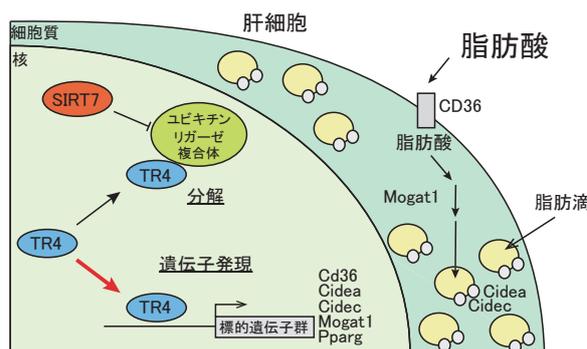


BIOMEDICAL GERONTOLOGY

基礎老化研究

特集企画 「栄養・代謝と老化」

- 総説 去りゆく老生化学者の老化研究軌跡と随想
後藤 佐多良
- 特集企画 「栄養・代謝と老化」
- 総説 糖代謝シグナルを介した認知機能制御機構
多田 敬典、徳永 暁憲、田之頭 大輔、倉田 栄子、田口 明子
- 総説 ショウジョウバエの寿命を制御する栄養と代謝
相垣 敏郎
- 総説 SIRT7の多様な代謝機能
吉澤 達也、山縣 和也
- 総説 心不全や肥満、糖尿病における白色・褐色脂肪不全の意義
清水 逸平、吉田 陽子、南野 徹
- 総説 老化における栄養・代謝の変化と内分泌系のクロストーク 成長ホルモン・IGF-Iの重要な役割
高橋 裕
- 学会報告 ● The 6th International Society of Radiation Neurobiologyに参加して
内田 さえ
- 学会報告 ● 第11回長寿医療研究センター国際シンポジウム
下田 修義
- 追悼文 ● 竹田俊男先生を偲んで
細川 昌則



編集委員会委員長： 清水 孝彦 千葉大学大学院医学研究院 先進加齢医学
〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1

編集委員会委員： 石井 恭正 東海大学 医学部 分子生命科学
〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143

木村 展之 国立長寿医療研究センター 認知症先進医療開発センター
アルツハイマー病研究部 病因遺伝子研究室
〒474-8511 愛知県大府市森岡町7-430

下田 修義 国立長寿医療研究センター 再生再建医学研究部
〒474-8511 愛知県大府市森岡町7-430

千葉 卓哉 早稲田大学 人間科学学術院 基礎老化学研究室
〒359-1192 埼玉県所沢市三ヶ島2-579-15

渡辺 信博 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
〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2

Editor-in Chief: Takahiko Shimizu, Department of Advanced Aging Medicine,
Chiba University Graduate School of Medicine,
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, JAPAN

Editors: Takamasa Ishii, Department of Molecular Life Science
Tokai University School of Medicine,
143 Shimokasuya, Isehara, Kanagawa 259-1193, JAPAN

Nobuyuki Kimura, Section of Cell Biology and Pathology
Department of Alzheimer's Disease Research, Center for Development
of Advanced Medicine for Dementia,
National Center for Geriatrics and Gerontology,
7-430, Morioka, Obu, Aichi 474-8511, JAPAN

Nobuyoshi Shimoda, Department of Regenerative Medicine,
National Center for Geriatrics and Gerontology,
7-430, Morioka, Obu, Aichi 474-8511, JAPAN

Takuya Chiba, Biomedical Gerontology Laboratory, Faculty of Human
Sciences, and Institute of Applied Brain Sciences, Waseda University,
2-579-15 Mikajima, Tokorozawa, Saitama 359-1192, JAPAN

Nobuhiro Watanabe, Aging Neuroscience Research Team
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology
35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, JAPAN

【日本基礎老化学会賛助会員一覧】

下記の諸団体が賛助会員として本学会を支えています。

賛助会員は随時募集しております。事務局にお問い合わせください。

あなたの会社も老化研究を支えてみませんか？入会をお待ちしています。

賛助会員

合同会社 オータニ

小林製薬 中央研究所 研究部

重岡胃腸科外科医院

日本水産株式会社

(株) ファンケル総合研究所

株式会社 不二工芸製作所

(株) 明治 研究本部

Medical information network

医療法人 裕和会

広告会員

岩井化学薬品株式会社

(50 音順)

私たちの遅れが、
研究の遅れになってはいけません。

今、さまざまな場所で、さまざまな生命科学に関する研究が行われています。それは、現代の医学では治せない病の研究だったり、人のカラダの仕組みを解明する研究だったりします。私たちは、そんな研究の素となる、抗体、タンパク質、有機・無機化合物、各種測定キットなど数多くの研究用試薬を国内外へ提供。発展し続けるライフサイエンス分野の最新研究動向を的確に把握し、さまざまなニーズに応えた戦略を展開しています。私たちが動向を把握していないことで、ある研究が進まない。そんなことがないように、研究者の方々の信頼を得ながら、これからも研究用試薬をお届けしていきます。

研究を、研究したい。

岩井化学薬品株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3-2-10
TEL:03-3241-2572 FAX:03-3270-2444

www.iwai-chem.co.jp

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オンライン会誌で、年3回:1月(1号)、5月(2号)、9月(3号)に発行される。大会号は、大会時に別冊号として発刊する。内容は、本学会員より投稿された、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、原著論文、随筆、書評、その他で構成される。但し、3号には基礎老化学会シンポジウムの抄録も掲載される。会員は無料で本オンライン誌が閲覧できるほか、希望に応じて頒価(送料込みで5,500円/1年)で冊子体(大会号を除く)が販売される。

投稿規定

1. 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、トピックス、及び原著論文については、編集委員または編集委員会で依頼した審査委員による査読を行う。
2. 著者による校正は、初校時に1回行う。その際に投稿内容の大幅な追加や変更は認めないものとする。
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、自身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、およびトピックスの題目は日本基礎老化学会のホームページに掲載される。発行後2年経過した総説、トピックス等はインターネット上に無料で公開される。
5. 総説、トピックス、および原著論文の著者には、該当PDFファイルを無料で進呈する。別刷り希望の場合は有料(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し、横書きで作成する(原稿はデジタルファイルで提出する)。1) 第1頁には、原稿の表題、著者名、所属機関、所在地を和文と英文で、また、電話番号、FAX番号、E-mailアドレスを記載する。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。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。原稿はテキストファイルまたはMSワードファイル等で作成したデジタルファイルで提出する(欧語・数字は半角を用いる)。同時に提出する図・表および写真は、PDF、PPT、TIFF、JPEG形式等のデジタルファイルで提出する。オンライン版はカラー図も受け付ける。冊子体への印刷は原則、白黒またはグレースケールで行うが、カラー希望の場合は著者の負担とする。図表の挿入部位は本文中に示す。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(デジタルファイル)はE-mailに添付して送付するか、USB記憶媒体等で送ることができる。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(200words以内)とする。
 - 4) 用語: 本文中の用語はなるべく日本語にする。但し、欧語の方が一般的なもの、解りやすい場合は欧語でよい。外国の人名は原語、地名はカタカナで表記する。
専門術語: それぞれの専門分野の用語集に従う。動植物の学名、遺伝子名などでイタリック体で印刷されるべきものについては、原稿に下線をつけるなどして区別する。
略語: 初出箇所にフルタームの後に括弧で括った略語を記入する。可能なら日本語を入れる。文体: 「である」調とする。
数字・単位: 数字はアラビア数字とし、単位は国際単位系を用いる。
- 5) 引用・参考文献: 引用文献は論文中に引用した順に番号をつけて表示する。本文中では該当する位置に [] で括って表示する。1つの事柄に複数の論文を引用する場合には [1,5,7] または [2-6] のように記述する。著者名を引用する場合で3名以上の連名の時は、それ以下を“ら”を用いて省略する。末尾文献リストは引用した順とし、記載は以下の通りとする。未発表論文、私信は末尾文献リストには加えず、本文中の該当す

る位置に [] で括って表示する。

1. Shimokawa I, Komatsu T, Hayashi N, et al. The life-extending effect of dietary restriction requires Foxo3 in mice. *Aging Cell* 14 : 707-709, 2015.
 2. Roth GS, Ingram DK and Cutler RG. Primate models for dietary restriction research. In: *Biological Effects of Dietary Restriction*, edited by Fishbein L. Berlin : Wiley, 1991, p. 193-204.
 3. 仲村賢一, 下村-泉山七生貴, 田久保海誉 ヒト組織の加齢に伴うテロメア短縮. *基礎老化研究* 24 : 72-76, 2000.
- 6) 図、表、写真：そのまま印刷できるものに限る（手書きのものは受け付けない）。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だが、オンライン版はカラー図も受け付ける。
- 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（または雑誌記事）の紹介。長さは刷り上がり4頁以内（1,600 - 6,400字）。その他は総説に準じる。但し、要旨は不要である。
 4. 原著論文 基礎老化研究に関連するオリジナル性の高い研究論文。他誌で公表された内容は受け付けない。内容は、要約、目的、方法、結果、考察、引用文献、図表、およびその説明文からなる。その他は総説に準じる。
 5. 学会報告、海外便り 国内外の学会集会の紹介記事。長さは1,600字以内。留学などで滞在しているまたは過去に滞在していた研究室、訪問した研究施設の見聞の紹介記事。
 6. 書評 最近出版された書籍の紹介。1,600字以内。
 7. 原稿の送付およびその他の問い合わせ、下記宛てに e-mail で。

編集委員会：editor@jsbmg.jp

目 次

総説

去りゆく老生化学者の老化研究軌跡と随想

後藤 佐多良 1-6

特集企画「栄養・代謝と老化」 7

総説

糖代謝シグナルを介した認知機能制御機構

多田 敬典、徳永 暁憲、田之頭 大輔、倉田 栄子、田口 明子 9-14

総説

ショウジョウバエの寿命を制御する栄養と代謝

相垣 敏郎 15-18

総説

SIRT7 の多様な代謝機能

吉澤 達也、山縣 和也 19-24

総説

心不全や肥満、糖尿病における白色・褐色脂肪不全の意義

清水 逸平、吉田 陽子、南野 徹 25-31

総説

老化における栄養・代謝の変化と内分泌系のクロストーク

成長ホルモン・IGF-I の重要な役割

高橋 裕 33-38

学会報告

The 6th International Society of Radiation Neurobiology に参加して

内田 さえ 39-40

学会報告

第 11 回長寿医療研究センター国際シンポジウム

下田 修義 41-42

追悼文

竹田俊男先生を偲んで

細川 昌則 43-44

表紙図の説明：SIRT7 がユビキチン - プロテアソーム経路の制御を介して肝臓の脂質代謝を調節するモデル図。(19-24 ページの総説を参照)。

【総説】

去りゆく老生化学者の老化研究軌跡と随想

後藤 佐多良

順天堂大学大学院 スポーツ健康医科学研究所

要約

私は大学院時代から数えると半世紀近く老化研究に関わってきた。昔、自分で書いたものを読み返すと、基本的にはその後ほとんど進歩がないことが分かる。それでも、エラー カタストロフ説・異常タンパク質・代謝回転・老化介入と項目を立てて研究軌跡を辿ってみた。すべてタンパク質の視点から老化を見たものである。幾つかの重要な視点が抜けていて、我田引水と偏見にとらわれているとのそしりを免れないだろうが、老研究者の一例報告としてご批判、ご参考にして頂ければ幸いである。

キーワード：老化メカニズム、エラー カタストロフ説、異常タンパク質、代謝回転、食餌制限、定期的運動

私が生まれた 1941 年頃の日本人の平均寿命は 50 歳に達していなかった。これはもちろん当時の衛生・栄養状態が悪く、抗生物質の普及も未だし、戦禍に斃れる人も多かったことによる。以来、社会・経済状態の改善、医療の進歩、健康教育の普及等によって寿命は 30 年以上伸びた。イギリスの人口統計学者 Jim Vaupel は過去半世紀の間、先進国では寿命が伸び続けてきたことから、今世紀生まれの人々の半数は 100 歳に到達するだろうと予測する (1)。一方、栄養過多や活動量低下など文明化に伴うライフスタイルの変化が寿命延伸を制約するだろうという指摘 (2) も妥当に思える。近年は、単なる寿命延長よりも健康寿命延伸に対する市民の関心が高く、ひところ注目されたカロリー制限よりも身体活動の重要性が広く認識されるようになってきた。本稿ではこれらの点にも触れたいと思う。

私は海外留学期を除いて 40 年以上老化研究に携わって来た。古希になった時、石神昭人君(現・都健康長寿研)が励ましのシンポジウムを企画してくれた。若手研究者に混じって“30 歳若かったらしてみたい老化研究”という話をした。後期高齢者になる今年は、強がりと言うの

は止めて、おとなしく昔話をするのが相応しいと思う。研究の“軌跡”ということで、教科書レベルの話から少々細かい点にまで立ち入るのをお許しいただきたい。

1. はじまり

大学を卒業して大学院に進学した時、恩師水野傳一先生から『君は老化の研究をやり給え』とテーマを頂いてこの道に入った。当時研究室(微生物薬品化学教室)で老化の研究をやっていた先輩はいなかった。40 歳代半ばを過ぎた先生は、取り組んでおられたバクテリアの増殖や栄養の生化学的研究の他に、老化の問題や生命の起源など幅広い分野に興味をお持ちで関連の本や論文をよく読んでいらした。大腸菌は栄養状態が悪くなるとリボソームに RNA 分解酵素(リボヌクレアーゼ)が吸着し、それが一定レベルを超えると rRNA の分解とともにリボソームの崩壊が起こる。この不連続性と多細胞生物の老化と死の間に類似性があるのではないかと、もしそうなら高齢動物の組織でも同様のことが起こるはずだ、と考えた先生は、私にそれを調べるように命じられた (3)。

当時老化に関しては腸内細菌が老化と関わっているというメチニコフの主張の通俗的な知識しかなかった私はマウス肝臓のリボソームをとることから始めた。一定の栄養条件下で培養されたバクテリアの増殖が限界に達して停止するとリボソームの崩壊が始まることから、先生は動物の非分裂細胞、とりわけ脳神経細胞に注目した。将来は神経細胞を研究すべく、医学部解剖学教室教授中井準之助先生に細胞の分離法を教わるよう指示された(これは実現しなかった)。

留学から帰って東邦大学薬学部に着任してから本格的に老化の分子メカニズムの研究に取り組んだ。定年が近かった先生からは下線や書き込みの入った老化の本を頂

連絡先：後藤佐多良 〒270-1695

千葉県印西市平賀学園台 1-1

順天堂大学大学院 スポーツ健康医科学研究所

TEL：0476-98-1001 (内線 9201)

FAX：0476-98-1030

E-mail：gotosataro@sakura.juntendo.ac.jp;

gotosataro@gmail.com

<http://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/aging/>

いた。当初からタンパク質に焦点を絞って研究することにした。というのは、タンパク質は生体機能を支える上でより直接的・普遍的に重要である（と僕は考えたのだが）にもかかわらず、老化研究でタンパク質が果たす役割が注目されない状況がかなり続いていたからだ。実際、後述の活性酸素と老化に関するこの時代の著書や総説集などにはタンパク質のことは脂質や DNA に比べるとほとんど取り上げられていなかった。他人がやらないことをせよとの先生の教えもあり、この風潮に逆らってタンパク質に注目した。

2. エラー カタストロフ説

老化メカニズムに関する仮説で一世を風靡したものにエラー カタストロフ説がある。今では過去の説になっているので本学会の若手研究者には馴染みがないかもしれないが、分子生物学の発展に伴って登場したこの仮説は、遺伝情報発現の基本的なメカニズムにかかわり、理論的にもあり得ると思わせるもので、実験的に検証可能と考えられた。検証実験はすでに幾つか行われていた（詳細は(4)参照）。タンパク質合成では mRNA のヌクレオチド配列からアミノ酸配列への変換という過程でミスが起こりうる。この過程のエラーが悪循環を起こし、やがてカタストロフに至るのが老化であるという説である。この情報伝達過程にはアミノアシル tRNA 合成酵素が特定の tRNA に特定のアミノ酸を正確に結合させる段階とリボソームを中心とする翻訳装置が mRNA 上のコドンと tRNA のアンチコドンを正確に対合させる段階がある。この二段階の情報伝達が忠実に行われ、更に正しい折りたたみと（タンパク質によっては）正しい翻訳後修飾があって初めて機能的タンパク質が出来る。このどの段階の異常でも加齢変化は起こりうる。

生化学・分子生物学を看板に掲げる我々の研究室では、エラー カタストロフ説の検証から老化研究に取り組むことにし、二段階の情報伝達に加齢変化が生じるかどうかの研究を行った。スタッフの森望君（現・長崎大学医学部）が、まず人工 mRNA モデルの poly (U) を鋳型としてポリフェニルアラニンを合成させる実験系でフェニルアラニンの代わりにロイシンを間違えて取り込む (mis-reading) 頻度を老若マウス肝臓リボソームを使って調べた。これは以前から使われていた方法で新鮮味が乏しいということで、天然の mRNA のグロビン mRNA を使ってみようと考えた。この mRNA はサイズが小さい上、グロビン合成に特化した網状赤血球から高純度に調製することが可能で、この mRNA を使って、mis-reading を調べることが出来るだろう。しかし、森君は、はるかに頭のいい方法を思いついた。魚の精子の DNA 結合タンパク質プロタミンの mRNA を使う方法である。プロタミンは 33 アミノ酸残基からなり、構成アミノ酸は開始メチオニンを含めてわずか 7 種類しかなく、約 3 分の 2 がアルギニンである。コドンが類似したりシンは含まれていない。しかも、数種類のアイソフォームの遺伝子の塩基配列も明らかになっており、天然 mRNA の mis-reading を調べるには極めて優れた材料であった。

彼は奥多摩のニジマス養魚場に出向き、白子を手入して、プロタミン mRNA を調製した。別々のラジオアイソトープで標識したアルギニンとリシンを使って老若マウス肝臓リボソームに依存するプロタミン合成をさせて、エラー頻度を調べた。幼若期から 30 ヶ月齢に至るまでエラー頻度 ($10^4 \sim 10^5$ に一個) に有意な加齢変化は認められなかった (5)。大学院生の高橋良哉君（現・東邦大学薬学部）は、アミノアシル tRNA 合成段階の正確さ (忠実度) の加齢変化を調べた。チロシル tRNA 合成酵素が間違えてフェニルアラニル tRNA 合成を触媒するエラー頻度をラジオアイソトープ標識したチロシンを含む合成系に無標識のフェニルアラニンを大量に添加する競合実験で測定した。チロシンはフェニルアラニンの水酸化体であるため、市販フェニルアラニンに極微量混在する酸化物 (ヒドロキシ修飾体) が、エラー頻度の測定に影響する。市販品を高純度に精製して使った実験からエラー頻度は老若いずれも 10^8 のレベルで、有意な加齢変化は見られなかった (6)。限られた実験例ではあるが、エラー カタストロフ説の検証を試みた他のグループの研究結果も合わせて考え、この説は支持できないと結論した。

3. 異常タンパク質

こうした研究の流れの中で、老齢動物や高齢者の組織に異常化したタンパク質が増加することが明らかになってきた。当初、量が多く解析しやすいコラーゲンなどが対象だったが、活性測定によって異常が検出しやすい酵素が注目されるようになった。異常化が翻訳エラーによらなくなると合成された後の翻訳後修飾が原因と考えられ、フリーラジカル説がポピュラーになる中で、脂質や DNA に加えてタンパク質の酸化修飾の研究が行われた。世界的にはタンパク質の酸化修飾の研究は NIH の大御所 Earl Stadtman が主導していた。我々も遅ればせながらタンパク質の酸化傷害の研究に取り組んだ。老齢ラットやマウス組織に増加する熱不安定酵素の研究から、若齢動物の酵素を活性酸素産生系にさらすと老齢動物の酵素と同様に不安定化することを見つけ、異常化の原因として活性酸素に注目することになった。酵素の酸化修飾を直接化学的に追跡するのは困難であるので、当時 Stadtman のグループはヒドロキシラジカルが関与してタンパク質のアミノ酸残基からカルボニル基が生ずることを明らかにし、有機化学でよく知られたカルボニル試薬 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応させて比色定量する方法を開発していた。

私は学生時代に免疫学の授業で Karl Landsteiner (血液型の発見でノーベル賞受賞) がベンゼン核のジニトロ化物の異性体 (オルト・メタ・パラ) を抗体産生動物の免疫系が識別するのを見つけたことを習ったのを思い出し (記憶が確かなら)、ジニトロフェニルヒドラジン (カルボニル基のジニトロフェニルヒドラジン修飾体) はハプテンとして強い抗原性をもつはずだと考えた。抗体を使ってカルボニル化タンパク質を検出すべく、この方法の開発を博士課程に入ってきた中村明宏君 (現・京都府

立医科大学)の論文テーマにした。2,4 ジニトロフェニルヒドラジン処理した酸化修飾ウシ血清アルブミンに対して予想通り反応性の高い特異抗体ができた。丁度同じ頃、Stadtman の弟子 Rod Levine も同じことを考えて抗体を作っていたことを彼が我々の研究室に立ち寄った時に知った。我々は反応の特異性の詳細な検討や組織タンパク質の二次元電気泳動解析をおこなったり、きれいなデータを出すために実験を繰り返していたために彼らより原著論文を出すのが遅れた (7)。この抗体を用いる方法はカルボニル基を指標とする酸化修飾タンパク質のウェスタンブロットや免疫組織染色による検出・定量に広く使われている。

4. 代謝回転

異常タンパク質の蓄積は、活性酸素のような修飾源の増加だけでなくタンパク質の分解効率にも依存する。生体内物質の絶えざる代謝回転(合成と分解)は生命の最も基本的な特性とわいていい。水野先生は若い頃 Rudolf Schoenheimer の著書 "The dynamic state of body constituents" (Harvard Univ Press, 1949) に感銘を受けたという。Schoenheimer は 1940 年代に、代謝回転の重要性を初めて指摘したが、さほど注目されなかった。一般に物質が出来る過程の方が壊れる過程よりも興味を引く。衰退過程の老化よりも機能獲得過程の発生・分化のほうが面白いと考える研究者が多いのと同じである。彼は、当時盛んに研究された中間代謝に注目し、低分子生体成分の代謝回転を研究したが、その重要性はタンパク質のような高分子でも同様である。先生の影響を受けていた私は、加齢で増加する異常タンパク質について分解面の寄与を知りたいと思った。動物個体で分解半減期の加齢変化を調べるには、通常放射性標識したアミノ酸を動物に注射し、経時的に動物を殺してタンパク質を取り出して合成された標識タンパク質の減少を追跡する。この方法は多数の老齢個体を準備しにくい老化研究では非現実的である。そこで老若個体(マウス)の細胞を初代培養して用いることにした。肝臓実質細胞は通常の培養条件下では分裂しない。オペロン説でノーベル賞を受賞した Jaque Monod が Schoenheimer の研究を批判して、代謝回転は細胞分裂や細胞死による希釈のためではないかと指摘したが、非分裂の肝実質細胞を使えば、この問題は回避できる。大学院生の石神昭人君は、加齢動物から単離した肝実質細胞に外来性タンパク質を導入して分解半減期を調べた。その結果、老齢動物由来の細胞ではタンパク質の分解半減期は 50% 以上長いことが判った (8, 9)。さらに、酸化修飾タンパク質についても老齢動物の細胞の方が分解が遅いことが示され、加齢による異常タンパク質の増加は分解効率の低下にもよると考えられた。

