎臓でも GRP78/ BiP mRNA 発現量の有意な増加が、RT-PCR と Rael-time PCR で示された。3) アミロイド沈着によって、肝臓で小胞体ストレスシグナル伝達因子 Eif2ak3, Atf6, Atf4, Xbp-1s の mRNA 発現量が増加した。腎臓でも Eif2ak3 の mRNA 発現量が増加した。4) アミロイド沈着により、肝臓と腎臓で Autophagy protein 5 (Atg5) の mRNA 発現頻度が増加した。5) 心臓では小胞体分子シャペロンや小胞体ストレスシグナル伝達因子の発現変化は確認できなかった。【結論】小胞体ストレスと AApoAII アミロイドーシスとの関係が示された。

Keywords: マウス老化アミロイドーシス, 小胞体ストレス, Bip, Atg5

合同 P24

血管内皮細胞における Aβ 産生機構と脳アミロイド血管症

¹国立長寿医療研究センター ラジオアイソトープ管理室、²同認知症先進医療開発センター 治療薬探索研究部 リード分子探索研究室、³名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
三河隆太^{1,2}, 吉見達也², 奥野海良人¹, 岡田健², 高柳亜紀子¹, 滝川修^{1,2}

【目的】アルツハイマー病 (AD) 脳では 80% 以上の高い頻度で血管壁周囲に Aβ 凝集体の沈着が生じ脳アミロイド血管症 (cerebral amyloid angiopathy:CAA) を発症するが、Aβ の由来は不明である。脳微小血管は、血管内皮細胞、アストロサイト、ペリサイトで構成され、前者 2 細胞で Aβ 産生能が最近明らかにされつつある。従って、CAA で沈着する Aβ は血管構成細胞由来である可能性が高い。本研究では血管内皮細胞の Aβ 産生機構を詳しく調べ、CAA の病態を解明する。【方法】脳血管内皮細胞のモデルとして汎用されるヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を使用した。Aβ は本来、粘着性であり、細胞外マトリクスにトラップされ、代謝されると予想されることから、細胞外マトリクスが少ない低密度培養条件と細胞外マトリクスが多い高密度培養条件で Aβ の産生量を解析した。Aβ 産生は培地中の Aβ を ELISA で測定することにより評価した。【結果】低密度細胞培養条件では、Aβ 量は細胞数の増加に比例して増加した。これに対し高密度の培養条件の Aβ 量は 48 時間まで一定レベルを維持したが、次の 24 時間培養で急激に減少した。72 時間目の培地中に Aβ 分解活性を認め、その活性は熱処理で失活し、また、プロテアーゼ阻害剤で抑制された。【考察】Aβ の産生量は合成と分解のバランスで決定される。cell-cell interaction が強い高密度の長期培養では分解が優位となり、その分解は細胞から分泌される Aβ 分解酵素に因る。高密度培養条件は生体内に近いと考えられ、Aβ の合成と分解の調節破壊が CAA 発症の原因である可能性が考えられる。

Keywords: アルツハイマー病, 脳アミロイド血管症, 血管内皮細胞

合同 P26

マイネルト核刺激による大脳皮質層特異的な動脈拡張反応

都健康長寿研 自律神経¹, 放医研 分子イメージング², 電通大 先端教育研³, 慶応大 総合デザイン工学⁴, 都健康長寿研 老年病⁵
堀田晴美¹, 正本和人^{2,3}, 内田さえ¹, 関口優太¹, 田桑弘之², 川口拓之², 重本和宏¹, 須藤 亮¹, 谷下一夫¹, 伊藤浩², 菅野巖²

【目的】大脳皮質へコリン作動性線維を投射するマイネルト核 (NBM) の変性がアルツハイマー病などにおける認知機能低下の主な原因と言われている。NBM からのコリン作動性線維の賦活は大脳皮質血流を著しく増加させるが、脳血管がどのように反応して血流増加を誘発するか不明であった。そこで今回、大脳皮質の細動脈が NBM 刺激中に拡張するかどうか調べた。【方法】成熟雄性マウスを用いた。麻酔下にて血漿を蛍光標識し、前頭葉皮質の異なる深さ (~750 µm, I-V 層) の単一細動脈を 2 光子励起顕微鏡で観察した。NBM の電気刺激 (30-50 µA, 50 Hz)、あるいは脳血管拡張作用の良く知られている高炭酸ガス刺激 (3%CO₂ 吸入) を加え、直径の変化を調べた。【結果】NBM の電気刺激中に細動脈の直径が増大した (刺激前の直径の 9-13%)。ただし、その作用には深さ特異性があり、脳表面と V 層上部においてはほとんど変化しなかった。直径は、上層 (I-III 層) においては NBM 刺激開始 1 秒以内に増大し始めたが、下層ではそれより遅かった。高炭酸ガス刺激中には測定した全ての部位で顕著な直径増大が見られた。【考察】NBM の活性化は、大きさや潜時において大脳皮質層構造特異的な細動脈の拡張を誘発することが明らかとなった。この事実は、NBM からのコリン作動性支配の喪失と皮質ニューロンの層状脱落とを特徴とするアルツハイマー病の病因解明に寄与するかもしれない。

Keywords: マイネルト核, 大脳皮質, 細動脈, 二光子励起顕微鏡

合同 P27

神経保護因子 BDNF によるシグナルアダプター N-Shc
蛋白質（リン酸化型）の海馬神経細胞内局在の変化

長崎大学医学部神経形態学教室
大山恭司、岡本愛子、森望

過剰な NMDA は、酸化ストレスを上昇させ神経変性疾患を引き起こすリスク因子である。一方、神経栄養因子 BDNF は、過剰な NMDA が示す神経毒作用から海馬神経細胞を保護することが報告されている。また、BDNF 受容体に結合するシグナルアダプター Neural Shc (N-Shc) は複数のチロシンリン酸化部位を有することも知られている。しかしながら、神経保護シグナル BDNF が、リン酸化型 N-Shc 蛋白質の発現およびその神経細胞内局在に及ぼす影響はいまだ明らかでない。

今回、我々は、ラット成熟海馬神経細胞を NMDA および BDNF で共処理した後、リン酸化型 N-Shc 蛋白質の発現および細胞内局在を免疫細胞染色により検討した。その結果、神経保護シグナル BDNF によって、221 番目あるいは 259 番目のチロシン残基がリン酸化された N-Shc 蛋白質 (pY221, pY259) が海馬神経細胞の樹上突起に一過性に発現することを見いだした。さらに、NMDA が pAkt の発現を抑制するのに対して、BDNF は pAkt の樹上突起上における発現を一過性に誘導、その後も神経細胞体における発現を維持することが明らかとなった。以上の結果から、BDNF によるリン酸化型 N-Shc (pY221, pY259) および pAkt の樹上突起上の一過性発現、その後の細胞体における発現維持が神経保護に重要な役割を果たす可能性が考えられる。

