

## 加齢健康脳科学研究部

### (1) 構成員

部長 丸山和佳子  
室長

加齢病態研究室 本山昇  
病態制御研究室 脇田英明  
分子病態研究室 渡邊淳  
(～H22 7.31)

### 流動研究員

柳野卓也  
武田和也  
國本正子  
足立香代

### 研究員

能勢 弓  
渡邊淳  
(H22 7.31～10.14)

### 外来研究員

(学振研究員)

永井雅代

### 客員研究員

直井 信  
松浦 彰

### 研究生

伊 廣鴻  
日坂 真輔  
松本 恵  
岩井美佳

### 研究補助員・事務補助員

加藤 記代美  
加藤 とよ子  
後藤 彩

### (2) 平成 22 年度研究活動の概要

平成 22 年 4 月 1 日、国立長寿医療センターが独法化され、独立行政法人国立長寿医療研究センターとなるに伴う改組のため、(旧)老年病研究部と(旧)血管性認知症研究部が合併し、構成された。

加齢健康脳科学研究部の課題としては

- 1) 「老化」というユニークな観点(切り口)による認知症の研究すること。
- 2) 老化に伴う認知症をきたす疾患の中でも主にレビー小体病(瀰漫性レビー小体病および認知症を伴うパーキンソン病を)と脳血管性認知症について、病因解明、診断、治療の開発に向けて研究をおこすこと。

である。

平成 22 年度は部設立の初年度であったため、部設立以前より継続してきた研究を部長研究グループおよび各室長研究グループでとりまとめるとともに、部の新たな研究課題の基盤整備を行った。

なお、分子病態研究室は 7 月 31 日に改組に伴い閉鎖された。

加齢病態研究室：研究員氏名 早川智久、柳野卓也、本山 昇  
DNA 損傷による細胞老化に伴う Senescence-associated secretory  
phenotype (SASP) の制御メカニズムの解明

老化は、加齢に伴い各種組織の機能が低下していく生理応答である。高齢者において発症する認知症、糖尿病や動脈硬化などのいわゆる老年性疾患の発症率は、加齢に伴い増加することから、老年性疾患と老化は密接に関連していると考えられている。通常より2~7倍の速度で老化が進行し、種々の老年性疾患を比較的若年期より発症するヒト早期老化症患者由来細胞や早期老化症モデルマウス由来細胞、さらに、一般の高齢者由来細胞においても、DNA 損傷が蓄積することが明らかになってきた。これらの知見は、DNA 損傷が老化と密接に関連していることを示唆している。ゲノム DNA は、紫外線や化学物質などの外的要因、細胞の代謝の副産物として生じる活性酸素種等による酸化ストレスにより絶えず損傷を受けている。一方、細胞は損傷を監視・修復あるいはアポトーシス (Apoptosis) や細胞老化 (Cellular Senescence) が誘引される DNA 損傷応答機構 (DDR) により、ゲノムの安定性を維持している。当研究室では、加齢に伴う DNA 損傷の蓄積・DNA 損傷応答 (DDR) の活性化によるアポトーシス・細胞老化と個体老化との関連性について研究を行ってきた。

加齢に伴い老化細胞が蓄積することが明らかになってきた。老化した細

胞は、単に存在しているだけでなく、炎症性サイトカイン、ケモカインなどの液性生理活性因子を分泌していることが明らかになってきた。この現象は、Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる。SASP によって液性因子が分泌されるので、老化細胞のみならず周囲の細胞にも影響を及ぼし微小環境を変化させるので、個体老化との関連が注目されつつある。

そこで今年度は、DNA 損傷によって誘導される細胞老化に伴って発現する SASP の制御メカニズムについて研究を進めた。その結果、SASP 関連因子である IL-6 や IL-8 の発現上昇に伴って、老化制御因子として重要な機能を果たす NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素 SIRT1 の発現が減少することを見出した。SIRT1 は、ヒストンの脱アセチル化を介して遺伝子のサイレンシングに作用している。また、細胞老化に重要な役割を果たす p53 を脱アセチル化することも知られている。このような観点から SIRT1 がクロマチンレベルもしくは p53 を介して SASP の発現を制御していると考えられる。今後は、SIRT1 ノックダウン細胞を用いて、DNA 損傷による誘導される細胞老化の過程で発現する SASP について検討を行う予定である。