細胞内のタンパク質分解効率の加齢による低下を酵素活性の変化から明らかにするために酸化リゾチームを基質にして酵素の探索を行った(後述)。当時は異常化したタンパク質はプロテアソームにより分解されるらしいことが報告され始めた頃である。プロテアソームは 20S

および 26S という巨大なタンパク質複合体として存在し、ともに異常タンパク質の分解に関わっているとされていた。大学院生の林利彰君が両複合体を蔗糖濃度勾配遠心法で分別し、若齢・中齢・老齢ラット肝臓の活性を測定した。両複合体の人工基質(蛍光標識ペプチド)分解活性は加齢とともに著明に低下した (10)。それと同時に、比活性(サブユニット当りの酵素活性)も加齢とともに低下し、プロテアソーム自体の異常化が示唆された。つまりタンパク質からなる生体恒常性維持のための修復酵素系も加齢の間に劣化するのを免れないことになる。これがタンパク質機能低下を増長し、細胞機能障害の悪循環を形成し、エラーカタストロフならぬ翻訳後傷害カタストロフを起こすという図式が成り立つのではないかと考えられた。

タンパク質代謝回転の加齢変化の研究過程で思わぬ副産物があった。アミノアシル tRNA 合成酵素の研究をやりたいとウクライナ(当時ソ連領)からポスドクとして Igor Kurochkin 君(現・Bioinformatics Inst, Singapore)が研究室にやってきた。しかし、私は当時関心をもっていた酸化修飾タンパク質分解酵素の研究をやってもらうことにした。鉄・アスコルビン酸系で酸化修飾した卵白リゾチームを基質にして探索すると、一般に酸化修飾タンパク質を分解すると考えられていたプロテアソームとは異なる分画に強い活性が認められ、精製を進めるとインスリン分解酵素(insulin degrading enzyme, IDE)が単離された。この既知の酵素は残念なことにすでに赤血球で酸化タンパク質を分解する酵素として同定されていた。Kurochkin 君はここで諦めず、インスリンが高濃度で β シートを形成することに着目し、IDEが同様の構造をとるアルツハイマー病に深く関わるアミロイド β (A β)を分解するのではないかと考えて研究を進め、IDEがA β を効率よく分解すること、酸化タンパク質がそれを阻害することを発見した(11)。この報告はしばらく無視されていたが、アルツハイマー病の著名な研究者 Dennis Selkoe が追試実験を行い JBC (1997) に報告するとにわかに注目されるようになった。当時、A β の蓄積についてはその産生に関わる secretase が注目され、多くの報告が出されていた。アルツハイマー病フォーラム(研究紹介サイト)には、我々の論文はそれまでないがしろにされていたA β の分解面に初めて光を当てた研究と紹介され、A β 分解を巡る国際的議論のきっかけになった(<http://www.alzforum.org/webinars/v-amyloid-degradation-forgotten-half-alzheimers-disease>)。ここにも物質の分解よりも産生が注目されやすいという一般的傾向がみてとれる。なおA β の分解に関しては、その後理化学研究所の西道隆臣博士らが発見した分解酵素 neprilysin の優れた研究がある。

5. 老化介入1:食餌制限

以上のような老化メカニズムの研究を進めつつ、その応用として健康長寿に関心をもち、老化のプロセスを遅らせることはできないかと考えていた。薬学部出身ではあるが、サプリメントのような単純な化学物質で老化と

いう複雑な生物現象をコントロール出来る可能性には疑問をもっていた（現在でもそうだが）。カロリー制限は巾広い動物の寿命を延長するだけでなく、生物学的老化を遅らせているように見えることから、老化の基本的メカニズムに関係しているに違いないと考えて、カロリー制限の抗老化メカニズムの研究に取り組んだ。当時主にアメリカで行われていたげっ歯類を使ったカロリー制限の老化研究の大半は幼若期から生涯にわたって制限して寿命延長を指標に研究する手法がとられていた。将来、この種の研究がヒトに応用できるとしたら、制限をあまり若い時期から行うのは非現実的である。多くの研究はヒトに当てはめると小学生時代から制限をするのに相当する。そこで我々はヒトでいうと40-50歳に当たる中齢期からの影響をみることにした。マウスやラットでは20-25月齢である。ここまで年取らせた動物は市販されていなかったため、大学の設備で数を揃えるのは大変だった。幸い東邦大学薬学部で動物飼育施設を作ることになり、SPF動物の長期飼育が可能になった。ここで作成した中齢・高齢動物を2ヶ月間制限食で飼育し、幾つかのパラメータで自由摂食動物と比較した。異常タンパク質の蓄積、タンパク質分解半減期、プロテアソーム活性など、いずれも制限によって若齢化した(12)。我々が老化メカニズムの一つと考える変化が、短期的観察ではあるが、中齢期からの食餌制限によって“若返り”という変化をもたらしたのである。

2006年、雑誌Biogerontologyがカロリー制限と老化の研究をしている研究者にモデル動物におけるカロリー制限作用がヒトにも当てはまるか否かについて意見を求める特集を組んだ。Wisconsin大学(2009)やNIA(2012)のアカゲザル研究の最終報告が出る以前のことであった。私は当時老人研にいらした柴田博先生の意見なども参考にして、ヒトでは自由摂食といっても多くの場合、ネズミと違って摂食量は、すでにある程度の調節(自制)されていると考えられるので、少なくとも寿命延長効果は期待できないだろうと書いた(13)。寄稿した10名の研究者の意見は賛否ほぼ半々だった。

5. 老化介入2：定期的運動

1996年頃、筑波大学での博士課程を終えたZsolt Radak君(現・ハンガリースポーツ教育大学、Semmelweis大学)が故・松尾光芳博士の紹介で研究室に入出入りするようになった。これを機会に、内藤久士博士(順天堂大学スポーツ健康科学部)の協力がかねてから考えていた運動習慣の抗老化作用メカニズムの研究をラットを使って始めた。とりわけ、それまで研究の中軸に据えてきた活性酸素との関連に注目した。一般に有害とされていた活性酸素が運動によって適度に増加すれば、逆に抗酸化能力を高めて有益になるのではないかと考えた。ハンガリーに戻ったRadak君は定期的に水泳運動をさせたラットでそれを調べた。すると脳や骨格筋の酸化ストレスマーカー(タンパク質カルボニル化など)が低下すると共に認識能力が向上した(14)。この考えは大分以前に“酒は百薬の長”のメカニズムを知りたいと

思い、エタノール代謝産物のアセトアルデヒドがタンパク質を修飾(傷害)し、それが防御系を誘導するからではないかと考え、大学院生に細胞培養系で調べてもらうテーマを出したことに端を発している。この研究は実を結ばなかったが、その後ずっと温めていたもので、アセトアルデヒドの代わりに活性酸素、お酒の代わりに運動を考えたのだった。

僅かな傷害が生体防御系を活性化し、後に遭遇するかもしれないより大きな傷害に対して抵抗力を獲得するのではないか。この考えはソウルで行われた国際基礎老化学会(2001)のパネルディスカッションでも述べた(15)。関連して、日本でアジア・オセアニア老年学会(横浜2004)が開催された際、生物学部門でシンポジウム“Hormesis and intervention of aging”を企画したが、この地区に適切な演者が少なくBP Yu博士(Univ Texas Health Sci Center, San Antonio)にもサポートをお願いして何とか開催することが出来た(16)。2005年、国際ホルミシス学会を立ち上げたマサチューセッツ大学のEd Calabrese博士が主催する第一回International conference on hormesisでExercise hormesisについて講演した。Exercise hormesisとは中等度の運動(身体活動)習慣が活性酸素の産生亢進等によって、抗酸化能力を高め、傷害タンパク質分解除去酵素系遺伝子やDNA傷害修復系遺伝子等の発現活性化を通じて防御能力を高めることを指して作った言葉である。Exercise hormesisの考えは同じころ他の研究者も主張し始めていた。ホルミシスに批判的な研究者もいるが、我々の数報の原著論文・総説は合わせて1500回以上引用されている(14, 17-20)。

以上が大学院時代に始まる老化研究個人史の概要である。恩師、優れた研究室のスタッフ、有能な大学院生やポスドク、共同研究者、折にふれて議論していただいた本学会員、その他アドバイスを頂いた多くの方々のお陰で、研究を楽しませて頂いた。去りゆく“老”老化研究者にとってこれ以上の喜びはない。感謝の気持ちで一杯である。

学問の成果を象牙の塔に閉じこめておくことなく、一般市民の方々にも還元するために数年前に『健康に老いる』(東京堂出版、2012)を出版した。老化の基礎を解説するとともに、老いることは生物学的に避けられない、しかし出来るだけ健康で過ごすにはどうしたらいいだろうか、ということについて私見を述べた。東邦大学在職中から続けているWebsite“健康長寿”(東邦大学メディアセンター管理)も同様の趣旨から作ったものである。今後も、マスメディアに流布する情報の問題点を指摘し、市民の皆さんに老化について出来るだけ正確な情報を伝えたいと思っている。

最後に、老化メカニズムの研究に携わっている間、脳裏を離れなかった老化生物学の未解決課題“動物の寿命がこれほど幅広く多様であるしくみは何だろうか”ということに関する図1を示し、いつの日にかこの問題が解明されることを願って締めくくりとしたい(21)。

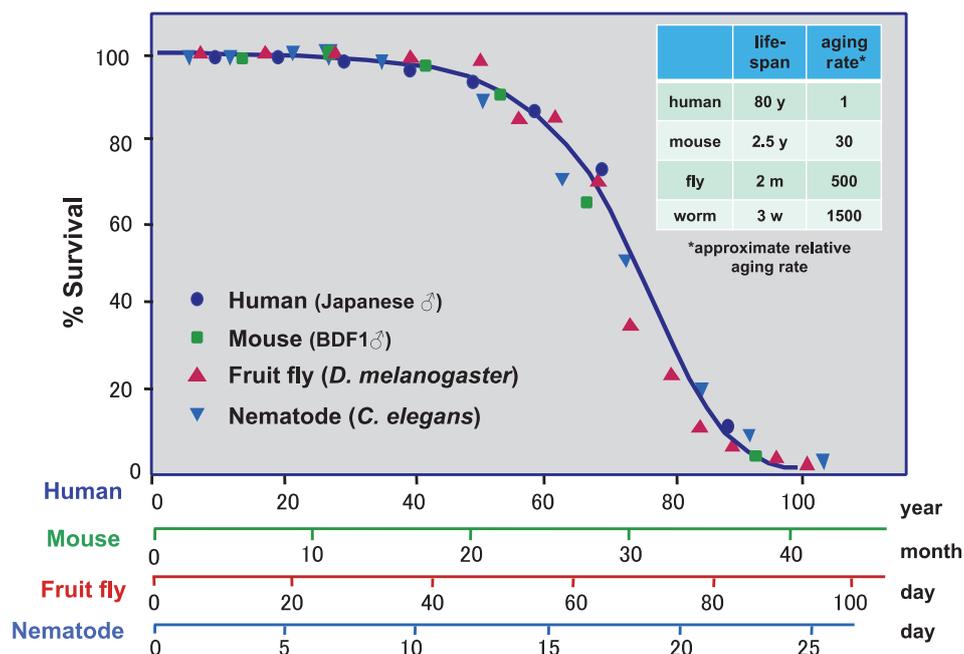


図1 寿命が大幅に異なる動物の生存曲線の類似性と老化速度の違い (21)
(初出 後藤:細胞工学 33:704-708, 2002;化学と工業 41:110-113, 1988)

文献

- (1) Vaupel JW: Biodemography of human ageing. *Nature* 464:536-542, 2010
- (2) Olshansky SJ et al: A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med* 52:1138-1145, 2005
- (3) 後藤佐多良: 老化・リソゾーム・リボゾーム [生体制御] (水野伝一編共立出版 1980) pp. 480-500
- (4) 後藤佐多良: エラー破綻説 特に蛋白合成および分解に関する諸問題 IV-3 「臨床老年医学大系・基礎老年医学総論」 pp. 91-119 (情報開発研究所 1983)
- (5) Mori N, Funatsu Y, Hiruta K, Goto S: Analysis of translation fidelity of ribosomes with protamine mRNA as a template. *Biochemistry* 24:1231-1239, 1985
- (6) Takahashi R, Goto S: Fidelity of aminoacylation by rat liver tyrosyl tRNA synthetase: Effect of age. *Eur J Biochem* 178:381-386, 1988
- (7) Nakamura A, Goto S: Analysis of protein carbonyls with 2,4-dinitrophenyl hydrazine and its antibodies by immunoblot in two-dimensional gel electrophoresis. *J Biochem* 119:768-774, 1996
- (8) Ishigami A, Goto S: Age-related change in the degradation rate of ovalbumin microinjected into mouse liver parenchymal cells. *Arch Biochem Biophys* 277:189-195, 1990
- (9) Goto S, Takahashi R, Kumiyama A, Radák Z, Hayashi T, Takenouchi M, Abe R: Implications of Protein Degradation in Aging. *Ann New York Acad Sci* 928:54-64, 2001
- (10) Hayashi T, Goto S: Age-related changes in the 20S and 26S proteasome activities in the liver of male F344 rats. *Mech Ageing Dev* 102:55-66, 1998
- (11) Kurochkin IV, Goto S: Alzheimer's β -amyloid peptide specifically interacts with and is degraded by insulin degrading enzyme. *FEBS Lett* 345:33-37, 1994
- (12) Goto S, Takahashi R, Araki S, Nakamoto H: Dietary restriction initiated in late adulthood can reverse age-related alterations of protein and protein metabolism. *Ann New York Acad Sci* 959:50-56, 2002
- (13) Goto S: Health span extension by later-life caloric or dietary restriction: a view based on rodent studies. *Biogerontology* 7:135-138, 2006
- (14) Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Msasvai M, Nyakas C, Goto S: Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage to proteins in rat brain. *Neurochem Int* 38:17-23, 2001
- (15) Park SC, Kitani K, Yu BP, Ingram DK, Reznick A, Goto S, Roth GS, Zs-Nagy I, Meydani M, Vijg J, Harman D, Stadtman E: Panel discussion - Perspectives in aging research in the new millennium: Healthy aging for functional

- longevity. *Ann New York Acad Sci* 928:336-343 2002
- (16) Goto S: Hormesis and intervention of aging: An emerging paradigm in gerontology. *Geriatrics and Gerontology International* 4: S79-S80, 2004
- (17) Radák Z, Chung HY, Goto S: Opinion: Exercise and hormesis: Oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 6:71-75, 2005
- (18) Goto S, Radak Z: Regular exercise attenuates oxidative stress in aging rat tissues: A possible mechanism toward anti-aging medicine. *J Exer Sci Fit* 5:1-6, 2007
- (19) Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 7:34-42, 2008
- (20) Radak Z, Chung HY, Goto S: Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med* 44:153-159, 2008
- (21) Goto S: The biological mechanisms of aging: A historical and critical overview In: *Ageing Mechanisms: Longevity, Metabolism and Brain Aging* (ed. by Mori N, Jung IM, Springer, 2015) pp.3-27

Retrospective notes by an old biochemist on his paths to aging research

Sataro Goto

Institute of Health and Sport Science & Medicine, Juntendo University Graduate School, Japan

Abstract

In this retrospection on my research in molecular mechanisms of aging, I described how I have thought and involved in the research, starting in graduate school when I initiated the study of aging as the theme of master course thesis given by my mentor. We focused our studies on age-related changes of protein and protein metabolism. The study on Error-catastrophe Theory of Aging was an initiation. Failure in support of the theory prompted us to study altered proteins that increase in tissues of model animals with age. We studied post-translational modifications by reactive oxygen species (ROS) based on then popular theory, i.e. Free Radical Theory of Aging, in the generation of altered proteins in aged animals, leading to the development of immunological detection of carbonyl moiety in oxidatively modified proteins. As a possible mechanism of accumulation of altered proteins we found decrease in the turnover rates of proteins in hepatocytes from aged mice. The lower degradation rate was likely due to the reduced activity of proteasomes. We studied intervention of aging by dietary restriction and regular exercise in middle-aged animals. Many of parameters that change with age were rejuvenated by 2 months of the interventions. We suggest that hormetic effects of moderate regular exercise (Exercise hormesis) due to increased generation of ROS would be a mechanism of beneficial effects of regular exercise that can retard aging.

Keywords : Mechanisms of aging, Error catastrophe theory of aging, Altered protein, Protein turnover, Dietary restriction, Regular exercise

【特集企画】

「栄養・代謝と老化」

全身性の栄養・代謝変動と細胞および個体老化との関係については、線虫やショウジョウバエなどを用いた基礎研究の成果により、両者を繋ぐ遺伝子群やシグナル伝達系などが同定されてきた。一方、超高齢化社会に突入した現代において、生活習慣病に代表される慢性的な栄養・代謝バランスの変化が実に様々な疾患を引き起こすリスク因子であることが次々と明らかになっており、栄養・代謝と生体機能との関係性が大きくクローズアップされるようになった。

そこで本特集号では、生命現象を支える根幹の1つでもある栄養・代謝に焦点を当て、その変化・障害が個体寿命はもちろんのこと、脳神経系や呼吸器系と行った各器官・組織レベルにおいてどのような影響を及ぼすのかについて、最先端かつ精力的に研究活動を展開されている5人の先生に執筆をお願いした。田口明子先生には栄養・代謝の変化が神経内分泌系を介して認知機能に及ぼす影響について、相垣敏郎先生には栄養・代謝と個体寿命との関係について、吉澤達也先生には栄養・代謝と肝脂質との関係について、清水逸平先生には脂肪細胞における炎症反応を介した心疾患との関係について、そして高橋裕先生には栄養・代謝の変化と内分泌系の変化について執筆していただいた。

編集委員

木村 展之

下田 修義

【編集後記】

本特集号に御協力いただいた先生方の玉稿を拝読するにつれ、日々何気なく行っている食生活が(少なくとも筆者は)いかに我々の健康維持に重要であるかを改めて再認識させられると同時に、個体レベルにおける栄養・代謝の変動が液性因子の放出や取込みを変化させることで様々な細胞・器官の機能に影響を及ぼすという事実に大きな興味を惹かれた。本特集号をお読みいただければ、生活習慣病が様々な疾患の発症リスクを高めるということも実に素直に受け入れられるのではないだろうか。我々人間を含む動物にとって、栄養を摂取することは生命活動を維持・継続する上で当然必要不可欠な行為であるが、過剰な栄養摂取は却って我々の健康寿命を損なうという“当たり前の話”も、分子レベルで詳細に解説していただけると説得力が増すと感じるのは筆者だけでしょうか。また、バリエーション豊かなシグナル伝達のメカニズムを正しく理解・応用することができれば、本特集号で御紹介いただいた対象疾患の予防や治療はもちろん、健康長寿そのものの達成にも大きく貢献できることは間違いのない。今後、この分野の更なる研究活動の発展に期待したい。

【総説】

糖代謝シグナルを介した認知機能制御機構

多田 敬典¹、徳永 暁憲¹、田之頭 大輔¹、倉田 栄子²、田口 明子^{1,2}

1. 国立長寿医療研究センター統合加齢神経科学研究部
2. 宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野

要約

これまで認知機能研究は、中枢神経系を中心とした解析が行われ、その結果をもとに多くの認知症治療薬候補が開発されてきた。しかしながら、現在のところ認知症に効果を示す本質的な治療薬は得られていない。近年、末梢組織を中心に研究が行われてきた代謝の変容が、認知機能にも影響をおよぼすことが明らかとなってきた。これらの背景から、代謝経路を介した新たな認知症治療薬・診断薬開発の可能性に関心が高まっている。本稿では、エネルギー代謝や栄養の恒常性を調節するインスリン様シグナルの中枢神経系における変化が、認知機能にどのような影響を及ぼすのか、我々の研究成果を含め、最新の知見を紹介する。

キーワード：認知機能障害、アルツハイマー病、糖尿病、インスリン様シグナル、代謝

はじめに

認知機能とは、記憶や学習、判断、計算、理解、思考、言語などの統合的な機能を指し、生物が理性的な社会生活を営む上で欠かすことができない能力である。認知機能が働くには、外界からの新しい刺激に応じて、脳神経系での可塑的な変化が生じる必要がある。一方、加齢や過度なストレスなど生活環境変化により神経系の可塑性が低下すると、認知機能が低下すると考えられている。現在、我が国における65歳以上の認知症有病率が15%に達し、さらなる高齢化が進む現代において認知機能障害は、予防と改善が望まれる大きな社会問題である。

これまでの認知症研究は、種々の仮説を基盤として進められ、それらを標的とした治療戦略、創薬開発が進められてきたが、現在のところ十分な成果は得られていない。このため認知症に伴う脳機能障害を中枢神経特異的な変化として考えるだけでなく、身体全体の問題として捉える必要があると考えられるようになってきた。このような研究の潮流から、全身の栄養・代謝調節を標的とした新しい認知機能障害治療戦略に注目が集まっている。実際

に代謝異常に起因する生活習慣病、特に糖尿病は認知症の発症に関与することが近年の臨床及び基礎の両研究から明らかとなり、認知機能は脳内だけで制御される訳では無く体系的に調節されているということが示唆されている。糖代謝を調節するインスリン様シグナルの脳内での機能は、未だ不明な部分を多く残しているが、糖尿病と認知機能障害および認知症の両疾患を結ぶ分子経路として重要な役割を果たすことが分かってきた。本稿では、認知障害に伴う中枢神経系と末梢組織のインスリン様シグナルの変化とこれらの動向を基盤とした新たな認知機能障害治療の可能性について最新の知見を混じえ紹介したい。

1. 糖代謝異常と認知機能障害の関係

糖代謝異常と認知機能の関係性について注目が集まる背景として、認知症に対する多くの疫学的研究から、糖尿病とアルツハイマー病の発症には正の相関性があることが報告されていた。ロッテルダム研究では、糖尿病が認知症の発症リスクを1.9倍高めることが報告され [1, 2]、一方、我が国の認知症疫学的研究として知られる久山町研究からは、認知症と診断されていない60歳以上の男女を対象にした15年間(1998～2003年)にわたる糖尿病と認知症の長期間の調査が行われ、その結果、正常血糖値群に比べ糖尿病群での認知症の発症率が1.74倍(アルツハイマー病は2.05倍、血管性認知症は1.82倍)高いことが確認された [3]。一方最近の研究からアルツ

連絡先：田口明子 〒474-8511

愛知県大府市森岡町七丁目430番地

TEL：0562-44-5651

FAX：0562-46-8452

E-mail：taguchia@ncgg.go.jp

ハイマー病患者の死後脳を用いた解析では、海馬と大脳皮質のインスリン様シグナルが変化していることが報告されている [4]。

これらの結果から糖尿病と認知症をつなぐ有力な分子機序候補として注目される脳インスリン様シグナルについて、引き続き話を進めたい。

2. インスリン様シグナル

1) インスリン様シグナルの構成因子

インスリン様シグナルは種々の臓器において、エネルギー代謝や栄養の恒常性、細胞増殖や抗アポトーシスなど重要な役割を担っている。本シグナルは、1982年に春日らがインスリン受容体がチロシンキナーゼ活性を有することを発見したことを契機に、その下流シグナル分子の活性化機構やその結果導かれる生理的作用がこれまでに明らかにされてきた [5]。インスリン様シグナル経路のリガンドには、膵臓から分泌されるインスリンや肝臓や脳で産生されるインスリン様成長因子-1 (insulin-like growth factor-1 : IGF-1) とそれらの受容体であるインスリン受容体 (insulin receptor : IR) やインスリン成長因子受容体 (IGF receptor : IGF1R) と下流因子であるインスリン受容体基質 (insulin receptor substrate : IRS) タンパク質、PI3K (phosphoinositide 3-kinase)、Akt (PKB)、FoxOs (forkhead box protein O) が知られている [6] (図1)。