P1

組織内タウリンの欠乏による寿命及び
組織老化への影響

兵庫医療大学・薬学部
伊藤崇志・乾剛彰・上田緑・東純一

【背景】タウリンは生体内に広範囲且つ高濃度に存在する含硫アミノ酸で、細胞内カルシウム動態の維持や浸透圧調節などの多様な生理作用を持ち、組織保護効果を発揮する。これまでの報告からタウリンの抗老化作用が示唆されるが、詳細は明らかではない。今回、我々はタウリン欠乏を呈するタウリントランスポーター欠損マウス(以下、TauTKO マウス)における生存率及び組織老化を解析し、タウリンの抗老化作用について検討した。

【方法・結果】TauTKO マウスと野生型マウスの生後 600 日の生存率を追跡し、Kaplan-Meier 法で解析した。また、組織老化の評価は、雄の若齢及び高齢 (18 ヶ月齢～) マウスの組織を採取後、組織学的解析及び老化マーカー遺伝子の発現解析により行った。

【結果】生後 600 日間の生存率は野生型マウスでは 97% (2/72) に対して TauTKO マウスは 71% (18/62) であり、有意な生存率の変化が観察された。高齢マウスにおいて各組織における p16INK4a 遺伝子の発現量は、骨格筋では TauTKO マウスにおいて野生型と比較し約 20 倍であった。また、肺、腎臓においては約 2 倍の発現亢進がみられた。骨格筋の組織学的解析の結果、高齢 TauTKO マウスの骨格筋において中心核を持つ筋繊維の割合は高齢野生型マウスと比較して顕著に多かった。また、筋繊維の断面積は TauTKO マウスにおいて小さかった。一方、若齢マウスにおいては TauTKO、野生型ともに中心核繊維は見られず、加齢依存的な組織像であることが確認された。

【考察】以上の結果から、組織中タウリンの欠乏は骨格筋の老化を促し、寿命の短縮に寄与することが示唆された。

合同 P28

GM - CSF 依存的に長期増殖するマウス骨髓由来
マクロファージ細胞の解析 2

名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞免疫学
伊藤佐知子、田中ゆりこ、西尾尚美、Cheng Zhao、磯部健一

目的：骨髓細胞は Granulocyte Macrophage colony-stimulating Factor (GM-CSF) 存在下で培養すると、樹状細胞やマクロファージに分化するが、これらの分化した細胞以外にも、未分化マーカーを発現する細胞が存在する。我々は、これまでに、骨髓を GM-CSF 存在下で培養し続けることで、一年以上安定して GM-CSF 依存的に増殖するマクロファージ様細胞を樹立した。また、今回、15 ヶ月齢マウスの骨髓からも、8 ヶ月以上培養可能なマクロファージ様細胞を作製した。高齢マウスからも、マクロファージ様の細胞が培養増殖できれば、重症感染時に投与することで、老化に伴う免疫異常を治療する可能性を示す可能性が考えられる。そこで、この GM-CSF 依存的マクロファージ様細胞の機能解析を行うことを目的とした。

方法と結果：2 ヶ月齢、15 ヶ月齢 C57BL/6 マウスから骨髓を採取し、petri dish 上で、GM-CSF 存在下で培養を行った。通常 6 日程で、マクロファージや樹状細胞が得られるが、さらに培養を続けると、均一な半付着性のモノサイト様の細胞群が得られ、GM - CSF 依存的に増殖し続ける細胞が得られた。これらの細胞は F4/80 陽性であり、細菌の貪食能を維持しており、また、LPS 刺激による炎症性サイトカイン産生を示すことが明らかとなった。現在、これらの長期培養マクロファージの詳細な機能について解析を行っている。

Keywords：マクロファージ、細胞老化、自己細胞治療

P2

老化促進モデルマウスの筋肉減少および筋力低下に対する
eicosapentaenoic acid (EPA) の効果

¹名古屋大学院医学系研究科健康スポーツ医学²名古屋大学総合保健体育科学センター³名古屋大学院医学系研究科地域在宅医療学・老年科学
夏目有紀枝¹、小池見彦^{1,2}、成憲武³、葛谷雅文³、押田芳治^{1,2}

【目的】老化促進モデルマウス (SAMP1) の加齢性筋肉減少および筋力低下に対して n-3 系不飽和脂肪酸 EPA の投与が及ぼす効果を検討する。【方法】SAMP1 の対照には SAMR1 (正常モデル) を用いた。EPA とコーン油 (対照) の添加量は飼重量の 6% とし、投与期間は、1) 6 週齢より 24 週間、2) 25 週齢より 5 週間、の 2 グループを設けた。筋力評価には小動物用握力メータを使用し、前脚と四脚で測定した。筋肉は四脚を中心に採取して計量した。【結果】前脚の握力測定においては有意な差は認めなかったが、SAMP1 の四脚測定では、コーン油投与群で見られた握力低下が EPA により抑制される傾向が見られた ($p=0.07$)。いずれのグループにおいても、SAMP1 の骨格筋量は SAMR1 に比べて全般に低下が認められたが、EPA による有意な回復はなかった。SAMR1 では、腓腹筋と足底筋の合計 (グループ 1: コーン油群 0.326 ± 0.014 g, EPA 群 0.355 ± 0.021 g, グループ 2: コーン油群 0.330 ± 0.019 g, EPA 群 0.367 ± 0.020 g)、大腿四頭筋 (グループ 1: コーン油群 0.397 ± 0.027 g, EPA 群 0.444 ± 0.033 g, グループ 2: コーン油群 0.427 ± 0.018 g, EPA 群 0.458 ± 0.027 g) において、EPA 投与による有意な増加が見られた。なお、解剖を行った 30 週齢における生存率は、SAMR1 では 100% であったが、SAMP1 では 58% で、コーン油の投与後に生存率が明らかに低下した。【結論】EPA は、老化による筋肉量の減少を抑えなかったが、筋力の低下を抑制する可能性がある。

Keywords: SAMP1、EPA、加齢性筋肉減少、加齢性筋力低下

P3

骨格筋前駆細胞におけるニッチ構成タンパク質 SPARC の内在化とその加齢性変化

東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医生理学研究室
中村 克行 山内啓太郎 西原真杉

骨格筋には筋前駆細胞以外にも脂肪前駆細胞が存在する。中でも骨格筋内の脂肪前駆細胞の脂肪分化能は加齢に伴い亢進することが知られており、このことが高齢者の骨格筋内でよくみられる脂肪蓄積を引き起こす一因と考えられている。分化能の加齢性変化を引き起こす要因として組織内の微小環境（ニッチ）が大きく寄与することが明らかとなっている。我々はこれまでにラット骨格筋由来の前駆細胞において脂肪分化抑制作用を持つニッチ構成タンパク質 Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) に対する反応性が加齢に伴い低下することを見出した。本研究ではこの SPARC 反応性低下の機序の解明を目的として、蛍光標識 SPARC を用いて骨格筋前駆細胞における SPARC の動態を調べた。その結果、骨格筋前駆細胞は SPARC を細胞内に取り込むことが明らかとなった。この SPARC の細胞内への取り込みは SPARC 結合因子であるインテグリン α 5 依存性であり、クラスリンを介したエンドサイトーシス経路で、その後 Rab7 陽性の後期エンドソームへと輸送されることも判明した。次に SPARC 内在化の加齢性変化を調べたところ、老齢ラット由来の細胞においては SPARC の取り込みが亢進しており、クラスリン発現量の増加ならびに Rab7 発現量の減少もみられた。クラスリン、Rab7 を siRNA により抑制した状態で SPARC の作用を調べたところ、クラスリンは SPARC の脂肪分化抑制作用を緩和し、Rab7 は増強することが示唆された。以上のことから SPARC に対する反応性の低下は、SPARC の内在化の加齢性変化に起因する可能性が示された。