病態制御研究室：脇田英明、足立香代、武田和也  
脳血管性認知症のモデル動物の確立と予防・治療法の開発

近年の脳虚血研究の進歩から、虚血後誘導される炎症・免疫反応の重要性が血管性認知症についても注目されている。本研究室では、血管性認知症について、虚血により誘導される炎症・免疫反応から認知症発症に至る過程について、モデル動物を用いて解析し、病因に基づいた新しい診断法、予防・治療法の開発を行うことを目的として研究活動を行った。また、アミロイドに関連した細胞死の研究も行なった。

**1) 認知症のモデル動物の病態機序の解析**

マウス、ラット、霊長類を用いた血管性認知症モデル動物の病態機序解析を行い、脳内で血管内皮細胞での細胞接着分子の発現を介して、白血球の実質への浸潤、グリア細胞の活性化が誘導され、慢性期まで持続していることを解明した。さらに、細胞接着分子の発現を介した炎症反応を抑制すると、脳虚血病変と記憶機能の低下が軽減されることから、細胞接着分子の発現を起点とした炎症・免疫反応が脳虚血病変及び記憶機能低下の成立に関与していることを明らかにした。また、モデルマウスを用いて、アルツハイマー病に対する脳虚血の影響を検討し、脳虚血が発症促進作用をもつことを明らかにした。

**2) 血管性認知症の治療法の開発**

モデル動物の病態機序解析から明らかとなった細胞接着分子の発現を起点とした炎症・免疫反応をターゲットとした脳血管性認知症の予防・治療薬の有効性の検討を行った。モデル動物に細胞接着分子 E-selectin を制御する薬物を投与し、記憶機能と脳病変に対する効果を検討し、脳内炎症・免疫反応が抑制され、記憶機能障害と脳病変に対する保護効果があることを明らかにした。血管性認知症の予防・治療において、E-selectin を介する白血球と血管内皮細胞の接着阻害の有用性が示された。

**3) AB-DIP による神経細胞死機構の解明と抑止法の開発**

AB-DIP Tg マウスおよび AD モデルマウスと交配して得られたマウス脳を用いて、AB-DIP 過剰発現による AD 病理への影響について組織学的解析を行った。AB-DIP を過剰発現する加齢マウス脳の大脳皮質において、GFAP 陽性細胞の増加が見られた。

部長研究グループ：永井雅代、能勢弓  
日坂真輔、丸山和佳子

レビー小体病の原因解明と、バイオマーカーの開発に関する研究

神経変性疾患に一般に認められる病理所見として、構造異常をきたしたタンパク質の蓄積がある。その中でも  $\alpha$ -synuclein が蓄積する疾患は、synucleinopathy と総称される。細胞内に蓄積するものはレビー小体病、オリゴデンドログリアおよび神経細胞に蓄積するものは多系統萎縮症のカテゴリーに含まれる。レビー小体病は日本における認知症の原因の 20 % を占める重要な疾患である。レビー小体病は3つのタイプに分類される。すなわち1)パーキンソンズムと規定される特異な運動障害(錐体外路症状)を主症状とする Parkinson disease (PD)、2)認知障害を主症状とする diffuse Lewy body dementia (DLB)、3)自律神経症状を主症状とする pure autonomic failure (PAF)である。PD は皮質下性の認知症、あるいは DLB との合併により認知障害をきたし、PD with dementia (PDD)と言われる。罹患年数が長くなり、あるいは発症年齢が高くなるにつれ、PD の中での PDD の割合は高くなる。

平成 22 年度はレビー小体病の中で、認知障害を示す PD with dementia (PDD) および diffuse Lewy body dementia (DLB)の病因について検討を行った。老化の原因としての“酸化ストレス学説”は

広く受け入れられる概念である。しかしながらその本体については明らかとされていない。脳は、酸化ストレスレベルが恒常的に高く、さらに膜脂質には多量の多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid) を含む。 $\alpha$ -synuclein の構造異常と細胞内蓄積の原因としてたんぱく質の酸化傷害、特に過酸化脂質によるたんぱく質修飾に着目した。さらに、老化に伴う遺伝子発現変化として、酸化傷害の除去システムの低下および神経を防御する神経栄養因子の低下とが重要であると考えられる。

上記のようにレビー小体病は末梢神経にも変性が引き起こされる「全身疾患」であるため、バイオマーカー候補として末梢血中の酸化修飾タンパク質、特に PUFA の酸化に伴い生成された過酸化脂質により修飾をうけた  $\alpha$ -synuclein 等のタンパク質、および神経栄養因子である glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) および brain-derived neurotrophic factor (BDNF) について検討を行った。その結果、レビー小体病の患者の血漿中過酸化脂質修飾タンパク質の増加は認められなかったが、BDNF が正常および疾病対照より有意に低下していた。今後、症例数を増やして検討を行うことが必要と考えられた。