2) インスリン受容体とインスリン様成長因子受容体

哺乳類のIRには2つのスプライシングアイソフォームであるIRa、IRbが存在する。IRbは成体の糖代謝標的臓器である肝臓、筋肉、脂肪に多く発現し、リガン

ドとしてインスリンと強く結合するが、インスリンとIGF-2の両方に結合するIRaは、胎生組織と成体の造血細胞や中枢神経系に優勢に発現する。一方、IGF-1RはIGF-1、IGF-2に対して強い結合力を有するが、インスリンにも低親和性ながら結合能をもつ。インスリン受容体アイソフォームIRa、IRbとIGF-1Rの混合二量体形成の多様性はインスリン、IGFsの結合受容体の選択性をより複雑にしているが下流因子は重複していることから、インスリンとIGFsから受ける影響を厳密に二分できない [7] (図1)。

3) インスリン受容体基質

IRS蛋白質はIRとIGFRの基質であり、N末端にPH (pleckstrin homology) とPTB (phosphotyrosine binding) ドメインを、またC末端にはPI3K、Grb2、SHP2結合ドメインを有する。IRS蛋白質はIRやIGFRによりリン酸化されると、チロシンリン酸化されたIRS蛋白質にSH2 (src homology-2) ドメインをもった分子が結合し、その他にShcやGab-1 (Grb2-associated binder-1) などのアダプター蛋白質もIRやIGFRによってリン酸化され、SH2蛋白質と結合しシグナルを伝達する。哺乳類ではIRS1~4の4種類のアイソフォームが同定されているが発現様式には違いが見られる。主要な蛋白質であるIRS1とIRS2は全身の臓器に発現しているが、IRS3はヒトでは偽遺伝子でありIRS4は主に脳に発現している。それぞれの体系的ノックアウト (KO) マウスの解析結果も2000年までに報告されており、IRS1^{-/-}マウスは発育遅延による身体サイズの減少を示し、インスリン抵抗性を示すものの、糖尿病の発症は認められなかった [8]。またIRS3^{-/-}マウスには特に

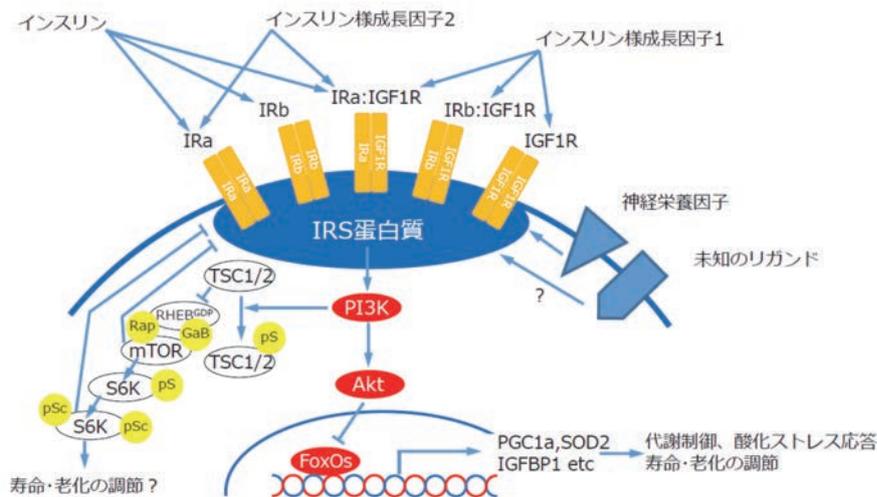


図1 中枢神経系におけるインスリン様シグナル

インスリン受容体アイソフォームIRa、IRbとIGF1Rの混合二量体形成の多様性は、インスリン、IGFsの結合受容体の選択性をより複雑にしているが、細胞内シグナルは重複しており、インスリン受容体基質IRSsのリン酸化に続くPI3K、PDK1、AKT、の活性化の結果FoxOsは不活性化され細胞質へ移行する仕組みは進化的に保存されている。脳においてはインスリン様リガンドに限らず、神経栄養因子や未知のリガンドが各々の受容体を介してIRS蛋白質に作用していることが示唆される。

大きな異常は観察されず、IRS4^{-/-} マウスでは軽い発達障害と耐糖能障害が認められたのみであった。対照的に、IRS2^{-/-} マウスは膵β細胞の機能不全によるインスリン抵抗性や肝臓の機能障害、レプチン抵抗性を伴う重篤な糖尿病を発症するとともに脳サイズの減少、過食が観察された [9]。

これらの報告から、インスリン様シグナルは脳の発生や機能維持にも関与している可能性が疑われた。

3. 脳インスリン様シグナルの作用

続いて、中枢神経系において明らかにされつつある脳インスリン様シグナルの役割について解説したい。脳インスリン様シグナルの中枢神経系機能については、未だ不明な点が多く、そのメカニズムは十分解明されていないが、脳特異的 KO マウスを用いた解析により、その役割が少しずつ明らかになってきた。

1) 脳特異的 IR 欠損マウス (NIRKO)

糖代謝調節への影響を調べるために作製された脳特異的 IR 欠損マウス (NIRKO) は、生殖機能に異常が見られたものの、糖代謝における顕著な障害は認められなかった。しかしながら、高脂肪食付加により体脂肪の増加と若干のインスリン抵抗性が誘導された。またその後の解析から NIRKO マウスの全脳における Akt と GSK3β (glycogen synthase kinase 3β) のリン酸化は低下していることが示されたが、脳の糖代謝には異常はなく、認知機能も正常であることが報告された [10]。

2) 脳特異的 IGF1R 欠損マウス (bIGF1R^{+/-}and^{-/-})

脳特異的 IGF1R 欠損マウス (bIGF1R^{-/-}: ホモ接合体) は、小頭症や重篤な発育遅延を呈し血中 IGF-1 レベル値の上昇とともに早期に死亡するが、対照的に bIGF1R^{+/-} マウス (ヘテロ接合体) は、下垂体成長ホルモンおよび血中 IGF-1 レベルの低下とインスリン抵抗性を呈したが寿命を延長した。この長寿マウスの体重は発生初期から若年期にかけては減少傾向にあったが、加齢に伴い顕著に増加した。また長寿マウスにおけるほとんどの臓器サイズは減少するが、脂肪組織 (特に皮下脂肪) だけが増大するという表現系は IRS2^{-/-} マウスおよび BIRS2^{+/-}and^{-/-} マウスと共通しており、脳 IGF1R-IRS2 経路が脂肪細胞の発生・分化と維持に関与している可能性が考えられる [11]。

3) 脳特異的 IRS2 欠損マウス (BIRS2^{+/-}and^{-/-})

脳特異的 IRS2 欠損マウス (BIRS2^{+/-}and^{-/-}) は脂肪組織の増加による軽度の体重増加とともにインスリン抵抗性を示したが、高インスリン血症による補償的な作用のため糖尿病の発症は起こらないまま寿命を延長した [12]。また脳特異的 IRS2 完全欠損マウス (NesCreIrs2^{-/-} マウス) および前脳特異的 IRS2 部分欠損マウス (D6CreIrs2^{-/-} マウス) では、スパイン形成の増加に伴い神経可塑性が亢進し、空間記憶が良好に保持されることが報告されている [13]。実際に我々は、BIRS2 ノックアウトマウスが、

寿命が延長されるのみならず、成体脳海馬神経細胞の新生を促進させ、老年期においても高い記憶学習能力を保持していることを明らかにしている (Taguchi et al., In Preparation)。このように IRS2 は認知記憶の形成に対して抑制的に働くことが示唆されている [14]。一方で、糖尿病を発症し若齢期に死亡する IRS2^{-/-} マウスの海馬では、シナプスの長期増強 (long-term potentiation: LTP) が障害されることが報告されている [15]。これら脳特異的 IRS2 欠損マウスと IRS2^{-/-} マウスの報告の違いとして、糖尿病を発症する IRS2^{-/-} マウスの海馬 LTP の障害が高血糖を含む代謝パラメーターの異常によって誘導されるのか、もしくは脳 IRS2 の欠失に起因するものであるか両方の可能性が考えられるが、明確な結論はまだ得られていない。同様にアルツハイマー病患者死後脳で IRS2 の発現低下が観察されているなど、ヒトレベルでも IRS2 の認知機能への作用に関しては見解が分かれている。そのため、生体脳内での IRS2 の動向追跡を可能にする可視化の技術開発が今後必要と考えられる。

4. 脳インスリン様シグナルとアルツハイマー病の関連

続いてアルツハイマー病患者脳内で蓄積されることが知られている Aβ、タウ蛋白質と脳インスリン様シグナルの関係性について紹介する。

1) Aβの代謝へ与える影響

アルツハイマー病は記憶力の低下を初期症状として進行性の認知機能障害を呈する神経変性疾患で、その病理的な特徴として脳内に老人斑 (senile plaque) と呼ばれるアミロイドβ (amyloid β: Aβ) 蛋白質の蓄積が見られる。アミロイド前駆体蛋白質 (amyloid precursor protein: APP) 自身は脳の発生に重要な役割を果たしている分子であることが近年わかってきたが、APP の異常な分解により神経細胞毒性の強い Aβが生じる。最近の研究から、この Aβの代謝にインスリン様シグナルが関与していることが明らかにされ関心が集まっている。IGF-1R のヘテロ欠損変異を有するアルツハイマー病モデルマウス (AD: Igflr^{+/-}) の脳では Aβの沈着がみられ Aβの凝集がさらに促進しているものの、可溶性 Aβオリゴマーの減少と Aβ重合の促進による蛋白質毒性の軽減により、神経炎症と神経細胞死が抑制され認知機能障害が改善されることが報告された [16]。このように Aβオリゴマーがアルツハイマー病の病態に関与することに加え、Aβモノマーの中枢神経における働きについても明らかになってきている。ラット大脳皮質細胞培養系において低分子量 Aβ₁₋₄₂ モノマーの投与は抗アポトーシス蛋白質 Bcl-2 の発現を増加させ、インスリン欠乏条件下で誘導される神経細胞死を有意に抑制するが、この効果は Aβ₁₋₄₂ モノマーと LY294002 (PI3K 阻害薬) の同時投与により失われた。他方、Aβ₁₋₄₂ モノマーの投与は細胞内の Akt と GSK3β のリン酸化を促進しカテニンの分解を軽減することを介して細胞死を抑制することが明らかにされた。さらに Aβ₁₋₄₂ モノマーは NMDA による興奮毒性に対して神経保護作用を示すが、AG1024 (IR/

IGFR 阻害薬)あるいはピクロポドフィリン (IGF1R 阻害薬)と $A\beta_{1-42}$ モノマーの同時投与によりこの神経保護作用が消失することがわかった [17]。以上のことから $A\beta_{1-42}$ モノマーは IR/IGFR-PI3K カスケードを介して神経保護作用を発揮することが示唆された。しかし、この神経保護作用はアルツハイマー病発症に関与する北極型突然変異 (E22G) を有する $A\beta_{1-42}$ モノマーではみられないことから、 $A\beta$ の凝集によるタンパク質毒性に加え $A\beta$ モノマーの神経保護作用の抑制が神経変性を引き起こしている可能性が示唆された [17]。

2) タウ蛋白質のリン酸化調節

タウ蛋白質は神経細胞の軸索に存在する微小管結合蛋白質であり、過剰なリン酸化によって凝集して PHFs (paired helical filaments) を形成し、神経細胞内に蓄積することでアルツハイマー病の特徴である神経原線維変化を引き起こす。近年、このタウ蛋白質のリン酸化の調節にインスリン様シグナルが関与していることは、種々の実験系を用いた解析から報告されている。ヒトのタウ蛋白質を発現させた Neuro2a (N2a) 細胞とスウェーデン変異型 APP (APPswe) を発現させた HEK293 細胞の共生培養から、細胞外 $A\beta$ の増加はインスリン投与によって誘導される Akt と GSK3 β のリン酸化を抑制し、タウ蛋白質のリン酸化を促進することがわかった。反対に共生培養における IR の過剰発現は $A\beta$ の増加によって引き起こされるタウ蛋白質のリン酸化を減少させることが示され、可溶性 $A\beta$ の増大によって導かれるタウ蛋白質のリン酸化の調節にはインスリン様シグナルが関係する可能性が示された [18]。また、IRS2 の完全欠損変異を有するアルツハイマー病モデルマウス (Tg2576/IRS2^{-/-}) の解析からは IRS2 の欠損が側頭葉皮質でのタウ蛋白質のリン酸化を増加させ、脱リン酸化を制御するホスファターゼ PP2A (protein phosphatase 2A) を抑制することも明らかにされている [19]。

3) $A\beta$ の代謝とインスリン分解酵素

インスリン分解酵素 (insulin degradation enzyme : IDE) は脳や肝臓、腎臓や筋肉において発現するメタロプロテアーゼであるが、近年の知見から IDE は細胞内外の $A\beta$ の分解にも関与していることが明らかにされている。IDE 欠損マウス (IDE^{-/-}) の大脳皮質を用いた初代培養系における解析から、IDE の欠乏は $A\beta$ の分解を抑制し内在性 $A\beta$ レベルを増加させることが示された。また、興味深いことに IDE^{-/-} マウスは肝臓におけるインスリン分解能の低下と耐糖能異常を呈することも判明した [20]。一方、アルツハイマー病モデルマウスにおける IDE の過剰発現 (2xIDE+APPswe/ind) は脳内における $A\beta$ の発現量と沈着を低下させ神経細胞死を抑制して生存期間を延長させることが報告された [21]。この結果から IDE はアルツハイマー病発症機序と糖代謝調節の両方に関与していることがわかった。

4) $A\beta$ の代謝とミトコンドリア

ミトコンドリアの機能変化は糖尿病を含む多くの疾患で観察されるが、 $A\beta$ の代謝はミトコンドリアの機能に影響を与えることが示唆されている。アルツハイマー病モデルマウスにおける APP 分解関連酵素 β セクレターゼ [β -secretase1 (beta-site APP-cleaving enzyme 1 : BACE1)] の部分的欠損 (BACE1^{+/-}·5XFAD) は、脳内のミトコンドリアにおける APP と CTF99/C99 (APP が β セクレターゼにより切断された際生じる蛋白質) の蓄積、酸化還元調節機能とコンプレックス II 活性の低下による機能異常の緩和と大脳皮質における酸化的 DNA 障害を軽減し、認知機能異常の進行を抑制することが明らかにされている [22]。この結果から、アルツハイマー病発症にはミトコンドリアの機能障害も関係していることが示唆された。

このようにアルツハイマー病発症に脳インスリン様シグナルが関与していることを裏付ける、多数の報告がなされている。

5. 脳インスリン様シグナル操作によるアルツハイマー病治療応用への可能性

続いて認知機能障害機構への新しい治療戦略の可能性として、脳インスリン様シグナル操作による認知機能への影響について紹介したい。

前述の通り、2009 年に IGF-1R ヘテロ欠損変異を有するアルツハイマー病モデルマウス (AD ; Igf1r^{+/-}) では神経変性と認知機能障害が改善することが明らかにされたが、この報告より前に Freude と Killick のそれぞれのグループから、アルツハイマー病モデルマウス (Tg2576) における IRS2 の欠損 (Tg2576/IRS2^{-/-} マウス) はタウ蛋白質のリン酸化を促進するものの、 $A\beta$ の蓄積を遅らせ早期死亡率を減少させることが明らかにされた [19]。興味深いことに、同効果は Tg2576 マウスと神経細胞特異的 IGF-1R 欠損マウス (nIGF-1R^{-/-}) の交配によって得られる Tg2576/nIGF-1R^{-/-} マウスにおいても観察されたが、神経細胞特異的 IR 欠損マウス (nIR^{-/-}) との交配により作製された Tg2576/nIR^{-/-} マウスでは観察されなかった [23] (図 2)。これらの結果から、脳における IGF1R-IRS2 シグナルブランチが個体の寿命・脳の老化調節に関与しており、IGF1R-IRS2 シグナル欠損による AD の改善効果 (抗神経変性・神経保護作用) は、 $A\beta$ の凝集やオリゴマー形成およびタウ蛋白質のリン酸化とは独立したものであることが示唆された。今後、脳インスリン様シグナルを標的としたアルツハイマー病治療薬の開発が期待される。

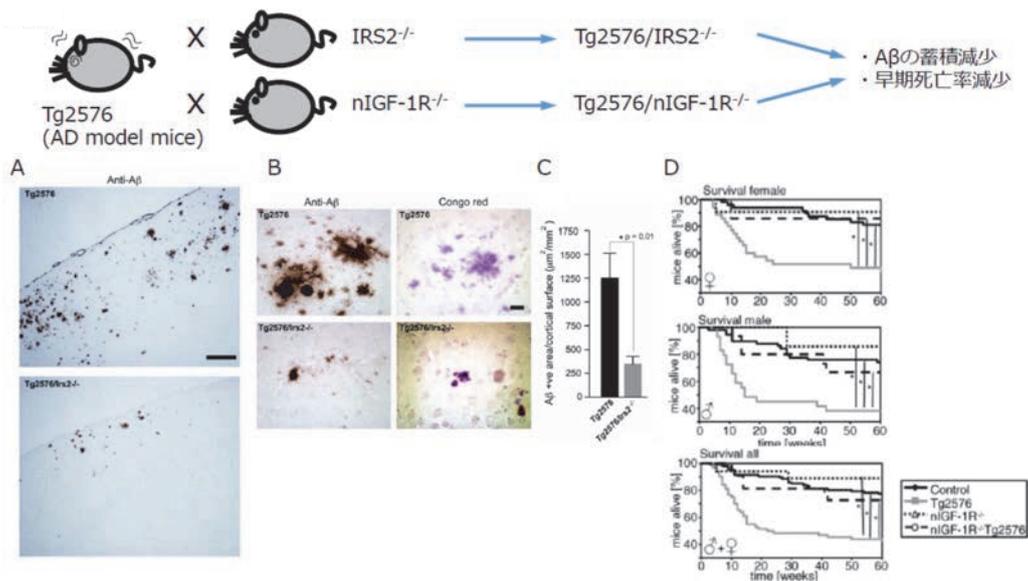


図2 アルツハイマー病モデル動物の脳インスリン様シグナル操作による機能変化

12ヶ月齢アルツハイマー病モデルマウス (Tg2576) と比較して、Tg2576/IRS2^{-/-} マウス (A) 前頭皮質、(B) 側頭葉皮質において Aβ は有意に減っており、(C) 大脳皮質においても不溶性 Aβ1-40、Aβ1-42 の蓄積レベルは低下していた。(D) Tg2576/nIGF-1R^{-/-} マウスにおいても早期死亡率が減少した。(文献 19, 23 より抜粋、改変)

おわりに

今回、糖代謝経路異常と認知機能障害の強い因果関係を示す数々の脳インスリン様シグナルの知見を紹介し、新しい認知症治療戦略の可能性を示唆した。近年、糖尿病治療薬の認知症への臨床応用が試みられている。実際にインスリンの経鼻吸入により、認知機能が改善することが報告されている [24]。他にもいくつかの糖尿病治療で、認知機能を改善させる基礎研究成果が報告されており [25]、今後それら糖尿病治療薬によるヒト認知機能障害効果について報告が待たれる。認知症は、高齢化社会を突き進む日本社会において看過することができない問題であり、代謝と認知機構の関係性の解明は、認知症研究の新たなマイルストーン研究として非常に期待が大きい。

引用・参考文献

- Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology* 53:1937-1942, 1999.
- Schrijvers EM, Witteman JC, Sijbrands EJ, et al. Insulin metabolism and the risk of Alzheimer disease: the Rotterdam Study. *Neurology* 75:1982-1987, 2010.
- Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, et al. Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Neurology* 77:1126-1134, 2011.
- Talbot K, Wang HY, Kazi H, et al. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 122:1316-1338, 2012.

- Kasuga M, Zick Y, Blithe DL, et al. Insulin stimulates tyrosine phosphorylation of the insulin receptor in a cell-free system. *Nature* 298:667-669, 1982.
- Jung HJ, Suh Y Regulation of IGF-1 signaling by microRNAs. *Front Genet* 5: 472, 2014.
- Taguchi A, White MF Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. *Annu Rev Physiol* 70:191-212, 2008.
- White MF Insulin signaling in health and disease. *Science* 302:1710-1711, 2003.
- Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 391:900-904, 1998.
- Schubert M, Gautam D, Surjo D, et al. Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3100-3105, 2004.
- Kappeler L, De Magalhaes Filho C, Dupont J, et al. Brain IGF-1 receptors control mammalian growth and lifespan through a neuroendocrine mechanism. *PLoS Biol* 6: e254, 2008.
- Taguchi A, Wartschow LM, White MF Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis. *Science* 317:369-372, 2007.
- Irvine EE, Drinkwater L, Radwanska K, et al. Insulin receptor substrate 2 is a negative regulator of memory formation. *Learn Mem* 18:375-383, 2011.
- Bomfim TR, Forny-Germano L, Sathler LB, et al. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by

- Alzheimer's disease- associated Abeta oligomers. *J Clin Invest* 122:1339-1353, 2012.
15. Martin ED, Sanchez-Perez A, Trejo JL, et al. IRS-2 Deficiency impairs NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Cereb Cortex* 22:1717-1727, 2012.
 16. Cohen E, Paulsson JF, Blinder P, et al. Reduced IGF-1 signaling delays age-associated proteotoxicity in mice. *Cell* 139:1157-1169, 2009.
 17. Giuffrida ML, Caraci F, Pignataro B, et al. Beta-amyloid monomers are neuroprotective. *J Neurosci* 29:10582-10587, 2009.
 18. Tokutake T, Kasuga K, Yajima R, et al. Hyperphosphorylation of Tau induced by naturally secreted amyloid-beta at nanomolar concentrations is modulated by insulin-dependent Akt-GSK3beta signaling pathway. *J Biol Chem* 287:35222-35233, 2012.
 19. Killick R, Scales G, Leroy K, et al. Deletion of *Irs2* reduces amyloid deposition and rescues behavioural deficits in APP transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 386:257-262, 2009.
 20. Farris W, Mansourian S, Chang Y, et al. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4162-4167, 2003.
 21. Leissring MA, Farris W, Chang AY, et al. Enhanced proteolysis of beta-amyloid in APP transgenic mice prevents plaque formation, secondary pathology, and premature death. *Neuron* 40:1087-1093, 2003.
 22. Devi L, Ohno M Mitochondrial dysfunction and accumulation of the beta-secretase-cleaved C-terminal fragment of APP in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neurobiol Dis* 45:417-424, 2012.
 23. Freude S, Hettich MM, Schumann C, et al. Neuronal IGF-1 resistance reduces Abeta accumulation and protects against premature death in a model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 23:3315-3324, 2009.
 24. Craft S, Baker LD, Montine TJ, et al. Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial. *Arch Neurol* 69:29-38, 2012.
 25. McGovern SF, Hunter K, Holscher C Effects of the glucagon-like polypeptide-1 analogue (Val8) GLP-1 on learning, progenitor cell proliferation and neurogenesis in the C57B/16 mouse brain. *Brain Res* 1473:204-213, 2012.