Keywords: 骨格筋、脂肪分化、SPARC、エンドサイトーシス

P5

Cas/HEF1 associated signal transducer 過剰発現による神経細胞死

東京都老人総合研究所 老化制御・老化再生
五味不二也、内田洋子

β -アミロイド (A β) はアルツハイマー病の原因物質であり、培養系における神経毒性から、認知症の発症に重要な役割をはたしていると考えられている。しかし、A β 毒性の分子機構はまだ明らかではない。A β がどのような遺伝子群の発現を変化させるのかを、網羅的に解析した A β で発現誘導される遺伝子候補のなかに Cas/HEF1 associated signal transducer (Chat) があつた。Chat は SH2 領域、a guanine nucleotide exchange factor for Ras like small GTPases 様領域を持ちいろいろな分子と結合し、細胞の移動や形態などに関与する。しかし、細胞死に関与するという報告はない。

Northern hybridization により Chat の発現変化の確認をしたところ培養ニューロンで A β 添加により 2.8 倍増加していた。

この遺伝子に Myc-tag をつけ培養神経細胞に強制発現させたところ、このタンパクを発現している細胞では神経細胞死が誘導されていた。C 末側の Cas 結合領域を欠いたタンパクを強制発現させると細胞死の誘導はせず、かえって神経細胞死を抑制していた。

Chat C 末側に結合する p130Cas や NEDD9 を Chat と共発現させると神経細胞死は抑制された。

Chat C 末側に結合し細胞死を誘導する分子を探出し神経細胞の機構などを検討する。

Keywords: Cas/HEF1 associated signal transducer (Chat)、 β アミロイド、神経細胞死

P4

初代培養海馬神経細胞における HDAC6 による mTOR を介した オートファジー誘導シグナル制御機構について

長崎大学医学部神経形態学（解剖学第一）
安田邦彦、大山恭司、田口祥身、森 望

神経細胞は生体内において最も長寿な細胞のひとつであり、その恒常性の維持が長寿をもたらす根幹の一つとなる。一般的にアルツハイマー病などの神経変性疾患は当然のことながら長期間生存することにより細胞内には不要かつ不良なタンパク質が増加する。しかしながら、細胞はタンパク質品質管理機構 (Protein Quality Control: PQC) を用いて、細胞内環境を維持するように働く。1) 分子シャペロンによるタンパク質修復、2) ユビキチン-プロテアソーム系によるタンパク質分解、3) オートファジーによるタンパク質分解系、と大別できる。我々はいずれの PQC においても制御分子として関与する HDAC6 (ヒストン脱アセチル化酵素) に着目し、神経細胞における細胞内環境に対する効果について、初代培養海馬神経細胞を用いて検討を行った。その結果、HDAC6 を過剰発現させた海馬神経細胞にポリグルタミン病 (polyQ 病) の原因タンパク質である polyQ を共発現させるとその polyQ による凝集形成が促進すること、その形成過程には PQC の中でもオートファジー誘導が深く関与すること、さらに HDAC6 はオートファジー誘導シグナル経路における Akt/PKB の活性を変化させることでオートファジー誘導を制御することを明らかにした。以上の結果は非神経細胞では海馬神経細胞と全く逆の結果を得ており、神経細胞特有の制御システムの存在を示唆している。

Keywords: HDAC6、オートファジー、ポリグルタミン、Akt、mTOR

P6

老化促進マウス (SAMP8) の記憶障害とアミロイド β ペプチド沈着に対する ZSET1446/ST101 の効果

全業工業株式会社中央研究所
山口 芳正、斎藤 賢一、松野 俊行、武田 健太郎、日野 正孝

老化促進マウス (SAMP8) は加齢に伴い学習・記憶障害を示すことが知られており、多くの研究で老化モデル動物として用いられている。本研究では、SAMP8 の記憶障害とアミロイド β ペプチド (A β) の沈着に対するアザインドリジン類縁体 ZSET1446/ST101 の効果を検討した。8ヶ月齢の SAMP8 は、若齢 (8 週齢) の SAMP8 と比較して新奇物体認識課題において記憶障害を示した。さらに SAMP8 の老化を示す指標である grading score は 9ヶ月齢から 12ヶ月齢まで徐々に増加した。また、脳内の海馬における A β 免疫陽性顆粒数についても 8ヶ月齢から 10ヶ月齢にかけて増加していた。

8ヶ月齢の SAMP8 に ZSET1446 を 0.002、0.01 または 0.1 mg/kg/day の用量で投与できるように飲料水に溶解して飲水投与し、その後の実験を行った。ZSET1446 を飲水投与することによって、投与開始 4、8、12 および 16 週間後に実施した新奇物体認識課題において記憶障害が改善された。さらに ZSET1446 の 16 週間の飲水投与によって grading score の増加も抑えられ、また 8 週間の飲水投与によって海馬における A β 免疫陽性顆粒数の増加も抑制された。

これらのことから、ZSET1446 は SAMP8 の記憶障害に対して改善効果を持ち、その作用の一部には海馬における A β 沈着の抑制が関与していると考えられる。

Keywords: SAMP8、ZSET1446、アミロイド β 、学習

P7

プロテオミクスによるヒト大動脈解離症の解析

¹健康長寿医七研・老化機構 ²東医南大・保健衛生 ³横浜市大・先端研 ⁴健康長寿医七・病理診断 ⁵東京都監察医務院
三浦ゆり¹、岩本真知子¹、吉田祥子²、戸田年純³、森澤拓¹、新井富生¹、濱松品彦⁵、遠藤玉夫¹、沢田元司²

動脈硬化の原因のひとつである「加齢性中膜変性症」は、梗塞などの閉塞性合併症を伴わないため、粥状硬化症に比べて研究が著しく遅れている。しかし、加齢により生理的に発生することや、大動脈瘤やうっ血性心不全など重篤な症状を引き起こす場合もあることから、その病態を解明することは社会的要請が高い。そこで本研究では、中膜変性症の一種である大動脈解離症について動脈中膜組織のプロテオーム解析を行い、特異的に変動するタンパク質や翻訳後修飾について明らかにすることを目的とする。また、加齢の影響についても明らかにするため、解離症を発症していない超高齢者サンプルについても併せて解析する。

サンプルは東京都健康長寿医療センター症例より採取し、病理診断の確定したもののについて、対照群9例、解離症例2例(91歳、79歳)、超高齢者2例(100歳、96歳)を解析した。採取した大動脈中膜は、マッシュャーやジルコニアビーズを用いて破砕し、タンパク質を抽出した。蛍光色素(IC3-OSu, IC5-OSu)を用いてタンパク質のラベルを行った後、等電点電気泳動(pI4-7)及びSDS-PAGEによる二次元電気泳動を行い、蛍光スキャナーにより画像を取り込んでスポットの定量解析を行った。発現の変動したスポットについて、トリプシンによるゲル内消化を行い、MALDI-TOF/MS及びMALDI-TOF/MS/MSを用いた質量分析により、タンパク質を同定した。