Role of metabolic signaling in the regulation of cognitive functions

Hirobumi Tada¹, Akinori Tokunaga¹, Daisuke Tanokashira¹,
Eiko Kurata², Akiko Taguchi^{1,2}

1. Department of Aging Integrative Neuroscience, National Center for Geriatrics and Gerontology
2. Division of Neurology, Respiriology, Endocrinology, and Metabolism, Faculty of Medicine, University of Miyazaki

Summary

Mechanisms of cognitive function and dementia have been mainly studied in central nervous system. However, effective treatments of dementia have not been developed. Recently, many studies have shown that changes in systemic metabolism are considered to be an important factor for regulation of cognitive function. Therefore, it is suggested that the development of new drugs and treatments for dementia via metabolic pathway may be an innovative approach.

In this paper, we will discuss in detail how brain insulin-like signaling which regulates energy metabolism and nutrient homeostasis affects cognitive function with our recent results and recent evidences.

Keywords : cognitive impairment, alzheimers disease, diabetes mellitus, insulin-like signaling, metabolism

【総説】

ショウジョウバエの寿命を制御する栄養と代謝

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

要約

一般に大型の生物種ほど平均寿命や最大寿命が長く、代謝速度と寿命の関連が示唆されている。また、適度な食餌制限や遺伝的変異によって寿命の延長が起こる。食餌制限による寿命延長機構については未だ不明な部分も多いが、遺伝的変異によるものではインスリン/インスリン様成長因子1 (IGF1)/TOR シグナルに関連するものが代表的である。ショウジョウバエは、成長、老化、寿命といった複雑な生命現象を分子レベルで解明するためのモデルシステムとして利用されている。特に、インスリン/IGF1/TOR シグナルについては、体や器官の大きさを制御する主要な経路として、また寿命の制御因子として多くの知見が蓄積している。本稿では、体の大きさと寿命を制御する機構と、栄養がこれらの形質に及ぼす影響について、ショウジョウバエを用いた研究の進展を紹介する。

キーワード：ショウジョウバエ、寿命、栄養、代謝

1. 代謝と寿命

ショウジョウバエは世代時間が短く、容易に多数の個体を扱えることから、老化や寿命の研究に用いられてきた。寿命と代謝の関係をあらわした説として、レイモンド・パールによる“Rate of living theory”がよく知られている [1]。ショウジョウバエの寿命は飼育温度に反比例するという観察に基づいて、生物が一生の間に消費可能なエネルギー総量は遺伝学的に決定されており、その寿命は代謝の速度によって定まるとい説である。昆虫のような変温動物ではいかにも当てはまりそうな説である。恒温動物のほ乳類でも一般に長寿命の生物種は体のサイズが大きく、単位体重あたりの代謝速度が遅くなる。従って、“Rate of living theory”が寿命と代謝の関係を大まかに表しており、老化のフリーラディカル説のよりどころの一つにもなっている。しかし、代謝速度と寿命の間に因果関係が成立しているかどうかは不確かである。

2. インスリン/IGF1/TOR シグナル

寿命と代謝を関連づける情報伝達経路として、インス

リン/インスリン様成長因子1 (IGF1) および Target of Rapamycin (TOR) シグナル経路があげられる。寿命決定におけるインスリン/IGF1 シグナル経路の役割に関する研究は、線虫のインスリン受容体をコードする daf-2 長寿命変異体の同定に始まった [2]。ショウジョウバエでは、インスリン受容体基質 (Chico)、およびインスリン受容体 (InR) の変異体が長寿命であることが報告された [3, 4]。ショウジョウバエのインスリン/IGF1 経路は体や組織の大きさを制御するシグナル経路として研究されていた。インスリン受容体基質の変異体は、体のサイズが野生型の半分程度になるため、その遺伝子はスペイン語で小さな体を意味する chico と命名された [5]。脊椎動物のインスリン受容体基質 (IRS) に類似したタンパク質をコードしており、Chico を欠損する変異体では、組織を構成する個々の細胞の大きさが小さくなるとともに、細胞数も減少する。発生速度が遅延し、脂質の異常な蓄積がおこるなど、代謝の異常が認められた [5]。

ショウジョウバエにはインスリン様ペプチドが8種類 ((*Drosophila* insulin-like peptide1-8: Dilp1-8)、およびインスリン受容体1種類が存在する (FlyBase; <http://flybase.org/>)。各 Dilp 遺伝子は発生段階で固有の発現ターンを示す。成虫においては、脳の一部にあるインスリン産生細胞 (Insulin producing cells: IPCs) が Dilp2, Dilp3, および Dilp5 を発現しており、血糖値の制御や寿命の制御にかかわっている [6]。幼虫期初期に IPCs を遺伝学的に除去した個体では、成長遅延や体のサイ

連絡先：相垣敏郎 〒192-0397

東京都八王子市南大沢1-1

TEL：042-677-2560

FAX：042-677-2559

E-mail：aigaki-toshiro@tmu.ac.jp

ズの減少、血糖値の上昇など、糖尿病様の表現型を示す [7]。一方、幼虫期後期に IPCs を除去した場合には、産卵数が減少し、脂肪や炭水化物の貯蔵量が増大し、長寿命になる [8]。3 種類のリガンド (Dilp2, Dilp3, および Dilp5) の中で、Dilp2 の発現レベルが最も高い。IPCs を除去した個体の表現型は Dilp2 遺伝子の過剰発現でレスキューされることから、Dilp2 が主要な役割を担うリガンドであると考えられている [7]。また、ほ乳類の SIRT1 ホモログである Sir2 のノックダウンにより、Dilp2 および Dilp5 の発現が上昇することから、これらは食餌制限による寿命の延伸機構に関与すると考えられている [9, 10]。個々の Dilp 遺伝子の発現はそれぞれ固有の制御をうけている。Dilp2 のノックダウン個体では Dilp3 と Dilp5 の発現が上昇することから、これらの中で発現レベルを調節する補償機構が存在する可能性がある [11]。その他、PTEN、FOXO、TOR、4E-BP、S6K など、インスリン / IGF / TOR シグナル経路を構成する分子について、寿命との関係が実験的に検証されている [12, 13]。

筆者らは、体の大きさに影響を与える遺伝子の中から代謝と寿命に影響を及ぼす遺伝子を同定した。ショウジョウバエは表現型でスクリーニングして原因遺伝子を同定するフォワードジェネティクス (順遺伝学) を得意とするが、寿命の表現型でスクリーニングするのは多大な時間と労力を要する。そこで、まず体の大きさを指標としたスクリーニングを行った。体の大きさに影響を与える遺伝子が必ずしも寿命に影響を与えるとは限らない。次にそれらの候補遺伝子の中から寿命に影響を及ぼすものをスクリーニングした [14]。具体的には、強制発現ベクター (トランスポゾン) をゲノムにランダムに挿入した多数の系統ライブラリーを用いて、強制発現により体のサイズを小さくする遺伝子を探索した。その結果、プロテインホスファターゼ 2A (PP2A) の調節サブユニットをコードする遺伝子 *wdb*、および AMPK を活性化するリン酸化酵素をコードする遺伝子 *lkb1* を同定した。*wdb* の過剰発現は AKT の過剰発現に起因する器官サイズの増大を抑制した。このとき、リン酸化 AKT のレベルが減少した。従って、過剰発現した *wdb* はリン酸化型 AKT を脱リン酸化することにより、インスリンシグナル経路を抑制したものと推定される。これが生体内で起こっているかどうかは不明である。また、*lkb1* は AMPK をリン酸化して活性化するとともに、TOR シグナリング下流の S6k のリン酸化レベルが大幅に減少した。従って、*wdb* と *lkb1* 遺伝子は、インスリン / IGF1 / TOR シグナル経路の抑制を介して、器官サイズの減少と寿命延長を引き起こしたことを示唆する。

3. エネルギー代謝経路に関わる遺伝子の変異と寿命

研究室で維持されていたショウジョウバエの中に長寿命変異体があるのを偶然見つけた例がある。 *Indy* (*Im not dead yet*) と命名された変異体で、平均寿命が野生型に比べて約 2 倍になる [15]。原因遺伝子はクエン酸、ピルビン酸、 α ケトグルタル酸などの TCA 回路中間産

物の細胞膜トランスポーターをコードしている [16]。変異体では遺伝子の発現レベルが低下しており、ヘテロ接合体で長寿命となるが、さらに機能を低下させると短寿命になる。TCA 回路は主要なエネルギー産生回路であり、その基質の供給は重要である。*Indy* の変異体ではトランスポーターの機能が適度に低下しているものと考えられる。しかし、英国のグループが遺伝的背景を考慮した追試を行ったところ、*Indy* による寿命延長効果を再現することができなかった [17]。最初に報告した米国の研究室グループも追試を行い、*Indy* の寿命延長効果は遺伝的背景に依存することを認めている。最近、*Indy* による寿命延長効果には、カロリー制限によって発現が上昇することが知られている転写因子 PGC-1 が関与していることが報告されている [18]。ほ乳類において、PGC-1 はミトコンドリアの生合成、呼吸、グルコースの恒常性維持に関わっている [19]。ショウジョウバエにおいて PGC-1 の強制発現による寿命延長効果には、ミトコンドリア生合成の促進、ROS レベルの抑制が関与していると考えられている [20]。興味深いことに、PGC-1 を中腸の幹細胞だけで発現させても寿命の延長が起こることから、個体寿命における中腸組織の機能的な重要性が示唆されている [21]。また、マウスの *Indy* ホモログ変異体 (*mIndy*^{-/-}) においても、グルコース代謝異常やミトコンドリアの生合成促進など、ショウジョウバエ *Indy* 変異体と同様の変化が起こる [21]。PGC-1 は前述した *Indy* 変異による寿命延長効果を左右する遺伝的背景の可能性もある。

ミトコンドリアの機能に関わる遺伝子を標的とした RNAi ノックダウン実験では、予想に反した結果が得られている [22]。電子伝達系にかかわる 5 つの遺伝子をノックダウンしたところ、いずれも長寿命になった。しかも、呼吸速度や ATP 産生量はほとんど低下していなかった [22]。筆者らは、TCA 回路を構成する酵素遺伝子のひとつであるアコニターゼのノックダウン実験を行った [23]。アコニターゼのノックダウンした個体では、予想どおりアセチル CoA やクエン酸などアコニターゼの前段階の基質が蓄積しており、その産物であるコハク酸、フマル酸、マレイン酸が減少していた。しかしながら、上述した電子伝達系の遺伝子のノックダウンと異なり、呼吸速度、ATP 産生、運動性は野生型に比べて有意に低下しており、著しく短命であった。グリコーゲンやトリグリセリドの蓄積がほとんど見られず、TCA 回路の機能不全によってエネルギーが枯渇状態にあることを示唆した。ミトコンドリアの代謝機能を担う遺伝子であっても、ノックダウンの効果は標的とする遺伝子によって一様ではないことを示唆する。

4. 食餌制限による寿命延長機構

適度な食餌制限が寿命を延長することは、ショウジョウバエを含む様々な生物種において確認されている [24]。ショウジョウバエでは食餌の量を一定に制限することは技術的に困難なため、対照群となる標準的な培地を希釈したものを低栄養条件として実験を行う。インス

リン/IGF1/TOR シグナルの変異体では、食餌制限による寿命の延長効果は野生型ほど顕著におこらないことから、食事制限の機構に同シグナルが関与すると考えられている。また、NAD 依存性ヒストン脱アセチル化酵素である Sir2 の機能欠損変異体では、食餌制限による寿命延長効果が認められないことから、Sir2 の関与も示唆された [25]。一方、食事制限が寿命に及ぼす効果は培地のカロリーではなく、培地の組成が重要であることが明らかになった [26]。ショウジョウバエの寿命に大きく影響を及ぼすのはアミノ酸源であるイーストの量であり、グルコースの影響は極めて限定的であることがわかった。ただし、絶対濃度ではなく、タンパク質（イースト）と炭水化物の比が重要であると考えられている [27, 28]。

著者らは、発生過程においてもイーストとグルコースが異なった生理学的影響をもつことを見出した [29]。遺伝子操作によりインスリン様ペプチド 2 (Dilp2) を過剰発現させると体のサイズが大きくなる。発生過程で多くの個体が死亡するが、インスリン受容体 (InR) や AKT の機能を抑制することで生存率が改善する。一方、TOR 経路の S6K や TOR の機能を抑制しても顕著な回復は認められなかった。このことは、過剰なインスリンシグナルが原因で致死となったことを意味する。興味深いことに、培地中のイーストを増加すると生存率は上昇し、グルコースを増加すると逆に低下した。その正確な機構は不明であるが、過剰なインスリンシグナルが引き起こした代謝の破綻を栄養バランスで修正可能であることを示唆する。

5. 終わりに

動物実験に用いる飼料や培地は実験に都合がいいように最適化されてきた。遺伝学の材料であるショウジョウバエの場合には、できるだけ早く成長して、健康な次世代が多数生まれてくるのが理想的である。しかし、老化や寿命といった個体の生理学的形質を研究する場合には、注意が必要である。本稿で紹介した *Indy* に関する研究においては、二つの研究室で矛盾する結果が得られている。培地の成分の差異が原因となっている可能性があるため、寿命延長効果について議論する場合には、培地の組成や実験プロトコルをできるだけ厳密に定義するように心がける必要がある。その上で、遺伝的背景による差異を解析することで、食事制限による寿命延長効果の本質が明らかになるものと期待される。

文献

1. Pearl, R. The Rate of Living. New York: Alfred Knopf. 1928, pp184.
2. Kenyon C, Chang J, Gensch E, *et al.* A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*. 366: 461-464, 1993.
3. Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, *et al.* Extension of life-span by loss of CHICO, a

4. Tatar M, Kopelman A, Epstein D, *et al.* A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*. 292: 107-110, 2001.
5. Böhni R, Riesgo-Escovar J, Oldham S, *et al.* Autonomous control of cell and organ size by CHICO, a *Drosophila* homolog of vertebrate IRS1-4. *Cell*. 97: 865-875, 1999.
6. Broughton S, Alic N, Slack C, *et al.* Reduction of DILP2 in *Drosophila* triages a metabolic phenotype from lifespan revealing redundancy and compensation among DILPs. *PLoS One*. 3: e3721, 2008.
7. Rulifson EJ, Kim SK, Nusse R. Ablation of insulin-producing neurons in flies: growth and diabetic phenotypes. *Science*. 296: 1118-1120, 2002.
8. Broughton SJ, Piper MD, Ikeya T, *et al.* Longer lifespan, altered metabolism, and stress resistance in *Drosophila* from ablation of cells making insulin-like ligands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102: 3105-3110, 2005.
9. Banerjee KK, Ayyub C, Sengupta S, *et al.* dSir2 deficiency in the fatbody, but not muscles, affects systemic insulin signaling, fat mobilization and starvation survival in flies. *Aging (Albany NY)*. 4: 206-223, 2012.
10. Banerjee KK, Ayyub C, Sengupta S, *et al.* Fat body dSir2 regulates muscle mitochondrial physiology and energy homeostasis nonautonomously and mimics the autonomous functions of dSir2 in muscles. *Mol Cell Biol*. 33: 252-264, 2013.
11. Grönke S, Clarke DF, Broughton S, *et al.* Molecular evolution and functional characterization of *Drosophila* insulin-like peptides. *PLoS Genet*. 6: e1000857, 2010.
12. Partridge L, Alic N, Bjedov I, *et al.* Ageing in *Drosophila*: the role of the insulin/Igf and TOR signalling network. *Exp Gerontol*. 46: 376-381, 2011.
13. Kannan K, Fridell YW. Functional implications of *Drosophila* insulin-like peptides in metabolism, aging, and dietary restriction. *Front Physiol*. 4: 288, 2013.
14. Funakoshi M, Tsuda M, Muramatsu K, *et al.* A gain-of-function screen identifies *wdb* and *lkb1* as lifespan-extending genes in *Drosophila*. *Biochem Biophys Res Commun*. 405: 667-672, 2011.
15. Rogina B, Reenan RA, Nilsen SP, *et al.* Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*. *Science* 290: 2137-2140, 2000.
16. Knauf F, Rogina B, Jiang Z, *et al.* Functional

- characterization and immunolocalization of the transporter encoded by the life-extending gene Indy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99: 14315-14139, 2002.
17. Toivonen JM, Walker GA, Martinez-Diaz P, *et al*. No influence of Indy on lifespan in *Drosophila* after correction for genetic and cytoplasmic background effects. *PLoS Genet*. 3: e95, 2007.
 18. Rogers RP, Rogina B. Increased mitochondrial biogenesis preserves intestinal stem cell homeostasis and contributes to longevity in Indy mutant flies. *Aging (Albany NY)*. 6: 335-350, 2014.
 19. López-Lluch G, Hunt N, Jones B, *et al*. Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103: 1768-1773, 2006.
 20. Rera M, Bahadorani S, Cho J, *et al*. Modulation of longevity and tissue homeostasis by the *Drosophila* PGC-1 homolog. *Cell Metab*. 14: 623-634, 2011.
 21. Rogers RP, Rogina B. The role of INDY in metabolism, health and longevity. *Front Genet*. 6: 204, 2015.
 22. Copeland JM, Cho J, Lo T Jr, *et al*. Extension of *Drosophila* life span by RNAi of the mitochondrial respiratory chain. *Curr Biol*. 19: 1591-1598, 2009.
 23. Cheng Z, Tsuda M, Kishita Y, *et al*. Impaired energy metabolism in a *Drosophila* model of mitochondrial aconitase deficiency. *Biochem Biophys Res Commun*. 433: 145-150, 2013.
 24. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Science*. 328: 321-326, 2010.
 25. Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 15998-6003, 2004.
 26. Mair W, Piper MD, Partridge L. Calories do not explain extension of life span by dietary restriction in *Drosophila*. *PLoS Biol*. 3: e223, 2005.
 27. Lee KP, Simpson SJ, Clissold FJ, *et al*. Lifespan and reproduction in *Drosophila*: New insights from nutritional geometry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105: 2498-2503, 2008.
 28. Tatar M, Post S, Yu K. Nutrient control of *Drosophila* longevity. *Trends Endocrinol Metab*. 25: 509-517, 2014.
 29. Sato-Miyata Y, Muramatsu K, Funakoshi M, *et al*. Overexpression of *dilp2* causes nutrient-dependent semi-lethality in *Drosophila*. *Front Physiol*. 5: 147, 2014.

Nutrition, metabolism and longevity in *Drosophila*

Toshiro Aigaki

Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University

Summary

In general, the bigger animals live longer, suggesting that metabolic rate is associated with lifespan. Lifespan can be extended by dietary restriction or by mutations that reduce the activity of the insulin/insulin-like growth factor 1(IGF-1)/TOR signaling in diverse organisms. The fruit fly *Drosophila* has been used as a model system to study molecular genetic bases of growth, aging and longevity. A number of studies have been conducted in this species, to elucidate the property of the insulin/IGF-1/TOR pathway and its impact on lifespan as well as organ and body size. In this review, I will introduce the progress of studies on the regulation of body size and lifespan, and how nutrition affects these traits in *Drosophila*.

Keywords : *Drosophila*, lifespan, nutrition, metabolism

【総説】

SIRT7 の多様な代謝機能

吉澤 達也、山縣 和也

熊本大学 大学院生命科学研究部 病態生化学分野

要約

サーチュイン（哺乳類では SIRT1-7）は NAD 依存性脱アシル化酵素として働き、代謝・がん・老化などに関与する重要な因子である。我々は、*Sirt7* ノックアウト（KO）マウスでは、高脂肪食で誘導される肥満、脂肪肝、糖尿病が野生型マウスに比べて軽減することを発見した。肝臓では、SIRT7 がユビキチンリガーゼ複合体に結合することで TR4（脂質代謝に重要な核内受容体）タンパク質の分解を抑制し、その結果として TR4 標的遺伝子の活性化を介して脂肪酸取り込みとトリグリセリド合成 / 貯蔵を増加させることを証明した。さらに我々は、*Sirt7* KO マウスは体温が高く、褐色脂肪組織において熱産生遺伝子群の発現が上昇していることを見出しており、褐色脂肪組織におけるエネルギー代謝においても SIRT7 が重要であると考えられた。この研究により、SIRT7 が糖脂質エネルギー代謝調節に重要な役割を果たしていることが示された。

キーワード：サーチュイン、肥満、脂肪肝、糖尿病、エネルギー代謝

1. はじめに

近年、糖尿病・肥満・高血圧といった生活習慣病が世界中で急増しており、その成因解明と治療法の開発は非常に重要な課題である。サーチュイン（哺乳類では 7 種類（SIRT1 ~ SIRT7）は、がん、老化、様々な代謝を調節しており、代謝異常症などの創薬ターゲットとして注目されている [1, 2]。サーチュインは、標的タンパク質のリジン残基のアセチル基を NAD 依存的に取り除く脱アセチル化酵素である。最近の研究では、アセチル基のみならずマロニル基、サクシニル基、長鎖脂肪酸由来のアシル基など様々なアシル基を取り除く酵素活性が新発見されており、サーチュインはリジン残基の脱アシル化酵素という新たな概念の酵素群として認識されるようになってきた [3-5]。

このような背景の中、SIRT7 は最も研究が遅れていた因子であったが、ここ 3 ~ 4 年で非常に重要な研究成果が立て続けに報告され始めた。2012 年、SIRT7 の酵素活性とその標的タンパクが初めて報告された [6]。この研究で、SIRT7 はヒストン H3 における 18 番目のリジンのアセチル基を特異的に脱アセチル化すること、さらにこの特異的な脱アセチル化は、がん細胞の基本的特

性と腫瘍形成性の維持のために重要であることが明らかとなった。SIRT7 は rDNA 転写の調節に関わることが分かっていたが、その分子機構については長らく不明であった。しかし 2013 年に、RNA ポリメラーゼ I サブユニットの PAF53 が SIRT7 によって脱アセチル化されることが発表された [7]。マウス個体で証明されている生理機能は、心筋細胞でのストレス応答と細胞死の制御（KO マウスは拡張型心筋症）のみであり [8]、代謝における SIRT7 の機能については全く不明であった。そこで我々は、SIRT7 の代謝における役割と分子機能の解明を試み、2014 年に SIRT7 が肝臓の脂質代謝調節に重要な役割を果たしていることを報告した [9]。本稿では、この報告を中心に SIRT7 の糖脂質エネルギー代謝調節機能について概説する。

2. 肝臓の脂質代謝を調節する SIRT7

1) *Sirt7* KO マウスでは、高脂肪食で誘導される脂肪肝が軽減される

SIRT1,3,6 の KO マウスでは脂肪肝を発症することが報告されているため [10-12]、我々はまず *Sirt7* KO マウスを用いて肝臓の脂質代謝について検討した。その結果、*Sirt1,3,6* KO マウスとは著しく対照的に、*Sirt7* KO マウスでは高脂肪食によって肝臓へ蓄積される脂肪滴が顕著に減少していた（図 1 A）。この組織学的解析結果に一致して、高脂肪食を与えた *Sirt7* KO マウスの肝臓トリグリセリド量は、野生型マウスに比べて優位に低下していた（図 1 B）。一方、通常食を与えた場合には、

連絡先：吉澤達也 〒 860-8556

熊本県熊本市本荘 1-1-1

TEL : 096-373-5070

E-mail : yoshizaw@kumamoto-u.ac.jp

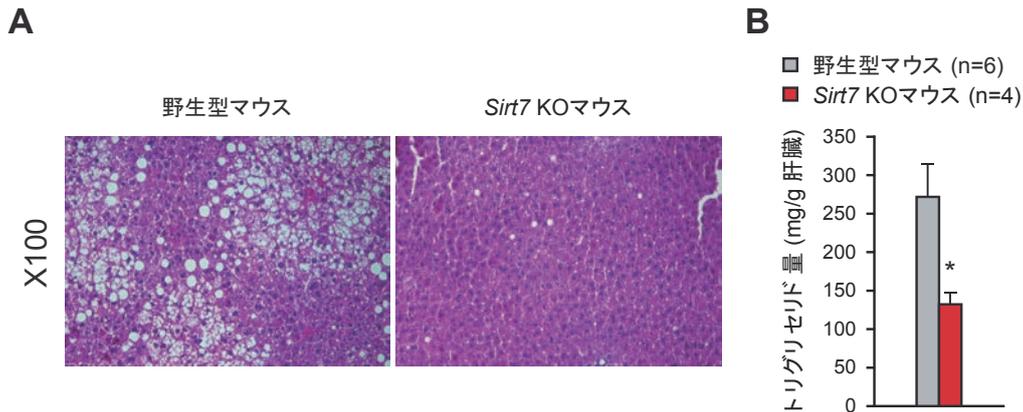


図1：Sirt7 KO マウスでは高脂肪食で引き起こされる脂肪肝が軽減。22 週間高脂肪食を与えた野生型マウスと Sirt7 KO マウスの肝臓を用いて、脂肪の蓄積程度を解析した。(A) 典型的な肝臓の組織切片像。(B) 肝臓中のトリグリセリド量。
データは平均値±標準誤差で示されている。* p<0.05

顕著な差は見られなかった。そこで次に、高脂肪食を与えた Sirt7 KO マウスの肝臓を用いて、脂質代謝に関する遺伝子群の発現を調べた。Sirt7 KO マウスでは、脂肪酸の取り込みに関わる遺伝子 *Cd36*、トリグリセリドの合成に関わる遺伝子 *Mogat1*、貯蔵に重要な遺伝子 *Cidea*、*Cidec* の発現が顕著に減少していた。脂肪酸合成に関する遺伝子群や β 酸化に関わる遺伝子群の幾つかも減少していた。

SIRT7 による肝臓の脂質代謝への作用が、肝臓で発現する SIRT7 の直接作用によるのかを明らかにするため、我々は肝臓特異的 Sirt7 KO マウスを作製し解析したところ、肝臓特異的 Sirt7 KO マウスにおいても、高脂肪食による肝臓へのトリグリセリド蓄積はコントロールマウスに比べて低下していた。そこで次に、培養細胞系にて SIRT7 による肝細胞の脂質代謝への作用を解析した。通常食を与えた Sirt7 KO マウスから得られた初代肝細胞では、*Cd36*、*Mogat1*、*Cidea* などの遺伝子発現は低下していたが、脂肪酸合成に関する遺伝子群は変化がなかった。肝細胞株 AML-12 で Sirt7 を siRNA によりノックダウン (KD) した場合にも同様の現象が見られた。つまり、肝臓の SIRT7 は、主に脂肪酸の取り込みとトリグリセリドの合成/貯蔵を調節していることが明らかとなった。このことに一致して、AML-12 を用いた脂肪酸の取り込み実験では、脂肪酸の短時間での取り込みと脂肪滴の蓄積が、Sirt7 の KD により顕著に減少した。過剰の脂肪酸を添加しない場合にはコントロールとの間に差が認められないことは、KO マウスの結果とよく相関しており、肝臓の SIRT7 が脂肪酸の取り込みを強く制御していることが裏付けられた。

2) 肝臓の SIRT7 は TR4 のタンパク質の制御により脂質代謝を調節する

我々は、Sirt7 KO マウスの表現型と遺伝子発現パターンが、脂質代謝に重要な役割を果たす核内受容体 TR4 の KO マウス [13] に非常に似ていることを発見した。

そこで、通常食を与えた Sirt7 KO マウスの肝臓を用いて TR4 タンパク質の量を調べたところ、野生型マウスに比べて減少していることが明らかとなった。また、Sirt7 KD AML-12 細胞の場合にも同様の現象が見られた。さらに、Sirt7 KD AML-12 細胞に SIRT7 を強制発現させると、減少していた TR4 タンパク質量が回復した。この時、酵素活性のない SIRT7 変異体を用いると、その回復効果は消えることから、SIRT7 の TR4 タンパク質量制御には酵素活性が必要であることが示唆された。

SIRT7 の脂質代謝調節作用において、実際に TR4 タンパク質量の制御が重要であるか否かを調べるため、TR4 を強制発現するアデノウイルスを Sirt7 KO マウスに感染させた。その結果、高脂肪食摂取時に軽減していた脂肪肝が野生型と同程度にまで戻ることを証明した。さらに、Sirt7 KD AML-12 細胞に TR4 を強制発現するアデノウイルスを感染させる実験においても、同様の結果が得られた。これらの結果は、肝臓の SIRT7 が TR4 のタンパク質量の制御を介して脂質代謝を調節することを示すものである。

3) SIRT7 は DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体に結合し、TR4 のタンパク質分解を抑制している

Sirt7 KO マウス肝臓の TR4 mRNA の発現量は野生型マウスと比べて差がなかったことから、TR4 タンパク質の安定性について解析した。パルスチェイス解析により、TR4 タンパク質は Sirt7 KD AML-12 細胞においてより早く分解していくことを発見した。さらに、TR4 タンパク質は細胞内でユビキチン化されること、そのユビキチン化の程度は SIRT7 の強制発現により低下することを明らかにした。

TR4 のユビキチン化を行う因子群の取得のため、ブルダウン法と質量分析法を用いて網羅的に TR4 結合タンパク質を取得した。その結果、DCAF1/DDB1/CUL4 E3 ユビキチンリガーゼ複合体 [14,15] の構成タンパク

質である DDB1 と DCAF1 が検出された。免疫沈降法により、DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体は TR4 と結合することが示された。さらに、*Sirt7* を KD しておいた Hepal-6 肝癌細胞において、CUL4B の発現を siRNA によって抑制させると、コントロール siRNA に比べて TR4 タンパク質の発現量が増加することを明らかにした。これらの結果から、肝細胞において、DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体は TR4 に結合し、そのユビキチン化と分解を促進することが強く示唆された。さらに我々は、SIRT7 が DCAF1、DDB1、CUL4B それぞれと複合体を形成することも明らかにした。

次に SIRT7 が DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体依存的な TR4 の分解を制御するかどうかについて解析した。Hepal-6 細胞において、*Sirt7* を KD すると TR4 タンパク質量は減少するが、同時に CUL4B を KD すると TR 4 タンパク質量は減少しなかった。また、*Sirt7* KD AML-12 細胞に SIRT7 を強制発現させると TR4 タンパク質量が増加するが、同時に CUL4B を KD しておくとも TR 4 タンパク質量は増加しなかった。これらの結果は、SIRT7 が DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体に結合し、それにより TR4 のユビキチン化と分解を阻害することを示している。

この研究により、SIRT7 はユビキチン-プロテアソーム経路の制御を介して、肝臓の脂質代謝を調節することが明らかにされた。図 2 に示す通り、肝細胞では SIRT7 は DCAF1/DDB1/CUL4B E3 ユビキチンリガーゼ複合体に結合し、それにより TR4 のユビキチン化と分解を阻害している。分解を逃れた TR4 は *Cd36* などの脂質代謝関連遺伝子群の発現を上げる。結果的に脂肪酸を取り込み貯蔵する経路が働き、過剰の脂肪を摂取した場合には、肝臓に脂肪が蓄積していくこととなる (図 3 上)。一方、SIRT7 が無い場合には、TR4 は分解の方

向に傾き、脂肪酸を取り込み貯蔵する経路が低下しているため、過剰の脂肪を摂取した場合でも肝臓に脂肪が貯まりにくくなるのである (図 3 下)。

4) 老化した *Sirt7* KO マウスの肝臓ではミトコンドリアの異常により微小脂肪滴が現れる

我々の論文が発表された後しばらくして、Dr.Auwerx のグループが、老化した *Sirt7* KO マウスの肝臓ではミトコンドリアの異常により微小脂肪滴が現れることを報告した [16]。このメカニズムとして、SIRT7 がミトコンドリアの機能に重要な GABP β 1 を脱アセチル化し、GABP α /GABP β ヘテロダイマーの転写活性を増加させることが示されている。この表現型は、一見すると「*Sirt7* KO マウスでは高脂肪食で誘導される脂肪肝が軽減される」という我々の結果に反すると考えられるが、彼らを用いているマウスが通常食を与えた老齢 (42-55 週齢) マウスのみであり、若いマウスについては一切言及されていないことに注意が必要である。

SIRT7 によるミトコンドリアの機能調節は老化した時期にのみ必要なのか、それとも SIRT7 欠損によるミトコンドリアの異常は若い時期から起こっているが、長い時間をかけて脂肪滴の蓄積という表現型が現れるのか、今後の詳細な解析が待たれる。

3. 肥満と糖尿病に関する SIRT7

我々は、脂肪肝の軽減以外に、*Sirt7* KO マウスでは高脂肪食で誘導される肥満と糖尿病が軽減されることを発見した [9]。具体的には、高脂肪食を 12 週間与えた *Sirt7* KO マウスは、野生型マウスに比べて、精巣上体脂肪 (内臓脂肪) の重量比率 (%体重) が 3 割以上も減少していた。また、耐糖能試験では、ブドウ糖負荷後 30 分の血糖値が 2 割程低い値だった。一方、高脂肪食を与えた肝臓特異的 *Sirt7* KO マウスとコントロールマウスの間では、体重、脂肪重量、耐糖能に顕著な差が認

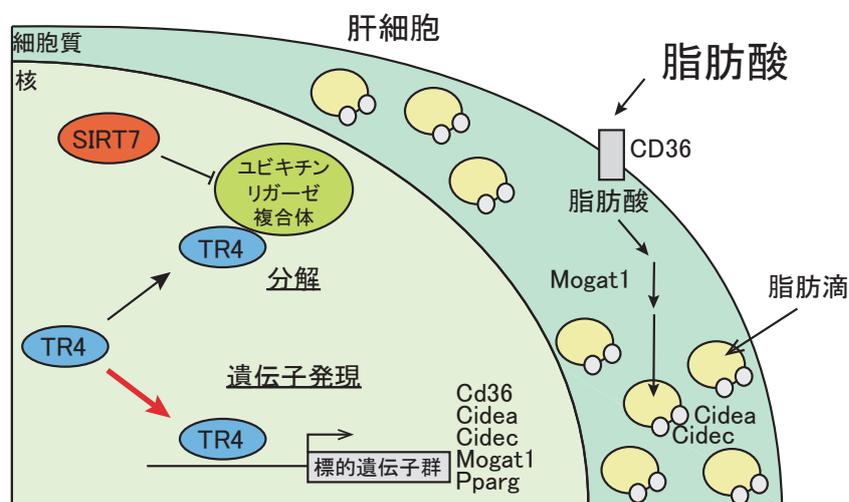


図 2 : SIRT7 がユビキチン-プロテアソーム経路の制御を介して肝臓の脂質代謝を調節するモデル図。本文参照。

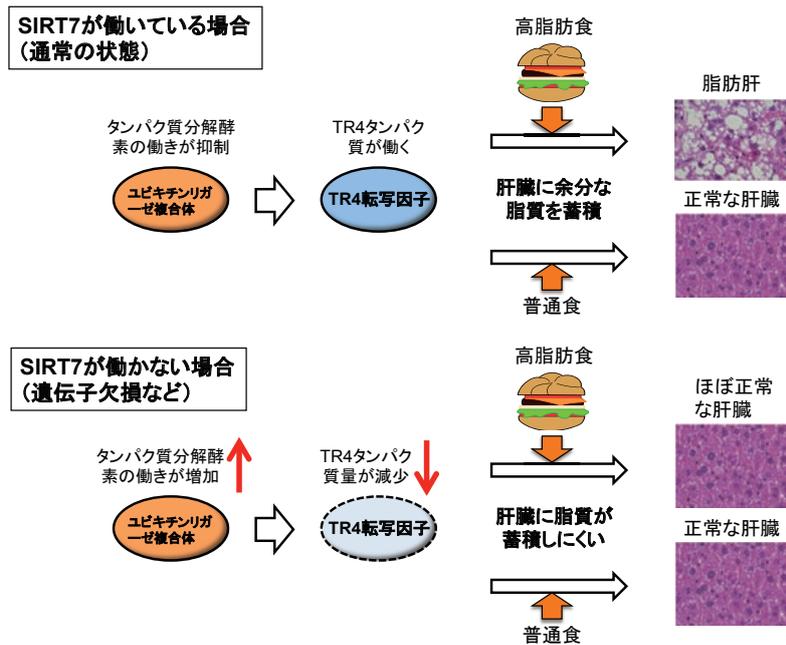


図3：SIRT7の有無で肝臓への脂質蓄積が変化する機構

められなかった。この結果は、肝臓以外のSIRT7が脂肪重量、耐糖能に重要な役割を果たしていることを示している。

CD36は脂肪組織においても脂肪酸の取り込みに関与していることが分かっている。また、脂肪細胞でのCidea KDは脂肪分解を促進させる。現在のところ高脂肪食負荷Sirt7 KOマウスの肥満軽減作用の正確な機構は明確ではないが、少なくともSirt7 KOマウスの脂肪組織でCd36とCideaの遺伝子発現が減少していることはその一端を担っていると考えられる。

高脂肪食を与えたSirt7 KOマウスは、自発運動活性と食餌摂取量において野生型マウスとの間に差が認められない。したがって、脂肪が体に蓄積しにくいSirt7 KOマウスでは、余分な脂質が何処かで消費されている可能性が示唆された。そこで、呼吸ガス分析によるエネルギー代謝測定を行ったところ、Sirt7 KOマウスでは呼吸交換率(RER)が優位に低いことが明らかとなった。つまり、Sirt7 KOマウスでは脂質を燃焼する傾向が比較的強いことが分かった。

4. 褐色脂肪組織における熱産生を調節するSIRT7

エネルギー代謝測定の際、高脂肪食を与えたSirt7 KOマウスは体温が高いことも判明した[9]。骨格筋においてSirt7の発現は非常に低いことが報告されていることから、褐色脂肪組織において熱産生に関わる遺伝子群の発現を調べたところ、Sirt7 KOマウスではUcp1や

Dio2の遺伝子発現が著しく増加していた[9]。これらの発見は、SIRT7が体全体のエネルギー代謝を制御する際には、少なくとも一部は、褐色脂肪組織の機能調節を介している可能性を示唆している。最近我々は、通常食を与えたSirt7 KOマウスにおいても体温が高く、褐色脂肪組織における熱産生関連遺伝子群の発現が高く、酸素消費量が増加している事を明らかにしており(未発表)、今後のSIRT7による熱・エネルギー代謝調節メカニズムの解明が期待される。

5. おわりに

我々のSIRT7による代謝調節の研究により、SIRT7が脂質代謝異常症治療の創薬ターゲットとして大きな可能性を持つことが判明した。SIRT7の阻害剤が開発されれば、脂肪肝と肥満を軽減し、余剰脂質の燃焼を褐色脂肪組織において増強させる効果が予想される(図4)。また、これら肥満と脂肪肝の軽減を介した糖尿病の改善も予想されることから、脂質代謝異常を伴うメタボリックシンドローム全般の画期的治療薬となりうると思われる。そのためにも、未だ十分な解明がされていないリジン脱アシル酵素としてのSIRT7のさらなる分子解剖が必須であり、我々はこの困難な課題を一つ一つ解明し、将来の代謝異常症の予防や治療に貢献できることを目指している。

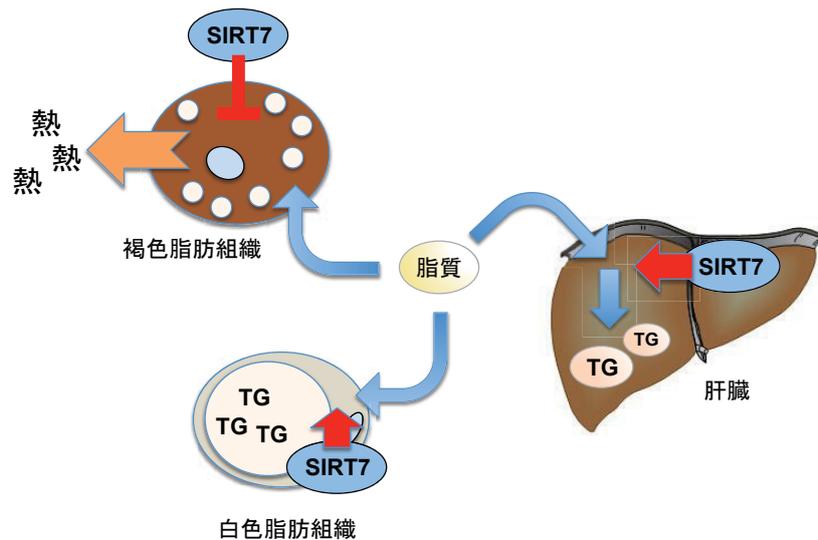


図4：SIRT7は肝臓、褐色脂肪組織、白色脂肪組織に働きかけ、脂質代謝を制御

参考文献

- [1] Guarente L. Sirtuins, aging, and medicine. *New England Journal of Medicine* 364:2235-2244, 2011.
- [2] Houtkooper RH, Pirinen E, and Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 13:225-238, 2012.
- [3] Du J, Zhou Y, Su X, et al. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science* 334:806-809, 2011.
- [4] Jiang H, Khan S, Wang Y, et al. SIRT6 regulates TNF- α secretion through hydrolysis of long-chain fatty acyl lysine. *Nature* 496:110-113, 2013.
- [5] Mathias RA, Greco TM, Oberstein A, et al. Sirtuin 4 is a lipamidase regulating pyruvate dehydrogenase complex activity. *Cell*. 159:1615-1625, 2014.
- [6] Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi Y, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature* 487:114-118, 2012.
- [7] Chen S, Seiler J, Santiago-Reichert M, et al. Repression of RNA polymerase I upon stress is caused by inhibition of RNA-dependent deacetylation of PAF53 by SIRT7. *Molecular Cell*. 52:303-313, 2013.
- [8] Vakhrusheva O, Smolka C, Gajawada P, et al. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice. *Circulation research*. 102:703-710, 2008.
- [9] Yoshizawa T, Karim MF, Sato Y, et al. SIRT7 controls hepatic lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell Metabolism* 19:712-721, 2014.
- [10] Purushotham A, Schug TT, Xu Q, et al. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metabolism* 9:327-338, 2009.
- [11] Hirschey MD, Shimazu T, Goetzman E, et al. SIRT3 regulates fatty acid oxidation via reversible enzyme deacetylation. *Nature* 464:121-125, 2010.
- [12] Kim HS, Xiao C, Wang RH, et al. Hepatic specific disruption of SIRT6 in mice results in fatty liver formation due to enhanced glycolysis and triglyceride synthesis. *Cell Metabolism* 12:224-236, 2010.
- [13] Kang HS, Okamoto K, Kim YS, et al. Nuclear orphan receptor TAK1/TR4-deficient mice are protected against obesity-linked inflammation, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Diabetes* 60:177-188, 2011.
- [14] Lee J, and Zhou P. DCAFs, the missing link of the CUL4-DDB1 ubiquitin ligase. *Molecular Cell* 26:775-780, 2007.
- [15] Higa LA, and Zhang H. Stealing the spotlight: CUL4-DDB1 ubiquitin ligase docks WD40-repeat proteins to destroy. *Cell Division* 2:1-9, 2007.
- [16] Ryu D, Jo YS, Lo Sasso G, et al. A SIRT7-dependent acetylation switch of GABP β 1 controls mitochondrial function. *Cell Metabolism* 20:856-869, 2014.

Diverse metabolic functions of SIRT7

Tatsuya Yoshizawa, Kazuya Yamagata

Department of Medical Biochemistry, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University

Abstract

Sirtuins (SIRT1-7 in mammals) are NAD-dependent lysine deacylases that regulate a wide variety of biological processes, such as metabolism, tumorigenesis, and aging. We recently demonstrated that *Sirt7* knockout mice are resistant to high-fat diet-induced fatty liver, obesity, and diabetes. Hepatic SIRT7 positively regulates the protein level of nuclear receptor TR4 involving in lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway, and its target genes related to fatty acid uptake, triglyceride synthesis/storage. Furthermore, we found that *Sirt7* knockout mice have high body temperature, and expressions of the genes involving in thermogenesis were significantly increased in brown adipose tissue of *Sirt7* KO mice. These results indicated that SIRT7 plays an important role in the regulation of glucose/lipid/energy metabolism.