大動脈解離症において、アクチン、ミオシン、トロポミオシン、プロテイン S-100 など、平滑筋の収縮に関与するタンパク質スポットが変動していることが明らかになった。また、高分子型のビメンチンが増加しており、大動脈解離症の動脈中膜においてビメンチンの翻訳後修飾が重要であることが示唆された。

Keywords: プロテオミクス、大動脈解離症、二次元電気泳動

P9

ゼブラフィッシュの加齢に伴う DNA メチル化の減少と組織再生との関連の可能性

¹国立長寿医療研究センター再生再生、²広島大学理学研究科
¹下田修義 ²廣瀬健太郎 ²菊池裕 ¹橋本有弘

ゼブラフィッシュのヒレでは日々の摩滅により失われていく細胞が恒常的な再生により補われ、それによりヒレの形態は維持される。したがって少なくともヒレを構成する細胞では加齢とともに再生を経る頻度が高くなると考えられる。我々はこれまでにゼブラフィッシュの体細胞において加齢依存的な DNA メチル化の低下が、CpG アイランドショアという領域に生じることを見出したが、それを誘引する事象は不明であった。今回、再生とメチル化の低下の関連を調べるため、尾ヒレを人為的に切断し再生させるという過程を連続して二度行い、再生したヒレにおけるメチル化を、加齢により低メチル化する EFl α 遺伝子領域の CpG アイランドショアにおいて解析した結果、再生ごとにメチル化レベルがおおよそ半減することが明らかになった。一方、加齢によりメチル化レベルが変化しないリピード領域では再生後もメチル化レベルに変化が見られなかった。この結果はゼブラフィッシュに見られる加齢依存的なメチル化低下と組織再生との関連を示唆する。

Keywords: DNA メチル化、再生、ゼブラフィッシュ

P8

動画撮影によるマウス行動の記録と、パラメトリックなデータ解析

秋田県立大学大学院 生物資源科学
大類はるな、小西智一

老化にともなって、運動の様式や速度・持続時間などが変化する。これを客観的に測定・解析できれば、老化の度合いや薬効の指標として用いることができる。

これまで実験用小動物の行動は、赤外線センサーの前を横切る回数や、ランニングホイールの回転数を数える等、専用の器具を用いて測定されてきた。やがてビデオ撮影が普及するようになったが、装置も解析のソフトウェアもかなり高価であった。しかし、デジタル機器の普及によって手軽に高画質・長時間の画像を記録できるようになり、またパソコンの性能が進歩したため、高価なソフトウェアに頼らなくても、そうした動画を半自動で解析できるようになった。

実際に測定したマウスの行動からは、これまで報告されていなかった統計学上のパターンが認められた。この性質に着目して解析することで、客観的かつ高感度に行動の違いを検出することが可能になる。本発表では、オープンフィールド内の走行および金網のよじ登り運動の動画記録を用いて、老化による行動の変化や、L-DOPA などの薬剤の効果について解析した結果を報告する。また効率的に撮影するためのノウハウをいくつか紹介する。

Keywords: 小動物、運動、デジタル動画、パラメトリック解析

YP1

Aged-iPS 細胞の免疫原性

名古屋大学医学部免疫学
Tanasegaran Suganya, Zhao Cheng, 伊藤佐知子、西尾直美、磯部 健一

将来 iPS 細胞が臨床に使われるためには、自己から作成した iPS 細胞を分化させ、再び自己に戻した時に拒絶されないことが必要である。ところが、昨年、レトロウイルス 4 因子で作成した iPS 細胞を同系マウスに移植すると、拒絶されることが報告された。ヌードマウスでは奇形腫を作成することから自己の T 細胞が拒絶に働くことが判明した(Nature 2011)。このことは iPS 細胞の臨床利用に大きな障害となる。私たちは老化 iPS (Aged-iPS) と MEF-iPS 細胞と iPS 細胞から分化させたマクロファージを同系マウスに移植することで、自己免疫系が自己の奇形腫を拒絶するか否かを検討した。

方法と結果: 初めに C57BL/6 (B6) 由来 MEF-iPS 細胞、15 か月齢 iPS 細胞を同系 C57BL/6 マウス背部に注射すると、約1ヶ月で奇形腫を形成した BALB/c マウス背部への移植では拒絶された。また、iPS 細胞をスカフォールドで培養し、それを C57BL/6 に移植すると、スカフォールド内の iPS 細胞は増殖した。T 細胞の浸潤はわずかであった。BALB/c に移植すると、T 細胞浸潤が高度に起こり増殖できなかった。iPS 細胞から分化させた、マクロファージをスカフォールドで培養し、それを C57BL/6 に移植すると、スカフォールド内のマクロファージ細胞は増殖した。このマクロファージは E.col の貪食、殺作用を持っていた。このスカフォールドを BALB/c マウスに移植すると、T 細胞が浸潤し、拒絶された。

Keywords: iPS、免疫

YP2

老化研究用 TIG 細胞由来の初期化細胞および分化細胞 におけるテロメア長の変化と細胞老化

徳島文理大学 香川薬学部

松尾平、鎌田瑞菜、熊崎寿、東條恵、高橋知子、三井洋司

iPS 細胞は、テロメラーゼの働きによりテロメアが維持され不死化していると考えられるが、そこから分化させた細胞の寿命や、分化細胞が正常細胞と同様に老化していくのかなどについての情報はほとんどない。これらの情報は、iPS 細胞を臨床応用する上でも極めて重要である。我々は老化研究用の TIG-1 細胞から iPS 細胞を 22 クローン樹立することに成功し、それらを SCID マウスに移植することで teratoma を形成させた。そして各 teratoma から iPS 細胞由来の分化細胞を多数分離した。まず teratoma 由来細胞の分裂寿命について調べたところ、ほとんどの細胞が約 20 回の細胞分裂の後に分裂停止に至り、老化関連 β -ガラクトシダーゼ染色陽性となった。さらにテロメラーゼの発現とテロメア長の変化を調べたところ、初期化された時点ではテロメラーゼの発現が確認でき、テロメア長は元の TIG-1 より長くなっていた。そして teratoma 由来細胞ではテロメラーゼの発現は弱く、培養を続けるにつれてテロメア長の短縮が見られた。これらの結果は iPS 細胞が分化、増殖することで正常細胞同様にテロメアが短縮し老化していくことを示している。一方で teratoma から軟寒天培地中で増殖する細胞も複数分離できている。これらの細胞はがん化形質の一部を獲得したと考えられ、実際に他の細胞よりも分裂停止に至るまでの分裂回数が多かった。さらに増殖速度が低下したにもかかわらず老化関連 β -ガラクトシダーゼ染色でほとんど染色されない細胞集団もあった。このように同一細胞から老化細胞、最終分化細胞、がん化形質獲得細胞を樹立出来た意義は高い。