Keywords : Sirtuins, obesity, fatty liver, diabetes, energy metabolism

【総説】

心不全や肥満、糖尿病における白色・褐色脂肪不全の意義

清水 逸平^{1,2}、吉田 陽子^{1,2}、南野 徹¹

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器内科学

²新潟大学大学院医歯学総合研究科 先進老化制御学講座

要約

肥満や糖尿病、心不全の病態が、内臓脂肪組織における細胞老化反応を介した脂肪炎症と全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）により増悪することがわかってきた。インスリンシグナルの抑制は寿命延長効果があるが、心不全に伴う高インスリン血症により心臓のインスリンシグナルが過剰となり、病的な心肥大が進行し心不全が増悪することもわかった。褐色脂肪組織は熱産生器官という側面に加え、活発な代謝臓器として注目されているが、肥満ストレス下では低酸素状態となり、褐色脂肪が「白色化」し機能不全となることで全身の代謝障害が生じることもわかった。白色脂肪や褐色脂肪の恒常性を制御することは、肥満や糖尿病、心不全といった老化関連疾患の病態を抑制する上で重要である。

キーワード：p53、cellular senescence、adipose aging、BAT whitening、systemic insulin resistance

はじめに

老化の制御メカニズムは未だに多くの謎に包まれているが、一定の制御機構を伴うことが今日明らかになってきた。老化はゲノムの不安定性、テロメア短縮、細胞老化、エピジェネティックな変化、タンパク質恒常性異常、栄養関連シグナルの変容、ミトコンドリア機能不全、幹細胞の枯渇、細胞間相互作用の異常を伴い、これらの制御メカニズムの変容により全身の恒常性制御機構が破綻し、老化形質が顕在化、促進すると考えられている。

老化研究においてこれまでもっとも研究されてきたのがインスリンシグナル経路である。インスリンシグナルの抑制は寿命を延長することが多くの種、実験モデルで示されている。そのため、インスリンシグナル経路は老化制御に関わる主要な分子基盤の一つと広く認識されている。インスリンシグナルの動態と深い関連があるカロリー摂取に関しても寿命と関連することが様々な生物や実験モデルで示されている。インスリンシグナル経路の下流に存在する mTOR はオートファジーを抑制するが、mTOR の阻害薬やオートファジーの活性化により寿命

が延長することが様々な分子種で示されていることから、オートファジーの制御が寿命の制御と関連することも最近明らかになってきた。肥満は寿命を短縮することはよく知られた事実であるが、肥満・メタボリック症候群が老化を促進する主な原因は、高インスリン血症を介したインスリンシグナルの過剰な活性化が主因であると考えられる。

肥満に伴うインスリン抵抗性（高インスリン血症）や糖尿病の発症に、白色内臓脂肪不全や褐色脂肪不全が関連することがわかってきた。白色内臓脂肪はエネルギー貯蔵庫としての機能に加え、アディポカインと総称される様々な生理活性物質を分泌する内分泌器官としての役割をもつが、肥満ストレスに伴い脂肪炎症が生じることで炎症性サイトカインの産生が亢進し、全身のインスリン抵抗性が生じる。また、褐色脂肪は長い間単なる熱産生器官として考えられてきたが、全身の代謝を制御する可能性を秘めた代謝臓器として注目され、世界中で精力的に研究が展開されている。肥満ストレスにより、褐色脂肪が低酸素状態となり機能不全に陥ることで全身の代謝不全が生じることは最近肥満モデルマウスで示された。白色脂肪不全は心不全時にも生じることはマウス心不全モデルで示され、脂肪炎症を抑制すると全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）が改善し、左室圧負荷時の心機能と生命予後が改善することも示された。以上の結果は、白色内臓脂肪や褐色脂肪の恒常性制御により肥満や糖尿病、心不全の病態を制御できる可能性を示

連絡先：清水逸平 〒951-8510

新潟県新潟市中央区旭町通 1-757

TEL：025-227-2185

FAX：025-227-0774

E-mail：ippeishimizu@yahoo.co.jp

唆している。本総説において心不全や肥満、糖尿病で脂肪不全が生じるメカニズムとその病的意義に関して考えてみたいと思う。

個体老化と栄養関連シグナル

老化のプロセスは未だにその多くが謎である。老化はテロメアの短縮、ミトコンドリア不全、ゲノムの不安定性、細胞老化、幹細胞の減少等、個体の恒常性維持に不可欠な分子基盤の負の変容を伴うことが知られている(1)。以前は老化の過程は無秩序に生じるものと考えられていたが、今日一定の制御機構を伴った生命現象であることがわかってきた。老化と関連するシグナルとして最も注目され、解析されてきたのはインスリンシグナル経路である。インスリンシグナルは、細胞の分化や増殖、糖代謝、タンパク質合成等に関わり、細胞の恒常性維持に不可欠なシグナルである。その一方で、インスリンシグナルを抑制すると寿命延長効果を認めることより、インスリンシグナル経路は老化制御に関わる主要な分子基盤の一つと広く認識されている(2,3)。カロリー制限はインスリンシグナル経路と深く関連するが、30%のカロリー制限を行うと寿命が延長することがサルにおいても報告されている(4)。カロリー制限により、呼吸商の低下(炭水化物消費の抑制と脂肪酸消費の増大)、白色脂肪重量の低下、体温低下が生じ、これらの変化により、炎症反応が抑制され、幹細胞機能が上昇し、DNA修復応答が活性化し、多くの種で寿命が延長することが報告されている(5)。インスリンシグナル経路の下流に存在するmTORは寿命を制御する分子として最近注目されている。mTORはアミノ酸レベルの上昇に伴い活性化するが、様々なモデルにおいてmTORの阻害により寿命が延長することが報告されており、オートファジー経路の活性化を介していることから注目されている(6)。

細胞老化と p53

老化は細胞レベルでも生じることが知られている(細胞老化)。細胞は分裂するごとに染色体末端に存在するテロメア構造が徐々に短縮してゆく。テロメアが生理的範囲を超えて短くなるとDNA損傷として認識され、DNA損傷応答-p53シグナル経路を介した細胞老化を生じる(Replicative senescence)。放射線などによるDNA損傷や酸化ストレス、癌遺伝子の発現などによる過剰な増殖刺激によってもp53シグナルを介して細胞老化が生じる(Premature senescence)。細胞老化に陥った細胞は不可逆性の分裂停止状態となり、senescence-associated secretory phenotype (SASP) に代表されるように炎症性サイトカインの産生が増加するなど、遺伝子発現プロファイルが変化する(7,8)。細胞老化反応は癌化を抑制する分子機構と考えられるが、肥満や糖尿病、心不全といった老化疾患の病態に深く関わるのが最近わかってきた(9-14)。

肥満や糖尿病における白色脂肪老化の意義

白色内臓脂肪はエネルギー貯蔵庫としての側面に加えアディポカインと総称される様々な機能性分子を分泌する内分泌器官である(15,16)。肥満ストレスが加わると、内臓脂肪組織の活性酸素レベルが上昇し、炎症性マクロファージを主体とする細胞浸潤が生じ、善玉アディポカインの産生低下に加え悪玉アディポカインの産生が上昇することで骨格筋や肝臓といった主要臓器にインスリン抵抗性が生じることが、肥満に伴う全身のインスリン抵抗性(高インスリン血症)や糖尿病の発症に重要である(17-19)。

全身の糖代謝障害が生じる遺伝的肥満モデルマウス(Ayマウス)の脂肪組織を老化染色(SA- β -gal染色)で染めたところ、老化染色陽性細胞の増加を認めた。これらの変化は、脂肪組織のp53レベルの上昇と、tumor necrosis factor (TNF)- α やchemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2 = MCP-1)といった悪玉アディポカインの産生を伴っていた。糖尿病に罹患したヒト脂肪組織においても老化染色陽性細胞が増加し、p53レベルの上昇と、炎症性サイトカインの上昇を認めることもわかった(12)。野生型マウスに高脂肪高シヨ糖食負荷を行うと内臓脂肪組織のp53レベルが上昇し、脂肪炎症と全身のインスリン抵抗性が生じることがわかった。脂肪特異的にp53を遺伝的に欠失させると肥満に伴う脂肪炎症が抑制され、全身のインスリン抵抗性が改善した。脂肪細胞でp53を過剰発現すると通常食管理下でも全身の代謝障害が生じることから、p53が肥満モデルマウスの脂肪細胞老化と炎症を惹起し全身の糖代謝異常を引き起こす鍵分子であると考えられる。更に最近我々は、p53が分泌型タンパク質であるセマフォリン3Eの発現を転写レベルで正に制御し、セマフォリン3Eが炎症性マクロファージの化学遊走因子として作用することで脂肪炎症が生じることを明らかにした。セマフォリンおよびその受容体であるプレキシンは胎生期において神経・血管ネットワークの構築に不可欠な分子であり、樹状細胞の制御にも関与することが報告されていたが、肥満や糖尿病における意義は明らかでなかった。野生型マウスに高脂肪高シヨ糖食を負荷して肥満モデルを作成すると、内臓脂肪組織においてp53の上昇と共にセマフォリン3Eとその受容体であるプレキシンド1の発現が著明に亢進した。脂肪組織においてセマフォリン3E-プレキシンド1経路を抑制すると脂肪炎症や全身のインスリン抵抗性は改善し、セマフォリン3Eを過剰発現すると脂肪炎症とインスリン抵抗性が惹起された。詳細な検証を行った結果、セマフォリン3Eはプレキシンド1を発現する炎症性マクロファージに対して化学遊走因子として作用することがわかった。脂肪組織のp53発現を抑制すること、およびセマフォリン3Eを全身で欠失させると、セマフォリン3Eの発現低下とともに脂肪炎症や全身のインスリン抵抗性が改善した。このように脂肪組織におけるp53シグナルを介した細胞老化は肥満や糖尿病、脂肪炎症、インスリン抵抗性(高インスリン血症)の病態に中心的な役割を果たすと考えられ、p53-セマフォ

リン 3E- プレキシン D1 シグナル経路の抑制は、糖尿病治療にとって重要な概念であると考えられる (9, 11)。

肥満ストレスに伴う褐色脂肪組織の「白色化」の病的意義

褐色脂肪組織は当初熱産生器官として考えられていたが、活発な代謝臓器であることが最近明らかとなり、全身の代謝を制御しうる可能性を秘めた臓器として注目されている。褐色脂肪はヒトの場合主に乳幼児に存在し、成人では消失すると考えられていたが、2009年のNEJM誌で成人にも存在することが報告され、老化や肥満に伴い褐色脂肪機能が低下することも報告された(20)。褐色脂肪組織は体重あたりの重量は低いものの、循環血液中の脂質や糖を取り込み処理する能力は莫大であることがマウスで示されている(21, 22)。健康ボランティアによる研究においても、毎日2時間17℃の環境下で6週間寒冷刺激を与えることで褐色脂肪の活性が上昇し、観察期間内では体重に差は見られないものの脂肪重量が低下することも示されている(23)。これらの結果はマウスのみならずヒトにおいても褐色脂肪が全身の代謝を制御しうる可能性を示す大変重要且つ興味深い報告である。ヒトで肥満により褐色脂肪機能が低下する機序は長い間不明であったが、肥満ストレスに伴い褐色脂肪組織が低酸素状態になることで機能不全に陥ることが肥満モデルマウスにおいて最近明らかになった。野生型マウス(C57BL/6)に高脂肪高シヨ糖食を負荷したところ、褐色脂肪細胞内の脂肪滴が増大し、同時にミトコンドリア数の減少を認めた。病理学的に白色脂肪の様相を呈することから、我々はこれを褐色脂肪組織の「白色化(whitening)」と命名した。肥満ストレス時には寒冷刺激における熱産生能が低下することから、白色化した褐色脂肪は機能不全に陥っている可能性が示唆された。

血管ネットワークの形成は臓器形態形成と恒常性の維持に不可欠であるが、肥満ストレス下では主要な血管新生因子として知られる血管内皮細胞成長因子(VEGF-A)の発現レベルが低下し、同時に血管密度の低下が生じ、褐色脂肪組織が低酸素状態に陥っていることがわかった。脂肪組織で遺伝的にVegfaを欠失(Adipo-Vegfa KOマウス)すると、褐色脂肪組織は著明に白色化し、通常食負荷下で全身の糖代謝障害が生じ、寒冷刺激下での熱産生能の低下を認めた。肥満ストレスに伴い白色化した褐色脂肪組織にVegfaを導入すると褐色脂肪組織の「再褐色化」が生じ、熱産生能の改善に加え、全身のインスリン抵抗性の改善を認めることから、この変化は可逆的なものであると考えられる(Fig. 1)(24)。

褐色脂肪における低酸素シグナルの意義

褐色脂肪組織の機能は交感神経シグナルにより活性化されるが、交感神経シグナルの下流でVegfaの発現が正に制御されている。肥満ストレスに伴い褐色脂肪細胞内の脂肪酸が蓄積し、交感神経シグナルが抑制され、Vegfaの発現レベルが低下することがわかった。また、低酸素シグナルにより何らかの分子機序により褐色脂肪細胞内の $\beta 1$ と $\beta 3$ アドレナリン受容体の発現が低下し、これによりVegfaの発現が更に低下するという負の循環が存在することがわかった。Adipo-Vegfa KOマウスでは白色内臓脂肪組織はそれほど低酸素状態に陥らない一方で、褐色脂肪組織は著明な低酸素状態となるのは特筆すべき点である。白色脂肪細胞と比較して褐色脂肪細胞は代謝的に非常に活発である点がこれほど顕著な表現型の違いとして現れると考えられる。全身のインスリン抵抗性は白色内臓脂肪における慢性炎症が重要であるが、Adipo-Vegfa KOマウスでは通常食管理下で内臓脂肪において炎症が生じないにも関わらず、全身のイン

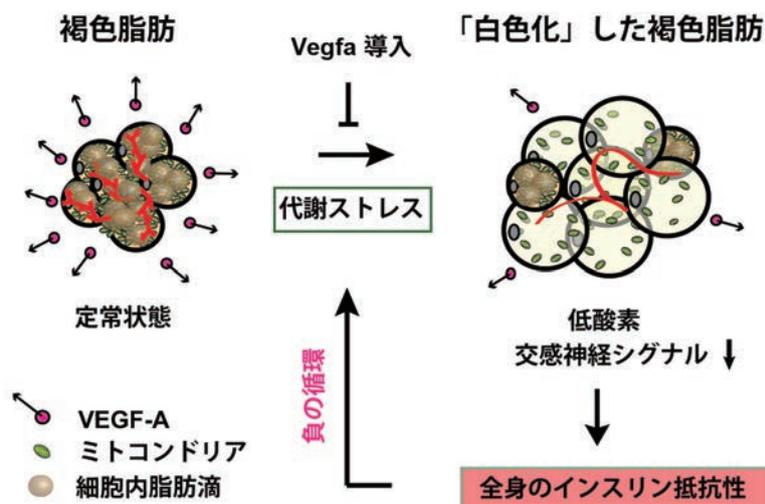


Fig. 1 代謝ストレスに伴う褐色脂肪の白色化の分子機序

代謝ストレス下では、褐色脂肪組織内の VEGF-A の産生が低下し低酸素状態となり、褐色脂肪全を介して全身のインスリン抵抗性が生じ、負の循環を形成する。Vegfa の導入により褐色脂肪の「再褐色化」が生じ、全身の代謝不全が改善する。

スリン抵抗性が惹起されることから、褐色脂肪不全が全身の代謝制御に重要であることが示唆された。

肥満時には褐色脂肪細胞内における脂肪酸の蓄積・交感神経シグナルの低下・*Vegfa* 発現の抑制という経路により、褐色脂肪組織が低酸素状態に陥ることがわかったが、低酸素状態に陥った褐色脂肪細胞内のミトコンドリアでは活性酸素のレベルが上昇し、オートファジー（マイトファジー）反応が誘導されていた。オートファジーが生体の恒常性維持に不可欠なメカニズムであることは疑いの余地はないが、ストレス下のオートファジーの意義は依然として議論の余地がある。肥満ストレス・低酸素刺激を介して誘導される褐色脂肪組織内のオートファジー反応は、不全状態に陥ったミトコンドリアを細胞内からクリアランスする生体防御的機構と考えられるが、持続的なオートファジー反応によりミトコンドリアが減少し続けると、褐色脂肪細胞内代謝の過度の抑制を介して褐色脂肪細胞が機能不全に陥り、組織の「白色化」と全身の代謝異常が生じるものと考えられる (24)。

心不全における白色脂肪老化の意義

慢性心不全患者では全身のインスリン抵抗性が生じることは以前より報告されていたが、その詳細な分子機序と病的意義に関してはわかっていなかった。最近我々は、内臓脂肪において慢性炎症が生じることで全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）が生じ、心不全の病態が増悪することを明らかにした。野生型マウス (C57BL/6N^{Cr}) に横行大動脈縮窄術を用いて左室圧負荷心不全モデルを作成したところ、慢性期（術後6週間）には全身のインスリン抵抗性が惹起された。内臓脂肪組織ではマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤を認め、炎症性サイトカインの産生が高値となり、心不全により内臓脂肪で慢性炎症が生じることがわかった。心不全時の内臓脂肪組織では p53 レベルが上昇し、脂肪細胞で p53 を欠失させると脂肪炎症と全身のインスリン抵抗性が改善することから、p53 を介した細胞老化により慢性炎症が惹起されると考えられる。また詳細な機序を検討した結果、左室圧負荷時には交感神経シグナルの亢進・過剰な脂肪融解・活性酸素の産生・DNA 損傷・p53-NF- κ B 経路の活性化というシグナル経路により内臓脂肪炎症が生じることがわかった。p53 経路や、NF- κ B 経路を抑制することで内臓脂肪炎症を抑制すると全身のインスリン抵抗性が改善し、心機能が改善することから、心不全時に惹起される全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）により心不全が増悪すると考えられる (10, 25)。

心不全における心臓の過剰なインスリンシグナルの意義

次なる問いは全身のインスリン抵抗性が生じると、何故心不全が進行するのかという点である。インスリンシグナルの抑制は寿命延長効果があることが複数の実験モデルで示されているが、圧負荷時に生じる心筋組織における過剰なインスリンシグナルは病的肥大と心臓リモデリングを促進し、心不全の病態を増悪することがわかっている。心筋組織特異的にインスリン受容体を完全

に欠失すると (Homozygous CIRKO マウス)、心臓のサイズは小さくなり、心収縮能が低下すること、インスリンシグナルの下流に存在する Akt を短期間活性化すると虚血再灌流モデルでアポトーシスを抑制し心保護作用があることから、長い間インスリンシグナルは心臓の形成、および恒常性維持に重要と考えられてきた (26)。その一方で、ショウジョウバエでインスリンシグナルを適度に抑制すると年齢依存的に生じる心不全が抑制されることや、マウスで Akt を恒常的に活性化すると病的肥大を伴う心機能低下が生じることもわかっている (27, 28)。心臓に持続的な圧負荷がかかると心筋細胞肥大が生じるが、心不全代償期では心筋組織内で血管新生が生じることで心不全への移行が抑制される。心不全非代償期には心筋組織内で p53 が蓄積し血管新生を抑制することで心筋細胞・血管数ミスマッチが生じ、心筋組織が低酸素状態になることで心不全が発症、進行することがわかっている (29)。圧負荷時に心筋細胞肥大を引き起こす分子機序は複数報告されているが、先日我々は圧負荷時に心筋組織内のインスリンシグナルが過剰に活性化することで心筋細胞肥大が生じ、心不全が発症・増悪することを明らかにした。上述のごとく、心不全時には全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）が生じるが、脂肪や肝臓においてインスリンシグナルが入りにくくなる一方で、心臓ではインスリンシグナルが入り続けることもわかった (10, 25)。心臓に伸展刺激が加わると何らかの機序によりインスリン非依存的に心臓のインスリンシグナルが亢進することに加え、慢性期には全身のインスリン抵抗性が生じ、高インスリン血症を介して心臓のインスリンシグナルが亢進することがわかった。インスリン受容体のヘテロ接合体ノックアウトマウス (Heterozygous CIRKO マウス) や、下流に存在する Akt を遺伝的に抑制したマウス (Heterozygous Akt KO mouse) に圧負荷モデルを作成すると、心筋細胞肥大が軽減し、心筋組織内の低酸素が改善し心機能低下が抑制された。これらの報告により、インスリンシグナルは生理的心肥大に不可欠なシグナルである一方、過剰なシグナルは病的肥大を促進することが明らかとなった (25)。心不全時に生じる脂肪炎症が全身のインスリン抵抗性を惹起する病的意義は、高インスリン血症を介して心臓のインスリンシグナルが上昇し、病的肥大を形成する点にあると考えられる。心不全時に生じる全身の糖代謝障害や、糖尿病に合併した心不全治療における血糖コントロールは、インスリン抵抗性改善薬を用いる等、できるだけ血中のインスリン濃度を上昇させないで行うことが心保護という観点から望ましいと考えられる。

まとめ

心不全や肥満、糖尿病といった老化疾患の病態に、細胞レベルでの老化が重要であることがわかってきた。細胞老化の中心的な制御分子である p53 を介した内臓脂肪炎症により全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）が生じ、これらの病態が増悪するという共通分子基盤が存在することも明らかとなった (Fig. 2)。褐色脂肪

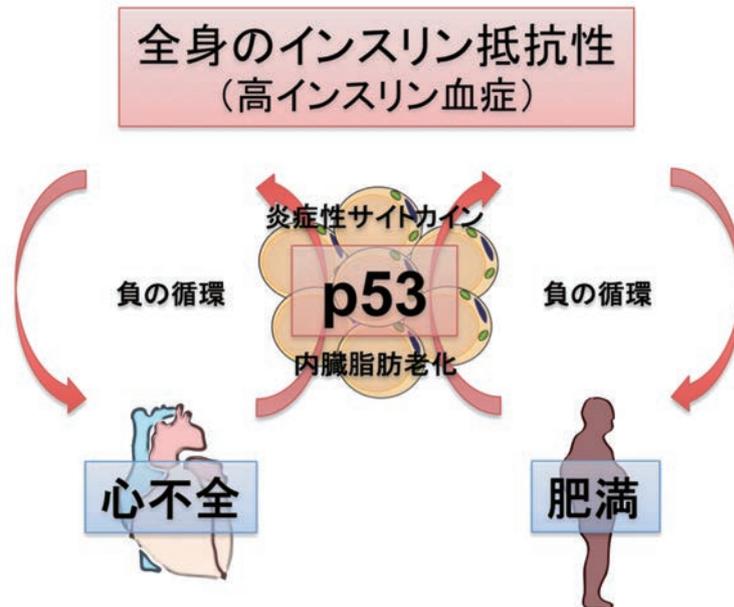


Fig. 2 心不全や肥満における全身のインスリン抵抗性発症機序
心不全や肥満に伴い、p53 シグナル経路を介して内臓脂肪老化が生じ、炎症性サイトカイン産生により全身のインスリン抵抗性（高インスリン血症）が生じる。全身の代謝異常を介して心不全や肥満の病態が増悪するという負の循環を形成する。

組織の「白色化」と機能不全により肥満における全身の代謝不全が増悪することもわかった。褐色脂肪組織における老化シグナルの意義や、心不全の病態における褐色脂肪の役割は未だわかっておらず、解析の結果が待たれる。白色脂肪や褐色脂肪の恒常性制御を図ることで、老化疾患に対する次世代の治療法を創出できる可能性が高い。

参考文献

1. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, and Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153 (6) :1194-217.
2. Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, Oldham S, Stocker H, Hafen E, Leivers SJ, and Partridge L. Extension of life-span by loss of CHICO, a Drosophila insulin receptor substrate protein. *Science*. 2001;292 (5514) :104-6.
3. Blüher M, Kahn BB, and Kahn CR. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science*. 2003;299 (5606) :572-4.
4. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, Allison DB, Cruzen C, Simmons HA, Kemnitz JW, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009;325 (5937) :201-4.
5. Finkel T. The metabolic regulation of aging. *Nat Med*. 2015;21 (12) :1416-23.
6. Rubinsztein DC, Marino G, and Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011;146 (5) :682-95.
7. Tchkonina T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, and Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest*. 2013;123 (3) :966-72.
8. Rodier F, Coppe JP, Patil CK, Hoeijmakers WA, Munoz DP, Raza SR, Freund A, Campeau E, Davalos AR, and Campisi J. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol*. 2009;11 (8) :973-9.
9. Shimizu I, Yoshida Y, Suda M, and Minamino T. DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metab*. 2014;20 (6) :967-77.
10. Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Ito T, Zechner R, et al. p53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab*. 2012;15 (1) :51-64.
11. Shimizu I, Yoshida Y, Moriya J, Nojima A, Uemura A, Kobayashi Y, and Minamino T. Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell Metab*. 2013;18 (4) :491-504.
12. Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance.

- Nat Med.* 2009;15 (9) :1082-7.
13. van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature.* 2014;509 (7501) :439-46.
 14. Childs BG, Durik M, Baker DJ, and van Deursen JM. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med.* 2015;21 (12) :1424-35.
 15. Hotamisligil GS, Shargill NS, and Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259 (5091) :87-91.
 16. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, and Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature reviews Immunology.* 2011;11 (2) :85-97.
 17. Johnson AM, and Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell.* 2013;152 (4) :673-84.
 18. Osborn O, and Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med.* 2012;18 (3) :363-74.
 19. Samuel VT, and Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell.* 2012;148 (5) :852-71.
 20. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med.* 2009;360 (15) :1509-17.
 21. Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, Hohenberg H, Ittrich H, Peldschus K, Kaul MG, Tromsdorf UI, Weller H, Waurisch C, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med.* 2010;17 (2) :200-5.
 22. Nedergaard J, and Cannon B. The changed metabolic world with human brown adipose tissue: therapeutic visions. *Cell Metab.* 2010;11 (4) :268-72.
 23. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Kayahara T, Kameya T, Kawai Y, Iwanaga T, and Saito M. Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans. *J Clin Invest.* 2013;123 (8) :3404-8.
 24. Shimizu I, Aprahamian T, Kikuchi R, Shimizu A, Papanicolaou KN, MacLauchlan S, Maruyama S, and Walsh K. Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. *J Clin Invest.* 2014;124 (5) :2099-112.
 25. Shimizu I, Minamino T, Toko H, Okada S, Ikeda H, Yasuda N, Tateno K, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, et al. Excessive cardiac insulin signaling exacerbates systolic dysfunction induced by pressure overload in rodents. *J Clin Invest.* 2010;120 (5) :1506-14.
 26. Belke DD, Betuing S, Tuttle MJ, Graveleau C, Young ME, Pham M, Zhang D, Cooksey RC, McClain DA, Litwin SE, et al. Insulin signaling coordinately regulates cardiac size, metabolism, and contractile protein isoform expression. *J Clin Invest.* 2002;109 (5) :629-39.
 27. Wessells RJ, Fitzgerald E, Cypser JR, Tatar M, and Bodmer R. Insulin regulation of heart function in aging fruit flies. *Nature genetics.* 2004;36 (12) :1275-81.
 28. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y, Schiekofer S, Ito M, Liao R, Colucci WS, and Walsh K. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *The Journal of clinical investigation.* 2005;115 (8) :2108-18.
 29. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama Y, Harada M, et al. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature.* 2007;446 (7134) :444-8.