Keywords: テロメラーゼ、テロメア、iPS 細胞

YP4

カロリー制限がミトコンドリアおよび 脂質代謝に及ぼす影響の経時的解析

東京理科大学 薬学部 分子病理・代謝学研究室

土屋 拓郎、沖田 直之、須藤 結香、樋上 賀一

【背景・目的】カロリー制限 (CR) の抗老化・寿命延伸効果には、エネルギー代謝に関わるミトコンドリアが重要な役割を担うと考えられている。また、CR のエネルギー代謝の特徴は、エネルギー効率のよい脂質を主体とするところである。我々は、6 ヶ月間 CR したラットの白色脂肪組織 (WAT) をプロテオーム解析し、CR がミトコンドリアや脂肪酸合成に関わるタンパク質発現を増加させることを報告した (Okita et al. MAD, 2012)。しかし近年、CR 開始 14 週後のラットの WAT や肝臓において、ミトコンドリアバイオジェネシスを亢進しないという報告がなされた (Hancock et al. FASEB J, 2011)。そこで本研究では、この相反する見解を CR 期間や組織の違いによるものと考え、CR が及ぼす影響を WAT や肝臓において、経時的に解析した。

【方法】Wistar 系雄ラットを 3 ヶ月齢から自由摂食 (AL) 群と CR 群に分け、CR 群には AL 群の 70% の餌を与えた。3.5、4、5、6、9 ヶ月齢時に屠殺後、WAT と肝臓、血清を採取し、種々の解析を行った。

【結果・考察】WAT では、CR により全月齢でミトコンドリア活性及び脂質代謝関連タンパク質が顕著に増加した。また 9 ヶ月齢 (CR 期間 6 ヶ月) では、CR により脂肪分解の律速酵素である ATGL (adipose triglyceride lipase) のタンパク質発現量が顕著に増加した。興味深いことに、5 ヶ月齢では CR にともなうミトコンドリア DNA 量と脂肪合成関連タンパク質の増加が一時的に抑制された。一方、肝臓では 5 ヶ月齢以降より、CR によりミトコンドリア活性は高い値を示したが、脂質代謝関連タンパク質には顕著な変化を及ぼさなかった。以上の結果から、1) CR がミトコンドリアに及ぼす影響の相反する報告は CR 期間の違いであること、2) CR の最大の作用点は WAT であること、3) CR での特徴的なエネルギー効率のよい脂質代謝への改変には 3 ヶ月以上の CR 期間を必要とすることが示唆された。

Keywords: カロリー制限、ミトコンドリア、脂質代謝

YP3

脂肪細胞におけるオートファジーの役割

東京理科大学大学院 分子病理・代謝学研究室

水之江 雄平、三上 健太郎、沖田 直之、須藤 結香、樋上 賀一

【目的】オートファジーは不要なタンパク質や細胞内小器官を分解することで細胞の恒常性を維持する機構である。我々は肥満症マウスの脂肪組織では、オートファゴソーム (AP) が蓄積すること、一方、カロリー制限によりオートファジーが亢進することを見出した。そこで、本研究で脂肪細胞におけるオートファジーの役割を明らかにするために、白色脂肪細胞前駆細胞株である 3T3-L1 細胞を用いて解析した。

【方法・結果】3T3-L1 細胞の分化・肥大化にともない AP 形成因子である LC3-II が増加し、オートファジーの選択的基質である p62 タンパク質も増加した。また、電子顕微鏡により AP の増加が確認された。それゆえ、分化・肥大化により AP の分解効率低下している可能性が示唆された。AP の分解にはリソソーム機能が重要であることからリソソームの pH を測定したところ、分化・肥大化にともない中性化していた。次に、このオートファジーの機能低下が脂肪細胞の形質に及ぼす影響を検討するため、脂肪細胞にオートファジー抑制剤もしくは促進剤を処理した。抑制剤処理により、AP 内にミトコンドリア様オルガネラの増加が観察された。またミトコンドリア DNA およびタンパク質は増加、ROS (reactive oxygen species) 産生も増加し、アディポカインプロファイルは増悪した。一方、促進剤処理により、ミトコンドリア DNA およびタンパク質は減少、ROS 産生は抑制され、アディポカインプロファイルは改善した。

【考察】以上から、肥大化した脂肪細胞ではリソソームの機能障害により AP が蓄積すること、オートファジーによりミトコンドリアを分解することで ROS 産生を抑制し、脂肪細胞の形質を良好に保つ可能性が考えられた。

Keywords: オートファジー、脂肪細胞、ミトコンドリア

YP5

Srebp-1c はカロリー制限 (CR) による 抗老化・寿命延伸効果に重要である

東京理科大学大学院 薬学研究所 分子病理・代謝学研究室

成田 匠、藤井 波木、沖田 直之、須藤 結香、樋上 賀一

【背景・目的】CR は様々な生物種において平均及び最大寿命を延長する。我々は白色脂肪組織 (WAT) において、主要な脂肪酸合成関連転写因子 sterol regulatory element binding protein (Srebp)-1c が制御する遺伝子群が CR により高発現することを見いだした。そこで、Srebp-1c が CR の抗老化・寿命延伸効果に及ぼす影響およびそのメカニズムを解析した。

【方法】Srebp-1c^{+/+} (Wd) 及び Srebp-1c^{-/-} (KO) マウスを 12 週齢より自由摂食 (AL) 群と CR 群に分け、34 ~ 40 週齢で屠殺した。屠殺時に主要臓器を摘出し、種々の解析を行った。

【結果・考察】WAT において、Srebp-1c mRNA 発現は Wd では CR により増加したが、KO ではその発現は見られなかった。脂肪酸合成系タンパク質発現は Wd では CR により増加したが、KO ではその増加は見られなかった。ミトコンドリアバイオジェネシスの主要な調節因子である Pgc-1 α mRNA 発現、ミトコンドリア関連タンパク質、ミトコンドリア量及び活性は Wd では CR で増加したが、KO ではその増加は見られなかった。そこで、CR による Pgc-1 α の発現上昇が Srebp-1c により制御されているのではないかと考え、Pgc-1 α 遺伝子プロモーターへの Srebp-1c タンパク質の結合を確認したところ、WdCR 群でのみ結合が観察された。肝臓では、上記のような CR による脂肪酸合成系およびミトコンドリアへの影響は見られなかった。また、WAT では WdCR 群で酸化ストレスは減少したが、KO 群では減少が見られなかった。以上より Srebp-1c は WAT における脂肪酸合成およびミトコンドリアバイオジェネシスの亢進を介して CR の抗老化・寿命延伸効果に寄与する可能性が示唆された。