The role of adipose dysfunction in age related disorders.

Ippei Shimizu, Yoko Yoshida, Tohru Minamino

Department of Cardiovascular Biology and Medicine

Division of Molecular Aging and Cell Biology

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Japan

Abstract

Accumulating evidence indicates the roles of cellular senescence in the progression of pathologies in obesity/diabetes and heart failure. In obesity and heart failure murine models, p53 level increased in the visceral fat and was causal for the development of adipose inflammation and systemic insulin resistance (hyperinsulinemia), and this promoted pathologies in both models. Brown adipose tissue (BAT) was initially characterized as a thermogenic organ and now well described as a metabolically active organ that has a potential to regulate systemic metabolism. Recently, metabolic stress was shown to induce the whitening of BAT and contribute for the development of systemic metabolic disorder in a murine obese model. Maintenance of adipose homeostasis is crucial for metabolic health and the suppression of pathologies in obesity/diabetes and heart failure.

Keywords: p53, cellular senescence, adipose aging, BAT whitening, systemic insulin resistance

【総説】

老化における栄養・代謝の変化と内分泌系のクロストーク 成長ホルモン・IGF-I の重要な役割

高橋 裕

神戸大学大学院医学研究科 糖尿病内分泌内科学

要約

成長ホルモン (GH) と IGF-I は個体の成長だけではなく代謝、栄養調節において重要な役割を果たしている。加齢に伴う GH、IGF-I 分泌低下は Somatopause と言われ老化現象の一部に寄与している。一方、GH、IGF-I 作用が低下するとマウス以下の動物では寿命が延長することから、老化、寿命調節にも重要な役割を果たしている。また低栄養になると GH 分泌が亢進する一方、IGF-I 濃度は低下し、GH 抵抗性と呼ばれる状態が引き起こされるが、これは飢餓状態における成長から生存を目指した適応反応の一部でありその機序も明らかになってきた。50-65 歳における高蛋白食は IGF-I 上昇と関連して糖尿病、悪性腫瘍のリスクを高め死亡率が上昇する一方、65 歳以上ではむしろ低蛋白食が悪性腫瘍リスクと死亡率の増大を認め、年齢によって栄養、IGF-I の寿命影響が異なることが報告された。本稿では GH/IGF-I と栄養、老化、寿命調節の関連について述べる。

はじめに

内分泌系はヒトの一生において生、老、病、死と深く関わっている。内分泌系のメッセンジャーであるホルモンは、排卵、受精、妊娠、出産を支え、生後の栄養調節、成長を促進し、思春期の変化、成体の代謝の維持、子作り、子育て、そして老化に伴う身体的変化に中心的に関わっている。また内分泌系は遺伝的、内因性に規定されたシステムであると同時に、環境の変化や様々なストレスなどに適応するための可塑性を持ったシステムである。特に栄養・代謝状態の変化を感知しホルモン分泌動態を制御して生体の恒常性維持に関わるだけではなく、ホルモン自体が栄養・代謝を調節するという双方向性の相互作用を発揮する。本稿では老化、寿命調節、栄養・代謝に関わるホルモンの中で最も重要なもののひとつである成長ホルモン (GH) -IGF-I 系を中心に、現状における理解と最新の研究成果について述べる。

GH、IGF-I の調節機構と生理的役割

GH は下垂体前葉で合成、分泌され全身の臓器を標的

にして作用を発揮する。GH 分泌は主に分泌刺激因子である成長ホルモン放出ホルモン (growth hormone releasing hormone : GHRH) と、分泌抑制因子であるソマトスタチンの 2 つの視床下部ホルモンによって調節されている。さらに飢餓時の GH 分泌には食欲を促進するグレリンが関与している。GH の分泌は拍動性であり最初の徐波睡眠時に最大で、24 時間に 7-11 回のピークを示す。生理的には徐波睡眠、運動、蛋白摂取が分泌を刺激する。

思春期前後に GH 分泌は最大になり、以降は脈動性分泌の振幅が減少し 10 年ごとに 14% ずつ分泌量が低下、60 歳台には 20 歳台の 30% 程度に減少する。GH は標的臓器の IGF-I 産生を促進するが、GH 分泌低下とともに血清 IGF-I 値も低下し、30 歳台から 70 歳台にかけて女性では 50% に男性では 30% に低下する¹⁾。この加齢に伴う GH 分泌の低下は閉経の Menopause にならって Somatopause と言われている。これらは副腎からの DHEA 分泌低下をきたす Adrenopause と並んで、加齢と関連した重要な内分泌学的変化であり、老化に伴う身体機能低下の少なくとも一部に関連している²⁾。

GH は全身の臓器に作用するが、小児における GH の主な作用は成長促進作用である。GH は長管骨の成長板における軟骨細胞分化促進とともに局所の IGF-I 産生を刺激し、IGF-I が軟骨細胞増殖と肥大を促進する。GH の多くの作用は IGF-I 依存性であるが、GH の直接作用として成長板の軟骨幹細胞の活性化、インスリン抵抗性

連絡先：高橋裕 〒650-0017

神戸市中央区楠町 7-5-2

TEL : 078-382-5861

FAX : 078-382-2080

E-mail : takahash@med.kobe-u.ac.jp

惹起、脂肪分解、卵巣における卵胞発育、筋芽細胞の融合とサイズ増大促進作用などがある。一般に、成長やアナボリックな作用についてはGH、IGF-Iは協動的に働き、代謝作用についてはGH、IGF-Iは拮抗的に作用することが多い。GHの代謝作用としては脂肪分解、インスリン抵抗性惹起、塩分貯留促進などがある。またIGF-Iは増殖因子のひとつであり、腫瘍細胞を含む多くの細胞に対して増殖刺激作用を示す。IGF-IはIGF-IIとともにインスリンと類似した構造を持っているが、同様にIGF-I受容体はインスリン受容体と相同性が高く、細胞内シグナル伝達機構も類似している。インスリンは代謝を調節するのに対してIGF-Iは主に成長を調節する。

栄養状態に対する内分泌学的適応とGH/IGF-I系

生物にとって飢餓状態、低栄養に対する適応は生存するための必須の要件であり、内分泌系は重要な役割を果たしている。その適応における内分泌系の重要な因子の一つがレプチンである。低栄養により貯蔵された脂肪が減少すると、脂肪由来ホルモンのレプチンの血中濃度が低下する。レプチン濃度増加が過剰な脂肪量を視床下部に伝えることにより食欲を抑制し、体重維持のために重要な役割を果たしている一方で、レプチン濃度低下は体内脂肪量の減少シグナルとして伝えられ、下垂体からのTSH分泌を抑制し代謝を低下、LH、FSH分泌を低下し生殖を抑制する。これらの変化によって、代謝、生殖に必要なエネルギーを生存に振り分ける。

同時に低栄養に伴う低血糖はACTH、コルチゾール分泌を刺激し血中にエネルギーを動員する。また抗インスリンホルモンのひとつとしてGH分泌も刺激され、コルチゾールとともにインスリン抵抗性を惹起することによって低血糖を改善する。またGHには強い脂肪分解作用があり、遊離脂肪酸を動員しエネルギーとして供給すると同時に、遊離脂肪酸はさらにインスリン抵抗性を助長し低血糖を改善させる。これらのGHやコルチゾール

によって引き起こされるインスリン抵抗性は肥満や2型糖尿病で見られるものと異なり、生理的適応機構において重要な働きをしている。それらの変化に加えて、低栄養時にはIGF-Iを抑制することにより成長に必要なエネルギーを生存に振り分ける必要がある。IGF-Iの産生調節因子として最も重要なものはGHであるが、その刺激作用を発揮するためには栄養状態が十分であるという条件が必要である。実際、低栄養状態においてGH分泌は亢進するが、IGF-I濃度が低下するという解離が起こりGH抵抗性が生じている。ヒトでは4-5日の絶食でGHは上昇するにもかかわらずIGF-Iは低下し、GH抵抗性が引き起こされる。この栄養状態でIGF-I産生を規定しているのは総エネルギー量と蛋白量であり、蛋白質の中では必須アミノ酸がより重要である。これらのことから血中IGF-I濃度はGH分泌だけではなく、栄養状態の指標としても有用である。このような仕組みは成長のためには増殖因子だけではなく十分な栄養が必要であるということを示している。

血中IGF-Iの約80%は肝臓で作られるため、低栄養時には肝臓におけるGH抵抗性が主な原因でありその機序としていくつかのものが明らかになっている³⁾。一つの機序として、飢餓状態における低血糖はインスリン分泌抑制を引き起こすが、特に門脈血中のインスリン濃度の低下は肝臓におけるGH受容体発現を低下させ、GH抵抗性を生じると考えられている。2番目の機序として、FGF21は代謝調節に関わるFGFファミリーの一員であるが、低栄養時には肝臓で誘導され、転写因子PGC1 α の活性化により脂肪酸 β 酸化、糖新生を引き起こすことによってエネルギーを動員する。低栄養時に増加したFGF21は肝臓におけるGH依存性のSTAT5リン酸化を抑制することからGH抵抗性を引き起こすと考えられている⁴⁾。

最近私たちは、低栄養時のGH抵抗性の新たな機序を発見し報告した。サーチユインファミリーの一員の

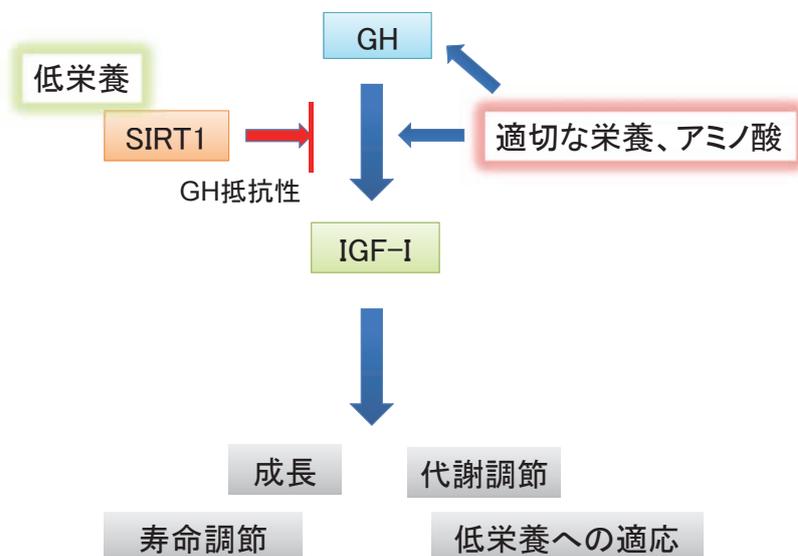


図 GH/IGF-I系と老化、栄養のクロストーク

SIRT1はClass IIIのヒストン脱アセチル化酵素であるが、低栄養に伴う細胞内NAD濃度上昇を感知して活性化されることから栄養状態のセンサーとして働き、ヒストンだけではなく転写因子など多くの機能性蛋白を脱アセチル化することにより、低栄養に対する適応的反応を担っている。私たちは肝細胞において活性化されたSIRT1がSTAT5のリジン残基を脱アセチル化することにより、STAT5の立体構造変化を来しGHによって刺激されるGH受容体へのSTAT5の結合を抑制することを見出した。その結果、GH依存性のSTAT5リン酸化が抑制されGH抵抗性を生じる⁵⁾。このようにGH/IGF-I系は、栄養状態が良好なときには協調的に分泌刺激され成長を促進するが、栄養状態が不良になると両者は解離し、GH分泌が刺激される一方、GH抵抗性によってIGF-I分泌は抑制され、適切な生体の適応的反応を引き起こす(図)。

老化、寿命調節におけるカロリー制限とGH/IGF-I系

寿命延長には30%前後のカロリー制限が有効であることは広く知られている。一方、線虫からマウスまでGH/IGF-I系シグナルが低下すると長寿になることから、GH/IGF-I系は成長だけではなく、老化、寿命調節に深く関わっている。動物モデルでこれまで報告されているのは*prop1*自然変異のAmes dwarfマウス、*pit1*自然変異のSnell dwarfマウス、*GHRH*受容体自然変異の*lit/lit*マウス、*GH*受容体欠損マウス、*IGF-I*受容体ヘテロ欠損マウスであり⁶⁾、それぞれ24-70%の寿命延長効果を認める。

これらのマウスで共通しているのはIGF-I作用の低下である。興味深いことにAmes dwarfマウスは性および食事内容の、*lit/lit*マウスは食事(低脂肪食においてより寿命延長効果)の影響を受ける。このことはGH-IGF系の寿命延長機序が栄養に一部依存していることを示唆している。その一方で、Ames dwarfマウスでカロリー制限を行うとさらに寿命が延びる⁷⁾。コントロールマウスに比較してAmes dwarfマウスでは生存曲線が右にシフトしており、カロリー制限は生存曲線の勾配をゆるやかにしていることから、*prop1*変異には老化を遅らせる作用が、カロリー制限は老化による死亡率を低下させる作用があり、2つの系の独立した機序の存在が示唆されている。また*GH*受容体欠損マウスでは、カロリー制限を加えるとメスにおいてのみ最大寿命のわずかではあるが有意な延長を認めた。現在のところ*prop1*変異体マウスと*GH*受容体欠損マウスの差の理由については不明だが、両者ではPRL、TSHおよび甲状腺ホルモン濃度、深部体温、特にメスにおける生殖能、体組成、酸化酵素などに違いがあり、いずれかが影響している可能性がある⁸⁾。これらのことからGH/IGF-I系と栄養状態、カロリー制限の間には相互作用と独立した作用機序の両方が存在すると考えられている。

GH/IGF-I系による寿命調節機序

上記のモデルマウスで共通しているのは、IGF-I作用の低下である。IGF-I受容体ヘテロ欠損マウスの解析結

果はいくつかの機序の存在を示唆している⁹⁾。IGF-I受容体ヘテロ欠損マウスは出生直後に死亡する。IGF-I受容体ヘテロ欠損マウスにおいてはメスで平均寿命が33%、最大寿命が19%延長した。オスでは平均寿命が16%延長したが有意ではなく最大寿命は変化しなかった。エネルギー代謝は正常で、体温、代謝率、摂食量、身体機能、生殖能も正常だった。IGF-I受容体ヘテロ欠損マウスでは雌雄とも血中IGF-I濃度は上昇しており、インスリン基礎値には差がなく、グルコース基礎値はオスでは高くメスでは低い傾向を示し、グルコース負荷試験においてオスでは高血糖をメスでは軽度の低血糖を示した。興味深いことにメスではパラコート投与による酸化ストレス負荷に対する耐性を示した。さらにIGF-I受容体ヘテロ欠損マウス由来の胎児線維芽細胞はH₂O₂投与の酸化ストレス負荷に対する耐性を示した。Ames dwarfマウスにおいても肝、腎におけるカタラーゼ活性の上昇が報告されており、この酸化ストレス耐性増強と寿命延長との関連が示唆されている。

線虫においてはIGF-I受容体、そのシグナル伝達分子であるPI3Kのホモログである*daf-2*、*age-1*の変異体が長寿になり、ストレス耐性を調節する転写因子FoxOのホモログである*daf-16*の変異によってその効果が消失する。ショウジョウバエでも同様の結果であることから、IGF-Iシグナル低下による寿命延長効果には種を越えてFoxOが必要である。ヒトではFoxO3aの関与が示唆されており、マウス以上の高等生物においてもIGF-I、インスリンの下流で寿命調節においてFoxOは重要な役割を果たしているが、S6K、mTORシグナル低下によっても寿命延長を認めることから、複数の機序やシグナルが関与していると考えられている。

蛋白摂取量とIGF-Iの疾患感受性と寿命への影響

最近、栄養状態とIGF-Iに関連したヒトにおける興味深い結果が報告された¹⁰⁾。米国NHANES IIIスタディ(The Third National Health and Nutrition Examination Survey)の中で50歳以上の6381人が栄養に関するサーベイと血中IGF-I、疾患、生命予後に関して前向きに解析された。50-65歳においては、高蛋白摂取群(全カロリーの20%以上)は低蛋白摂取群(10%未満)に比較して、その死亡率は1.74倍、とりわけ悪性腫瘍による死亡率は4倍になっていた。その影響は動物性蛋白摂取増加によって顕著であり、植物性蛋白の増加では認められなかった。蛋白摂取量中間群においても悪性腫瘍による死亡率は3倍に増加していた。一方65歳以上においては逆転し、高蛋白摂取群、中間蛋白摂取群は低蛋白摂取群に比較してその死亡率はそれぞれ0.72倍、0.89倍に低下した。悪性腫瘍による死亡率は高蛋白摂取群において0.4倍に減少していた。また全ての年齢において高蛋白摂取群は糖尿病による死亡率を5倍に上昇させた。

年齢性別で補正したIGF-Iレベルは蛋白摂取量と正相関を認め摂取量が多いほど高値を示した。IGF-I上昇による疾患、生命予後に対する影響を解析すると50-65歳においてIGF-I濃度が10ng/ml上昇すると悪性腫瘍に

よる死亡率は9%ずつ上昇した。その効果は65歳以上では認めなかった。

細胞レベルの解析によって高濃度アミノ酸はストレス耐性を低下させ、突然変異率を増加しDNAダメージを増強することが明らかになった。さらに動物実験として野生マウスにおける高(18%)および低蛋白食(4%)の影響が調べられ、低蛋白食では53%のIGF-I値の低下、136%のIGFBP1の上昇(結果として遊離IGF-Iが低下し効果を阻害する)を認めると共に、高蛋白食では皮下に植えたメラノーマ腫瘍細胞の臓器転移を100%認めたのに対し低蛋白食では80%であり、腫瘍サイズは高蛋白食において78%の増大を認めた。乳癌腫瘍細胞株においても同様の結果だった。さらにGH受容体欠損マウスを用いた腫瘍移植実験では腫瘍増殖が著明に抑制され、アミノ酸と共に腫瘍増殖に対するGH/IGF-I系の促進効果が示された。これらの結果は栄養とIGF-Iの疾患感受性および寿命に対する影響とそれらの相互作用の存在を示唆している。筆者たちは植物性蛋白の摂取はすべての年齢においてメリットがある一方で、65歳あるいは70歳までは0.7-0.8g蛋白/体重kgの蛋白制限を、それ以上の年齢では高蛋白の摂取を推奨している。

ヒトにおけるGH/IGF-I系異常のモデル疾患と老化、寿命

ヒトにおいて何らかの原因によってGH分泌が成人で障害されると、成人GH分泌不全症を引き起こすが、除脂肪体重の減少、内臓脂肪の増加、筋力低下、脂質異常、骨塩量減少と骨折の増加、QOLの低下など様々な症状を呈する。GHは皮下脂肪より内臓脂肪に強く作用し、脂肪分解作用、ホルモン感受性リパーゼ活性化、脂肪合成抑制作用を介して内臓脂肪を減少させる。このような病的状態としての成人GH分泌不全症に対するGH補充療法によって、体組成と脂質異常の改善、骨塩量増加、QOLの改善効果を認める。興味深いことにマウス等とは異なり、ヒトにおいて成人GH分泌不全症では主に心血管疾患の増加により生命予後が悪化するが、GH治療によって予後が改善することが示唆されている。このことはマウスまでの生物とは異なり、ヒトではGH分泌不全が生命予後の悪化に関連し、寿命におけるGHパラドックスと言われている。

一方、先天性にGH受容体が遺伝的に欠損しているGH受容体異常症(ラロン症候群)では、寿命の延長は認めないが、肥満になるにもかかわらず糖尿病や悪性腫瘍を発症しない¹¹⁾。さらにヒトGH過剰モデル疾患である巨人症、先端巨大症においては、高身長、顔貌変化、手足容積増大、糖尿病、高血圧、心不全、変形性関節症、睡眠時無呼吸症候群、大腸腫瘍、甲状腺腫瘍の増加など様々な合併症を引き起こし、生命予後が悪化する。すなわちGH/IGF-I過剰はヒトにおいても合併症発症と寿命短縮を引き起こす。

また大規模な疫学調査において、健常人の中では、正常範囲の中でIGF-I高値群は低値群と比較して前立腺癌、乳癌リスクが上昇している。さらに正常高齢者において血中IGF-I濃度は低値でも高値でも死亡率の上昇と

関連し、興味深いことに低IGF-I血症は心血管疾患の増加と関連する一方、悪性腫瘍増加はIGF-I低値、高値いずれも関連していた¹²⁾。これらのことはマウスとヒトの違いを示唆する一方、GH/IGF-Iの臓器や疾患ごとの影響の違いの存在を意味している。

前述のようにコントロール不良の先端巨大症では、約10年短命になり高血圧、心不全、変形性関節症、悪性腫瘍など加齢関連疾患の早期の発症を認める。このようにGH/IGF-Iが過剰になる先端巨大症ではなぜ様々な合併症をきたし短命になるのだろうか? 私たちは最近IGF-Iが細胞レベルで、NADPH oxidaseの一員であるNox4を介して酸化ストレスを増加し^{13,14)}、テロメアの短縮¹⁵⁾、細胞老化¹⁶⁾を促進することを報告した。興味深いことに先端巨大症患者においても血中酸化ストレスマーカーが増加しており¹⁷⁾、末梢白血球におけるテロメアの短縮を認めた¹⁵⁾。ヒト線維芽細胞を用いたin vitroの実験では、IGF-Iがテロメアの短縮、細胞老化を引き起こした。酸化ストレス、テロメアの短縮、細胞老化はいずれも糖尿病、高血圧、心不全、悪性腫瘍発症と関連していることから、IGF-Iによる酸化ストレス増加、テロメア短縮、細胞老化促進作用が、先端巨大症における合併症や予後の悪化、またIGF-Iに関連した様々な疾患の発症機序として関わっている可能性がある。

加齢に伴う身体変化とSomatopauseの意味

ヒトにおいて加齢とともに見られる変化として体組成の変化すなわち内臓脂肪の増加、筋肉量および骨塩量の低下や脂質代謝異常、動脈硬化に伴う心血管障害の増加、精神活動性の低下などがある。興味深いことにこれらの変化は成人GH分泌不全症の症状と酷似している。加齢と共に増加する生活習慣病である肥満、高インスリン血症、脂質代謝異常、高血圧に伴うメタボリック症候群では内臓肥満が基盤になる病因として注目されている。実際、成人GH分泌不全症では、内臓脂肪が増加するだけではなく、総コレステロールの上昇、LDLコレステロールの上昇、HDLコレステロールの低下、ApoBの上昇、中性脂肪の上昇といった脂質代謝異常を認め¹⁸⁾、血管内皮障害の存在とあいまって動脈硬化病変が進行しやすく^{20,21)}、心血管合併症の発症頻度が上昇し²²⁾死亡率が高い²³⁾。これらのことから老化による身体の変化の一部に、加齢に伴うGH/IGF-I分泌の低下すなわちSomatopauseが寄与していると考えられ、健常高齢者に対するGH治療の試みが行われてきた。その結果、軽度の体脂肪量の低下、内臓脂肪減少、脂質代謝改善、骨塩量増加などの一定の効果は認めしたが、QOLの改善は明らかではなく、浮腫や関節痛などの副作用や腫瘍促進の懸念などを考え合わせると現時点においてはアンチエイジング目的のGH治療は否定されている²⁴⁾。