Keywords: カロリー制限、Srebp-1c、ミトコンドリア

YP6

常同行動を誘発するメタンフェタミン慢性投与が マウス線条体に及ぼす影響

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所 老化神経科学・神経生理

井上律子、青崎敏彦、三浦正巳

大脳基底核においてドーパミンレベルの変化は行動の変化を引き起こすが、パーキンソン病の非運動症状には常同行動などの衝動制御障害が含まれている。大脳基底核の主要な神経核である線条体は、マトリクスとストリオソームという性質が異なるふたつのコンパートメントから成り、常同行動との関連が指摘されている。覚醒剤メタンフェタミンはドーパミンによる神経伝達を増強し、自発活動を亢進させ、慢性投与では常同行動を誘発することが知られている。本研究では、メタンフェタミン慢性投与による c-Fos 発現量と線条体投射ニューロンの興奮性入力 (miniature EPSCs) の変化について、線条体のコンパートメントを区別して調べた。線条体ストリオソームが同定できるトランスジェニックマウスにメタンフェタミンを繰り返し投与することで自発活動が亢進され、常同行動が出現したマウスを作成した。メタンフェタミン慢性投与によってドーパミンが過剰な状況をつくると、常同行動は増悪した。同時に、ストリオソームにおいて c-Fos の発現が選択的に増加していた。このマウスから皮質・線条体スライスを作成し、線条体投射ニューロンの電気生理記録を行った。コントロール群 (生理食塩水慢性投与) とメタンフェタミン慢性投与群、マトリクスとストリオソームそれぞれにおける miniature EPSCs の振幅と頻度を比較した。これらの実験により、ストリオソームにおける c-Fos の発現増加はストリオソームの興奮性が上昇した結果であると考えられる。

Keywords: 線条体、ドーパミン、常同行動

YP8

脳の老化抑制作用における緑茶カテキン中の 有効成分の検討

¹⁾ 静岡県立大学薬学部 ²⁾ 静岡県立大学食品栄養科学部
○高橋 由¹⁾、中川愛美¹⁾、大滝俊也¹⁾、武田厚司¹⁾、星野 俊¹⁾
竹内由紀²⁾、石井剛志²⁾、中山 勉²⁾、海野いづ子¹⁾

加齢に伴う脳機能の低下を緑茶カテキンが予防できることを、われわれはこれまでに明らかにしてきた。本研究では緑茶カテキン中の有効成分および老化抑制の機構を明らかにすることを目的とし、緑茶カテキン分子の違いによる脳機能への影響を比較し、そのメカニズムの一つとして酸化傷害との関連について検討した。

老化促進モデルマウス (SAMPI10) に緑茶カテキンを飲水として摂取させ、11 月齢の時点でステップスルー装置を用いた受動回避試験により学習能を判定した。エビガロカテキンゲレート (EGCG) を摂取していたマウスでは有意な学習能低下抑制作用が認められたが、エビガロカテキン (EGC) 摂取群では脳に対する改善作用は認められなかった。EGCG は生体内で EGC と没食子酸 (GA) に分解されて存在することも報告されていることから、次に EGC に GA を添加して脳に対する作用を比較した。その結果 EGC あるいは GA を単独で摂取していたマウスでは効果が認められなかったが、EGC と GA の両者を同時に摂取していたマウスでは有意な学習能低下抑制作用が認められた。EGCG に比べ EGC は脂質膜との結合力が低いことが報告されているが、脂質膜に対する EGC の結合能は GA の共存により高まることが示唆された。次に生体内にとりこまれた EGCG や EGC の抗酸化作用と、脳に対する改善効果との関連について検討した。DNA や脂質の酸化に由来する酸化傷害マーカーとして血清中の 8-oxodexyguanosine (8-oxodG) および hexanoyllysine (HEL) を測定した結果、いずれのカテキン及び GA を摂取していたマウスでも対照群に比べ顕著に低かった。カテキン摂取群間で比較すると、抗酸化作用の強さは学習能低下抑制作用をある程度反映していることが示された。

Keywords: カテキン、脳、学習能、抗酸化活性、没食子酸

YP7

ホスホジエステラーゼ 3 阻害剤 Cilostazol が 若齢マウスの記憶・学習能力に及ぼす効果

東京都健康長寿医療センター研究所 老化脳神経科学研究チーム
柳井修一・遠藤昌吾

cAMP 系は、様々な動物の記憶・学習機構に重要な役割を果たす。cAMP はホスホジエステラーゼ (Phosphodiesterase, PDE) により分解・不活性化される。それゆえ、PDE の阻害剤は細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、cAMP 系の生理機能を増強すると考えられる。これまでに多くの PDE 阻害剤の記憶に対する効果が検討されてきたが、PDE3 についての研究は少ない。そこで本研究では、PDE3 の特異的阻害剤である Cilostazol が記憶に及ぼす効果を検討した。

C57BL/6J マウス (10~12 週齢) を、行動テストバッテリーグループと恐怖条件づけグループに配分した。前グループに対しては複数の課題から成る行動テストバッテリーを、後グループに対しては恐怖条件づけ課題のみを行った。Cilostazol は、行動課題の開始 30 分前に経口投与した (0.300mg/kg BW)。Cilostazol はオープンフィールド等の一般行動、また、モリス水迷路の獲得に影響を及ぼさなかった。しかし、モリス水迷路のプロープテストにおいて、Cilostazol 投与群では詳細な空間記憶の指標が統制群と比較して有意に高いことが明らかになった。恐怖条件づけグループでは、条件づけから 1 時間後、1 日後、7 日後の 3 回、文脈依存性記憶もしくは手掛かり依存性記憶のテストを行った。手掛かり依存性記憶に大きな差はなかったが、文脈依存性記憶では条件づけから 7 日後のテストにおいて、Cilostazol 投与群の条件性恐怖が有意に向上することが示された。これらの結果から、Cilostazol は海馬依存性の長期記憶を改善する効果を持つと考えられる。

Keywords: 記憶、学習、Cilostazol、Phosphodiesterase (PDE)

YP9

SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いた アスコルビン酸摂取量の違いによる寿命への影響

1) 都健康長寿研 分子老化制御、2) 首都大・院 細胞遺伝
天野晶子¹⁾²⁾、岸本祐樹¹⁾、相垣敏郎²⁾、丸山直記¹⁾、石神昭人¹⁾

我々は、SMP30/GNL ノックアウト (SMP30/GNL KO) マウスを用いて、産乳時からの長期的なアスコルビン酸 (AA) 不足が寿命を短くすることを報告している。SMP30/GNL KO マウスはヒトと同様、体内で AA を生合成できない。本研究では、若齢以降、AA 摂取量の違いによる寿命への影響を検討した。

野生型マウスと同程度の臓器、血漿 AA 濃度を保つ為、SMP30/GNL KO マウスに産乳時から 1.5 g/L AA 水を自由摂取させた。また、マウスの発育や成長に影響を及ぼさないように 7 ヶ月齢までこの条件で飼育した。その後、SMP30/GNL KO マウスを① 3.0 g/L AA 水 (n=22)、② 1.5 g/L AA 水 (n=28)、③ 0.0375 g/L AA 水 (n=29) の 3 群に分けた。各群の生存曲線を Kaplan-Meier 法で作成し、生存率をログランク検定により比較した。また、11 ヶ月齢で各群 4 匹を解剖し、肝臓、血漿の AA 濃度を測定した。

肝臓の AA 濃度は、②群に比べて、①群では約 20% 高値、③群では約 90% 低値を示した。また、血漿の AA 濃度は、②群に比べて、①群では変わらなかったが、③群では約 90% 低値を示した。平均寿命は、②群に比べて③群では 2% 短く、①群では 12% 長かった。一方、最長寿命は②群に比べて、③群では 10% 短く、①群では 5% 長かった。

これらの結果より、若齢以降、長期的な AA 摂取量の違いが、マウスの寿命に影響を及ぼすことがわかった。現在、寿命の違いがどのような因子に起因するのか解析中である。

Keywords: アスコルビン酸、ビタミン C、寿命、生存曲線

YP10

GADD34は高脂肪食による脂肪蓄積を予防する

名古屋大学医学部免疫学
西尾直美、伊藤佐知子、磯部 健一

高齢者人口の増加に伴い、中年以降の肥満の問題と、糖尿病の関連が明らかになってきた。これまで我々は、ストレスで発現が増強するGADD34の遺伝子欠損マウス (KO) を解析してきた。その中で、このマウスは通常食で老化に伴い、肝臓に脂肪細胞が増加することを見つけた。Ron のグループは高脂肪食が eIF2 α のリン酸化を誘導し、インシュリンシグナル伝達系を低下させ、肥満と、II 型糖尿病を誘発すること、GADD34 の遺伝子導入マウスはそれを抑制することを報告した (2008 Cell metabolism)。一方、我々は GADD34 遺伝子欠損マウスを使用し、絶食が eIF2 α のリン酸化を誘導し、GADD34 はそれを抑制することを報告している (2011 BBRC)。Ronらの報告では 24 時間絶食後、高脂肪食を与えている。そこで本研究では、GADD34 KO マウスを使い、Ronらの実験を検証した。

[方法と結果]

Ronらの報告と同じように 24 時間絶食後、高脂肪食をあたえると、eIF2 α のリン酸化がおこり、GADD34 KO の方が WT に比べて強かった。ところが、絶食を行わずに直接高脂肪食を与えると GADD34 が上昇するにも関わらず eIF2 α のリン酸化に変化が見られなかった。このとき、GADD34 KO マウスは WT マウスに比べて、強い脂肪細胞誘導が全身の脂肪組織で見られた。また、肝臓を詳しく検索すると、肝細胞内に脂肪が蓄積し、2 週間で激しい脂肪肝を呈した。GADD34 KO マウスに比べて、WT マウスは脂肪組織の重量は低く、肝臓への脂肪蓄積も弱かった。脂肪蓄積に関与する PPAR γ の発現を調べたところ、GADD34 KO マウスは WT マウスに比べて老化に伴って発現が上昇した。また、GADD34 KO マウスに高脂肪食を投与すると、WT マウスに比して、PPAR γ の発現がより増加した。

[考察]

GADD34 は組織への脂肪蓄積を抑制していることが、GADD34 KO マウスの解析で明らかになった。現在、II 型糖尿病との関連を研究している。

Keywords: GADD34, 脂肪肝, PPAR γ

YP12

加齢が結び付ける eNOS の糖化と血管内皮機能障害 —糖化抑制は加齢による内皮機能障害を軽減する

東京大学医学部 腎臓・内分泌内科、泌尿器科、循環器内科
城愛理、大瀬貴元、西松寛明、高橋政夫、鶴沼智、平田恭信、南学正臣、稲城玲子

背景: 血管内皮機能障害は加齢に伴って進行し、心血管病を引き起こす。一方、加齢とともに蛋白糖化修飾は亢進し、蛋白の機能低下をもたらす。しかし、加齢に伴う内皮機能障害に、糖化による蛋白の機能低下がどのように関与しているかは明らかではない。

方法: 糖化抑制酵素 glyoxalase I (GLO1) を高発現するラット (Tg) の胸部大動脈を用い、若年群 (13 週齢) と加齢群 (53 週齢) の内皮機能を解析した。

結果: 免疫組織染色法において、Tg では野生型 (WT) に比べ、GLO1 の発現亢進に伴って加齢による血管内皮の糖化が抑制されていた。それと同時に、Tg では WT に比べ加齢に伴う内皮依存性血管弛緩反応の低下が有意に改善されていた。一方、内皮非依存性弛緩は WT と Tg で同等であった。加齢 Tg では WT に比べアセチルコリン刺激による NO 産生が若年群と同等に保たれており、GLO1 は血管内皮における NO 生体利用率を改善すると考えられた。次に GLO1 による NO 生体利用率改善機序について検討した。WT と Tg の大動脈の酸化ストレスには有意な差はなかった。しかし、eNOS の活性を抑制するリン酸化 (Thr495) の程度は、加齢に伴い有意に亢進する一方、加齢 Tg ではその亢進が抑えられていた。eNOS 抑制性リン酸化 (Thr495) の上流シグナルである PKC は WT と Tg の間で差はなかったが、加齢に伴って eNOS の糖化修飾が亢進し、eNOS 活性低下に繋がること示唆された。

結論: GLO1 は加齢に伴う内皮細胞の糖化修飾や eNOS の抑制性リン酸化亢進を抑制し、内皮機能障害を軽減した。本研究は eNOS が糖化修飾を受けることを初めて明らかにし、加齢に伴う eNOS の糖化亢進が内皮機能障害を引き起こす新規機序である可能性が示唆された。

Keywords: 血管老化、糖化、血管内皮機能障害、内皮型 NO 合成酵素

YP11

老化促進モデルマウス (SAM) の促進老化・短寿命を規定する非同義置換とゲノム構造変異の網羅的探索

¹早稲田大学スポーツ科学研究科 ²東京都健康長寿医療センター研究所 健康長寿ゲノム探索 ³日本学術振興会 ⁴東京都健康長寿医療センター研究所 環境老化制御 ⁵浜松医科大学 医学部附属実験実習機器センター ⁶愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所 病理学部 ⁷信州大学大学院 加齢生物学 ⁸老化促進モデルマウス研究協議会 ⁹早稲田大学スポーツ科学学術院
谷澤 薫平^{1,2,3} 三上 恵里^{1,2,3} 福典之² 大澤 郁朗¹ 小島 俊男⁵ 石井 さなえ⁶ 武井 史郎⁶ 島田 厚良⁶ 細川 昌則⁶ 森 政之⁷ 樋口 京一⁷ 竹田 俊男⁸ 樋口 満⁹ 田中 雅嗣²