おわりに

本稿においては、内分泌系特にGH/IGF-I系と栄養、老化、寿命の関係について述べてきた。GH/IGF-I系は栄養状態と関連しながら、成長、代謝、疾患感受性、寿

命調節において重要な役割を果たしている。

文献

1. Corpas E, et al: Human growth hormone and human aging. *Endocr Rev* **14** (1) :20-39, 1993.
2. Lamberts S W, et al: The endocrinology of aging. *Science* **278** (5337) :419-424, 1997.
3. Fazeli P K, et al: Determinants of GH resistance in malnutrition. *J Endocrinol* **220** (3) :R57-65, 2014.
4. Inagaki T, et al: Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metab* **8** (1) :77-83, 2008.
5. Yamamoto M, et al: SIRT1 regulates adaptive response of the growth hormone--insulin-like growth factor-I axis under fasting conditions in liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110** (37) :14948-14953, 2013.
6. Bartke A: Minireview: role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging. *Endocrinology* **146** (9) :3718-3723, 2005.
7. Bartke A, et al: Extending the lifespan of long-lived mice. *Nature* **414** (6862) :412, 2001.
8. Bonkowski M S, et al: Targeted disruption of growth hormone receptor interferes with the beneficial actions of calorie restriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103** (20) :7901-7905, 2006.
9. Holzenberger M, et al: IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* **421** (6919) :182-187, 2003.
10. Levine M E, et al: Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab* **19** (3) :407-417, 2014.
11. Guevara-Aguirre J, et al: Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans. *Sci Transl Med* **3** (70) :70ra13, 2011.
12. Svensson J, et al: Both low and high serum IGF-I levels associate with cancer mortality in older men. *J Clin Endocrinol Metab* **97** (12) :4623-4630, 2012.
13. Fukuoka H, et al: IGF-I stimulates reactive oxygen species (ROS) production and inhibits insulin-dependent glucose uptake via ROS in 3T3-L1 adipocytes. *Growth Horm IGF Res* **20** (3) :212-219, 2010.
14. Handayaningsih A E, et al: Reactive oxygen species play an essential role in IGF-I signaling and IGF-I-induced myocyte hypertrophy in C2C12 myocytes. *Endocrinology* **152** (3) :912-921, 2011.
15. Matsumoto R, et al: Accelerated Telomere Shortening in Acromegaly; IGF-I Induces Telomere Shortening and Cellular Senescence. *PLoS One* **10** (10) :e0140189, 2015.
16. Handayaningsih A E, et al: IGF-I enhances cellular senescence via the reactive oxygen species-p53 pathway. *Biochem Biophys Res Commun* **425** (2) :478-484, 2012.
17. Nishizawa H, et al: Enhanced oxidative stress in GH-transgenic rat and acromegaly in humans. *Growth Horm IGF Res* **22** (2) :64-68, 2012.
18. Bengtsson B A, et al: Treatment of adults with growth hormone (GH) deficiency with recombinant human GH. *J Clin Endocrinol Metab* **76** (2) :309-317, 1993.
19. Attanasio A F, et al: Adult growth hormone (GH)-deficient patients demonstrate heterogeneity between childhood onset and adult onset before and during human GH treatment. Adult Growth Hormone Deficiency Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* **82** (1) :82-88, 1997.
20. Evans L M, et al: Endothelial dysfunction in hypopituitary adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* **50** (4) :457-464, 1999.
21. Pfeifer M, et al: Growth hormone (GH) treatment reverses early atherosclerotic changes in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab* **84** (2) :453-457, 1999.
22. Beshyah S A, et al: Cardiovascular disease and risk factors in adults with hypopituitarism. *Clin Endocrinol (Oxf)* **50** (1) :1-15, 1999.
23. Rosen T, et al: Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* **336** (8710) :285-288, 1990.
24. Thorner M O: Statement by the Growth Hormone Research Society on the GH/IGF-I axis in extending health span. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **64** (10) :1039-1044, 2009.

The role of GH and IGF-I in the regulation of nutrition and aging

Yutaka Takahashi, M.D., Ph.D.

Division of Diabetes and Endocrinology,
Department of Internal Medicine,
Kobe University Graduate School of Medicine

Abstract

Growth hormone (GH) and IGF-I play a pivotal role not only in growth in childhood, but also in the regulation of metabolism and nutrition. The decline in the secretion of GH and IGF-I with age is defined as somatopause and it contributes at least in part of the age-dependent detrimental changes in the body. The decrease in GH/IGF-I action prolongs life span in mouse models and it is an important regulator of life span. In malnutrition states, GH resistance occurs and this condition is considered as an adaptation for the status. It has recently been reported that high protein diet is associated with a high serum level of IGF-I and increase in mortality related with cancer in the 65 and younger, while low protein diet increased the mortality in the older population. In this review, the relationship between GH/IGF-I axis and nutrition, ageing, and longevity and the underlying mechanisms are discussed.

【学会報告】

The 6th International Society of Radiation Neurobiology に参加して

内田 さえ

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 自律神経機能研究

2016年2月12日と13日の2日間、長崎大学において本学会理事の森望先生の大会長のもと The 6th International Society of Radiation Neurobiology (国際放射線神経生物学会大会) が開催されました。この学会は、老化に影響を及ぼす環境因子の一つである放射線が脳神経系にどのような影響を与えるのかについて基礎と臨床の両面から広く議論する場です。脳神経系疾患に対する放射線照射に伴って起こる認知機能障害のメカニズムやその治療も重要な議論の一つとなっており、老化研究とも深く関連しています。私は幸運にもこの学会に出席し、認知機能に重要な脳循環に関してポスター発表する機会に恵まれました。今回光栄にも、基礎老化研究雑誌への学会報告記の依頼を頂きましたので、学会の様子や議論などをご報告します。

会議は2日間で、基調講演、シンポジウム1(基礎)の5演題、シンポジウム2(臨床)の3演題、ランチョンセミナー、一般口演8題、ポスター賞講演1題、ポスター24題の充実したプログラムで、活発な議論が交わされました。ここではシンポジウム1の内容を紹介します。

Dr. Jae-Seon Lee (韓国・Inha 医科大学) : 癌抑制遺伝子 (PTEN) の欠損は細胞老化を促進することが知られています。Dr. Lee は、放射線により誘導された細胞老化過程 (グリオーマ細胞) において、PTEN が老化あるいはアポトーシスの細胞の運命決定を担うことを報告しました。

Dr. Takako Yasuda (東京大学) : ミクログリアは傷害された神経細胞を取り込み、分解除去する役割が知られています。Dr. Yasuda は、放射線による神経細胞損傷の程度に関わらず、ミクログリアが一斉に活性化することをメダカ胚モデルで明らかにしました。

Dr. Shigeyoshi Saito (大阪大学) : 加齢に伴う大脳皮質の萎縮や血流低下は、認知機能障害と深く関連します。Dr. Saito は、胎児期に放射線曝露されたラットやマウスでは、生後4-8週において脳体積の減少、脳室拡大、大脳皮質の萎縮が生じることをMRIにより、中大脳動脈の末端の欠落が生じることをMR血管造影法により明らかにしました。

Dr. Ting-Ting Huang (米国 Stanford 大学) : Dr. Huang は脳腫瘍に対する放射線治療後に起こる認知機能障害の予防、治療に向けた研究を報告しました。第一に抗酸化能力を高めた EC-SODTg マウスでは海馬神経新生の放射線曝露による減少が防がれることを示しました。第二に神経栄養因子受容体の一つである TrkB の作用薬を投与したマウスでは放射線による海馬神経新生の減少が防がれ、空間作業記憶や文脈記憶が改善することを示しました。

Dr. Kathryn D. Held (米国 Massachusetts 総合病院・Harvard 大学医学部) : Dr. Held は、放射線曝露により生じる認知機能障害のメカニズムに関する近年の研究を紹介しました。マウスの実験において、

ISRN-2016-Nagasaki

The 6th International Society of Radiation Neurobiology Conference



第6回国際放射線神経生物学会大会



Brain, Neurons, and Radiation





Dr. Lee

Dr. Yasuda

Dr. Saito

Dr. Huang

Dr. Held

荷電粒子線の急性曝露後6週で新皮質や海馬に関わる認知機能が低下すること、主要な形態変化はシナプス密度の顕著な低下であることを示しました。

私はポスター発表において認知症を防ぐことを目指した、高齢ラットの大脳皮質における血流とアセチルコリン (ACh) 放出に対する鍼刺激効果に関する研究成果を報告しました。私どもは麻酔ラットを用いて、皮膚や筋肉を刺激する鍼が、大脳皮質 ACh 放出を高め、血流を増加させることを示し、その作用は成熟ラット (4-9 月齢) だけでなく高齢ラット (30-37 月齢) でも認められることを示しました。複数の先生方と大脳皮質の血流や ACh 放出をより高める刺激部位や刺激方法に関して議論しました。

学会初日には、会議に先立ち開催された今年被爆 70 年を迎える長崎の放射線・被爆関連施設の視察ツアーにも参加しました。長崎大学の原爆後障害医療研究所では、現在 14 万人分の原爆被爆者の医療データ、爆心地からの距離など多くの情報をデータベースとして蓄積しており、原爆医学資料展示室でその疫学データや当時の写真などを閲覧できるようになっていました。美しい浦上天主堂の庭に残る被爆した石像、防空壕の跡、原爆落下中

心地、平和公園、長崎原爆資料館などを巡りながら、原爆の威力を肌で感じ、その影響の大きさを改めて認識しました。

本学会に参加して、老化に影響する放射線の脳神経系への作用やその予防・治療法に関する研究を学び、討論できたことは、大変貴重な経験となったと感じており、今回学んだことを今後の老化研究に生かしていきたいと思えます。



ポスター会場の様子

【学会報告】

第 11 回長寿医療研究センター国際シンポジウム

下田 修義

国立長寿医療研究センター・再生再建医学研究部

寒風吹きすさぶ平成 28 年 2 月 6 日、愛知県大府市のあいち健康プラザで、「糖尿病と認知症」をテーマとした国立長寿医療研究センター主催の第十一回国際シンポジウムが開かれました。認知症といっても講演内容はアルツハイマー病 (AD) が中心で、「糖尿病と AD」がよりふさわしいタイトルであったかもしれません。例年通り 1 日限りのシンポジウムで、国内外から招待されたそれぞれ 5 人ずつの演者が 30 分間講演するスタイルでした。

糖尿病と認知症はどちらも高齢者での罹患率が高く、根本的治療法が存在しない、などの負の共通項を有す上、最近の疫学研究からは、糖尿病が認知症の発症リスクを 2 倍程度上げるという両者の関連が明らかになってきました。ともに多因子性 (複数の感受性遺伝子と環境の組み合わせで発症) のため発症メカニズムの解明が困難ではありますが、問題の深刻さゆえ、困難は承知で取り組まなくてはならない喫緊のテーマであると思います。そのことは今回、230 人を超える、ア

カデミアはもちろん製薬企業からの参加があったことと無縁ではないでしょう。

当学会の丸山光生先生の司会のもと長寿センター櫻井孝先生のオーバービューでシンポジウムはスタートし、2030 年までに世界の認知症患者は 1000 万人近くになるとの見通しや、糖尿病は認知症の増悪因子であるということで、インスリン関連因子のシグナルの滞り、そしてその結果としての高血糖や高インスリン血症、炎症などがその背景にあるだろうとのことを概説しました。続くブラウン大学のデラモンテ先生は AD を大胆にも「3 型糖尿病」と見立て、脳のインスリン (様) 成長因子の進行的障害がアミロイド斑や神経原繊維変化に繋がることを報告しました。ならば抗糖尿病薬は AD に効くのか、という素朴な疑問を持ちましたが、まさにインクレチン受容体アゴニストにその期待が持てることをタルボット先生 (ロサンゼルス) が発表しました。

おいしいなだ万弁当をほおぼりながらのランチョンセミナーは東京医科大学の羽生春男先生で、「糖尿病性認



あいち健康プラザ

知症」と名付けた糖尿病と AD 病理の少ないタイプの認知症を併発する臨床病型の存在を報告しました。続く九州大学の中別府先生は、弧発性 AD と AD モデルマウスの脳で共通に変化している遺伝子を出発点として、加齢変化物質としてなじみのある 8 オキシグアニンのミトコンドリアでの蓄積が弧発性 AD における神経変性に繋がる可能性を明らかにしました。大阪大学の里先生は AD と糖尿病の合併症モデルマウス (APP+ob/ob) では異常なタウのリン酸化が見られることを見出し、そこには単純な AD 発症とは異なる経路での発症機序が含まれるという可能性を提示しました。

本稿最後の二人は長寿センターからで、田口明子先生はインスリン受容体基質 2 (IRS2) が海馬歯条回の成熟神経細胞と神経幹・前駆細胞で発現していることを見出し、IRS2 変異マウスは老齢期において記憶力の向上が認められるという驚くべき発見をしました。そして最後に、当学会員の木村展之先生は 2 型糖尿病を自然発症したカニクイザルにおいて、老人斑形成の足場となる $GA\beta$ (ギャプ) が増えていること、さらに $GA\beta$ 形成や $A\beta$ 蓄積そのものの要因ともなる細胞内輸送障害を示す病理が認められることから、2 型糖尿病は加齢依存的な細胞内輸送障害を悪化させることで $A\beta$ 病理を加速させるのではないかと非常に魅力的な仮説を提唱しました。

以下国外の 3 人の演者が続いたのですが、残念ながら紙面の都合で割愛します。



質疑に答える木村会員

認知症における $A\beta$ 仮説の説得力に疑いはありませんが、未だ懐疑的な見方もあります。そこへ来て同じく多因子疾患である糖尿病を絡めると、もつれた糸がさらにもつれるのではないかと危惧していましたが、今回の一連の優れた発表を聴き終えた後は、インスリンシグナルカスケードは AD の発症メカニズムを解きほぐすための一つの有用な手がかりなはずと期待せずにはいられませんでした。刺激的な発表をしてくれた演者の方々に感謝いたします。

【追悼文】

竹田俊男先生を偲んで

細川 昌則

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

日本基礎老化学会名誉会員竹田俊男先生は、腎機能障害で透析を3年程続けられておられましたが、肺癌を併発され2016年1月16日83歳で御逝去されました。御遺志により、日本基礎老化学会、老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、門下生の皆様にお知らせしたのは御家族が葬儀を終えられた一週間後でした。御逝去の悲報に皆非常に強い衝撃を受け、今も大きな悲哀に暮れています。

竹田俊男先生は1957年3月京都大学医学部を卒業、1年間の実地修練 (インターン) の後京都大学大学院医学研究科に進学され、病理学第2講座の岡本耕造先生に師事されました。1962年京都大学医学部病理学教室助手に着任、1968年京都大学結核胸部疾患研究所病理学部門助教授に昇任されました。助手時代の1966年から約1年半、腎性高血圧症の実験的研究で高名であった Arthur Grollman 教授 (テキサス大学医学部) の下に留学され、顎下腺機能と胸腺腫瘍 (Am. J. Physiol. 215, 1968), 顎下腺機能と腎障害 (Am. J. Pathol. 60, 1970) に関して、実験動物を用いた研究に携われました。結核胸部疾患研究所において最初は、胸腺の生理的退縮と顎下腺との関連、結合組織の病態生理と内分泌支配、近交系マウスの自然発症腎病変の研究を進められました。その後は老化促進モデルマウス (SAM 系統マウス) を用いた老化と老年性疾患に関する実験病理学的研究が中心になりました。1983年同研究所病理学部門教授 (1988年改組により胸部疾患研究所老化生物学分野)、1994年定年退官され、名誉教授に叙されました。私事で恐縮ですが、私の最初の研究は、「エストロゲンが培養線維芽細胞コラーゲン合成能に及ぼす影響」で、この経験が後に、老化と老年性疾患の細胞病理を実験的に研究するきっかけになりました。一方、私が研究室にお世話になる半年前の1975年10月には、SAM 系統マウスの近交系化と老化関連形質の系統への固定作業が始まっていました。この時は SAM 系統マウスを用いた研究がその後の研究のすべてになるとは思ってもみませんでした。

竹田先生の老化研究への貢献は、老化と老年性疾患の実験モデル動物として SAM 系統マウスを樹立されたことです。竹田先生は、主に理論上で考えられていた老化過程の促進現象を、SAM 系統マウスを用いて現実に実験的に扱える生命現象として、世界に先駆けて示されました。1973年に、当時維持されていた AKR/J 系統マウスのコロニーの中で、SAM 系統マウスの起源となっ

た腹 (littermates) を偶然見つけられたのですが、竹田先生は単に発見し報告するだけでなく、老化が速く進む形質を近交系統の形質として固定し、実験病理学の研究に用いる事が出来るマウス系統として樹立されました。さらに様々なヒトの老年性疾患のモデル性を SAM 系統マウスの中に探索され、本系統が様々な老化依存性病態 (senescence-dependent disorders) のモデルになり得ることを示されました。一方、疾患モデル動物のユーザーの視点を持って SAM 系統マウスのプロバイダーを務めるために、老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会を立ち上げ、使用を希望する研究者に運送費実費負担のみで分与されました。さらには、研究に使用する SAM 系統マウスの老化形質を研究施設間で均一にするため、日本 SLC (株) に系統の維持と分与を委託されました。SAM 研究協議会では毎年研究発表会を開催され、研究者間の情報交換を促し、老化研究が発展する事を願われました。竹田先生は SAM 研究協議会が創立された1984年から2015年3月まで31年間会長を務められ、SAM 系統マウスを用いた研究ならびに SAM 研究協議会を牽引されてこられました。このように体系立てて、SAM 系統マウスとそれを用いた研究を通して老化と老年性疾患の研究を育ててこられました。

振り返りますと、SAM 系統マウスに関する研究成果が最初に公表されたのは、系統樹立開始から4年後の1979年7月に開催された日本基礎老化研究会第3回大会、ならびに日本結合組織学会第11回総会でした。原著論文発表は6年後になりました (Mech. Ageing Devel. 17, 1981)。第3回基礎老化研究会では「老化モデル動物系統樹立の試み」の演題名で、SAM 系統マウスの外観の加齢変化、寿命特性、アミロイド沈着、白内障などの加齢病態を報告しています。アミロイド沈着の病理学的研究はその後、信州大学の樋口京一先生、福井大学の内木宏延先生に引き継がれ、大きく発展しました。日本基礎老化学会では (当時は研究会)、主宰されていた太田邦夫先生をはじめ、非常に多くの会員の先生方のお世話になりました。当初から毎回の大会で、多くの先生と SAM 系統マウスのモデル性をめぐり激論が交わされました。その一方で、物心の面で様々な御支援を頂きました。日本基礎老化学会に SAM 系統マウスを用いた老化研究を育てて頂いたと感謝しています。

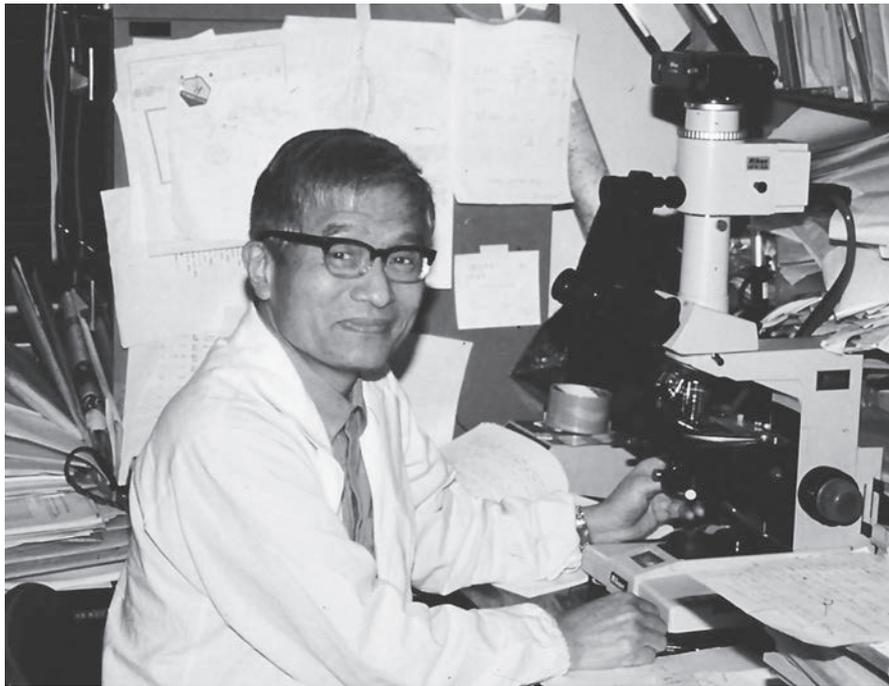
竹田先生はその御人柄と研究に対する姿勢 (門下生はタケダイズムと呼びました) から多くの国内、国外の研

究者に慕われました。竹田先生は、実験病理学は、まず確固たる現象、物を掴む事だ。理論は後からついてくると常々言われ、実験台に向かっていないと、「いつまで鉄砲磨いているのだ」と御叱りが飛びました。また、ディスカッション顕微鏡で一緒に病理組織標本を観ている時、「これが見えないのか」、「どこにそんな物があるか。(視野に) 出してみろ」の連続で冷や汗のかき通しでした。そこに在る物も意識しないと見えない。先に結論があると無い物も見えてくる、という実験的研究の陥穽を乗り越えるトレーニングであったように思います。竹田先生は目標に到達するための地道な努力の継続を大切にされ、先頭に立って実行されました。SAM系統マウスは、近交系化を開始した時から全てのマウスに個体番号が振られ、戸籍、家系図、老化度の加齢変化、老化関連病態の加齢変化、死亡時の肉眼的・組織学的所見などの膨大なデータが蓄積されました。毎日朝夕2回、竹田先生と当番にあたった大学院生数名が全てのマウスの生死を確認し、死亡したマウスの解剖が行われました。この作業は1年中正月も休みなく続けました。

竹田先生の研究の出発はいつも「なんでや」から始まりました。SAM系統マウスの研究者が一度は見たことがある、12か月齢のSAMP1とSAMR1系統雄マウスを並べて撮った写真があります。なぜこの2匹は違ってしまったのか？何が2匹の違いをもたらしているのか？と竹田先生は常に問いかけました。目の前の現象を大切にす姿勢と「なんでや」の精神でもって、それを明らかにしようと呼びかけられました。テーゼは単純であるがゆえに力強いメッセージとなります。

竹田先生は、研究の遂行には厳しかったですが、率直で温かく、家族のような雰囲気の中で研究ができました。竹田先生は大学院生一人一人の研究の話を、ニコニコしながら丁寧に聞いて、弱点を最初からいきなり指摘することはありませんでした。また、一人一人の好奇心、興味を大変大事にされました。門下生が思い出す竹田先生の姿は各人で少しずつ違っていますが、皆が共に思い出すのは竹田先生の笑顔です。

今も、「どおや！」とニコニコと近づいてこられるように、ふと感じることが有ります。



忙しい研究所運営の合間をぬって病理組織標本検鏡中の竹田俊男先生（1993年）

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40号 第2号

平成28年(2016) 5月27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



日本基礎老化学会

Japan Society for Biomedical Gerontology