本研究の目的は、エクソーム解析および アレイ CGH 解析により、老化促進モデルマウス (SAM) が特異的に有する非同義置換とゲノム構造変異を同定することである。SAMP1/TaSlc, SAMP3/Slcldr, SAMP6/TaSlc, SAMP8/TaSlc, SAMP10/TaSlc, SAMP11/Slcldr, SAMR1/TaSlc, SAMR1/Slcldr, SAMR3/Slcldr, AKR/J および C57BL/6J から抽出した DNA の全エクソン領域を捕捉し、次世代シーケンサー SOLiD4 によりシークエンスした。得られた塩基配列をマウスゲノム参照配列にマッピングし、各系統の SNV を検出した。さらに、SAMP 各系統に特異的な新規非同義置換の中から SIFT あるいは PolyPhen-2 によって有害と判定された変異を抽出した。また、上述した系統の DNA を、1.8kb 間隔でプローブが配置されたマイクロアレイに競合ハイブリダイゼーションさせ、各遺伝子の欠失およびコピー数変異を検出した。エクソーム解析の結果、SAMP 全系統に共通の非同義置換として、*Oggl* p.R304W と *Mbd4* p.D129N が検出された。これらは DNA 修復に関わる遺伝子であった。また、SAMP の複数系統において、遺伝性ニューロパチーに関係する *Prx*、筋原性ミオパチーに関係する *Ldb3*、および白内障に関係する *Gja3* に有害変異が検出された。現在、アレイ CGH によるゲノム構造変異の解析を行っており、本学会で最新の研究成果を公表する。

第 36 回日本基礎老化学会大会

賛助団体芳名

ランチョンセミナー共催企業

タカラバイオ株式会社

協賛企業

エーザイ株式会社

協和発酵キリン株式会社

杏林製薬株式会社

大正製薬株式会社

第一三共株式会社

大日本住友製薬株式会社

田辺三菱製薬株式会社

中外製薬株式会社

Meiji Seika ファルマ株式会社

MSD 株式会社

日韓合同シンポジウム共催

日本学術振興会アジア研究教育拠点事業 (Asia CORE Program)

市民公開講演会後援

朝日新聞社

【学会報告】

第34回基礎老化学会シンポジウム報告書

磯部 健一

名古屋大学医学部免疫学講座

2012年10月16日に第34回基礎老化学会シンポジウムを名古屋大学医学部で行いましたので、その報告をします。今回ははじめてすべてを English にしたこと、大学の講義室を使用したことで私の今後のシンポジウムのあり方に対する考えを取り入れました。英語にすることで Web で世界に発信することも考えましたが、私が忙しすぎて断念しました。今度機会があったらぜひ You Tube で世界に発信してみたいと思います。費用も招待者の旅費と少しの講演代ぐらいですから、基礎老化学会の負担は少なくなると思います。発表者も、日本で先端的な老化研究をしているヒトを選んだつもりです。名古屋大学の若手の研究者が多数出席してくれました。ただし、朝から夜まで通して出席してくれたのは発表者と私の教室のヒトのみでした。前の週にコールドスプリングハーバーの老化の会議、次の週にキーストンの会議という間に挟まったのですが、発表者はトップレベルの雑誌に掲載されたひとであり、内容はとてもレベルの高いものであったと評価しています。特に休み時間や終了後発表者間で熱い Scientific な議論に

なったのはシンポジウムならですし、研究が好きな人が集まるのは楽しいことだと思いました。

最も興味がひかれたのは小林先生の講演です。小林先生は酵母の老化を含めた基礎研究でとてもシンプルでわかりやすい系をつかって説明してくれました。rDNA の stability の研究を分子レベルでとてもしっかりした系で進めています。教室の人数もそんなにいないし、大規模な実験装置も使わないがレベルの高い実験をアイデアとしっかりした技術で行っています。DNA の stability の問題は老化やそれに伴う癌等の医学的問題に結びつきます。

次に、皮膚科出身の西村教授の講演の時は急にヒトが増えました。彼女は最近、top journal に毎年皮膚の stem cell の老化で発表しています。小林先生とは対照的にどんどん新しい手法を取り入れたいい意味での aggressive な研究者です。

いうまでもなく stem cell の老化研究はヒトの老化を考えると最も重要な分野の1つです。私はとても刺激を受けましたが、他の若手の研究者も多く得る所があったと思います。この2人は基礎老化学会に入っていませんがもし、基礎老化学会に魅力を感じたら入会すると思います。神戸の再生研から近畿大学の教授になられた岸上先生は核移植の専門家です。以前核移植で若返るかの論文を書かれています。今はもう少し基礎的な研究をしています。核移植で初期化するか否か、未だに決着はついていないようです。お話は核移植の方法論的な進歩についてでした。今後、共同研究ができたらと思っています。東京大学の稲城先生は Advanced glycation



endproducts (AGEs) の話をしました。この分野も日本の基礎老化学会にない内容ですが、ヒトの老化による組織傷害や疾患を考える時とても重要です。上記4人は私が頼んで来ていただきました。新しい風を入れるためには、今後、こうした人たちを役員で迎え入れることも一案だと思います。田中先生は基礎老化学会の常連を代表して話してもらいました。SAM マウスの遺伝子解析を徹底的にやって正常マウスと比較した研究です。機能解析を引き継いでやるヒトがあれば発展する研究だと思います。石井先生の mev-1 はマウスでの研究がかなり進んできています。ミトコンドリアは老化すると大きく変化してきますから、そのメカニズムの解明は老化研究の重要な分野です。細胞内の核が支配するミトコンドリア蛋白の機能の解明は KO マウスで行える領域ですからまだまだ他の核遺伝子でミトコンドリアの機能に関連するものを作成するとヒトの老化に関係するものが得られると思いました。私の所の Cheng さんがちょうど結婚式（自分の）ということ直前まで隠していたため急遽私がやることになりました。老化 iPS 細胞が初期化するか否かの問題をキメラマウスで解析していますが、なかなか決着が付きません。私は初期化してくれるのを期待しているのですが、今までの結果ではやや早く老化するかな？というところ。決着がつけば top journal だと思いますが、まだ中途半端でしたので後に結論は取っておいて、正

常老化における筋肉のミトコンドリアの変化が面白かったので、Exp. Gerontology に出しました。

後は須賀君（名古屋大学の若手）に ES から脳下垂体の3次元培養の Nature の仕事を話してもらいました。脳下垂体からは GH が出て、肝臓から IGF-1 を産生し、各組織細胞の老化に関連してきます。この系もヒトの基礎老化研究に使えるそうです。老化の研究を少し大きく捉えていくことが基礎老化学会の発展のために必要だと思います。

はじめての試みで試行錯誤でしたが、基礎老化学会が脱皮する1つの試みと考えていただければ幸いです。

私ごとですが、今まで病気にしきものをしてきたことがなく、老化を感じませんでした。最近、自分の老化を考えるようになりました。周りでも、老化によって発生する健康問題が頻繁におきています。まわりがお医者さんが多い環境で、老化やそれによっておこる疾患の治療に真剣に取り組んでいる doctor を見ると、私たちが研究に専念できるのは本当にめぐまれていると感じます。一方で現実的な研究を迫られてきたことも過去ありましたが、Science は文化ですから酵母でも iPS 細胞でも面白いと思ったものを材料にして、aging の本質に追っていくことを続けて、結果的に役立つかもしれないということでどうでしょうか。あっそれ aging の観点からすると面白いよといった学会。



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た下さい。尚、著作物の転載・翻訳のような複写以外許諾は、直接本会へご連絡ください。

107-0052 東京都港区赤坂 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 photocopying 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37号 第2号

平成25年（2013）5月12日

発行者 日本基礎老化学会
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2
東京都健康長寿医療センター研究所内
電話 03-3964-3241

編集 編集委員会

印刷所 コロニー印刷