## CADASIL 発症機序に関する研究 國本正子、渡辺淳

脳血管性認知症はその原因として脳出血や脳梗塞による脳の血流障害などがあげられているが、その詳細な分子メカニズムは全く分かっていない。その中で原因遺伝子 Notch3 が同定されている脳血管性認知症の CADASIL に着目し、変異 Notch3 を導入した細胞ないしモデル動物を用いて変異 Notch3 の機能を解析し、血管変性メカニズムの分子レベルでの解明を試みた。

### ヒト変異 Notch3 の重合阻害剤のスクリーニング

変異 Notch3 の集合体の分解を行なうことは、CADASIL の治療薬の開発につながる可能性がある。そこで、以前作製した野生型及び変異型 (R133C 及び C185R) Notch3 を誘導する HEK293 細胞系を用いて、重合体の分解を促進する薬剤のスクリーニングを行った。野生型及び変異型 Notch3 を誘導した後、各種低分子化合物を添加し、Notch3 抗体を用いたウエスタンブロットと免疫細胞化学的解析によって薬剤の効果を検討した。その結果、amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) のフィブリル形成を阻害する薬剤である 4,5-dianilinophthalimide (DAPH) や staurosporine aglycone (SA) 等が Notch3 の重合体の分解に効果があった。本研究で用いた変異 Notch3 を発現する細胞を用いたスクリーニング

法は CADASIL の治療薬開発に有用であると思われる。

### CADASIL モデルマウスの構築

以前作製した、変異型 Notch3 ノックイン (KI) マウスを用い、変異型 Notch3 が引き起こす形態変化や分子変化を解析した。その結果、老齢 KI マウスでは、脳において Notch3 タンパク質の蓄積が確認された。また、CADASIL の病理変化は末梢の血管にもみられることから、尾の動脈を観察したところ、平滑筋細胞層の形態的变化、および Notch3 タンパク質の蓄積が認められた。さらに、慢性ストレスを負荷した KI マウスでは、若年でも脳と尾の動脈における VSMCs マーカータンパク質の減少と、尾動脈における平滑筋細胞層の構造変化が認められた。このことから、変異遺伝子と環境要因の相互作用により疾患の発症が促進される可能性が考えられた。

今回構築した CADASIL モデルマウスを、病理学的、生化学的、分子生物学的にさらに詳細に解析することで、CADASIL の発症機序の解明のみならず、大脳細動脈病変や皮質下性認知症などの脳血管障害の病態解明に貢献できると思われる。

## 研究業績（老年病研究部）

### 1.論文発表

#### 1.原著

（英文）

Naoi M, Maruyama W.

Monoamine oxidase inhibitors as neuroprotective agents in age-dependent neurodegenerative disorders.

**Curr Pharm Des.** 2010;**16(25):2799-817.**

Ikeda R, Imai Y, Maruyama W, Mizoguchi K. Systemic disorders of calcium dynamics in rats with adenine-induced renal failure: implication for chronic kidney disease-related complications. **Nephrology** 15: 54-62, 2010.

Kim SS, Choo DW, Shin D, Baek HJ, Kim TH, Motoyama N, De Coster BM, Gueulette J, Furusawa Y, Ando K, Cho KH:

In vivo radiobiological characterization of proton beam at the National Cancer Center in Korea: Effect of the CHK2 mutation.

**Int J Radiat Oncol Biol Phys** 79: 559-562, 2011.

Niida H, Murata K, Shimada M, Ogawa K, Ohta K, Suzuki K, Fujigaki H, Khaw AK, Banerjee B, Hande MP, Miyamoto T, Miyoshi I, Shirai T, Motoyama N, Delhase M, Appella E, Nakanishi M.

Coperative functions of Chk1 and Chk2 reduce tumor susceptibility in vivo.

**EMBO J** 29: 3558-3570, 2010.

Hirai M, Hiramatsu Y, Iwashita S, Otani T, Chen L, Li YG, Okada M, Oie K, Igarashi K, Wakita H, Seno M:

E-selectin targeting to visualize tumors in vivo.

**Contrast Media & Molecular Imaging**, 5: 70-77, 2010

Takahashi K, Adachi K, Kunimoto S, Wakita H, Takeda K, Watanabe A

Potent inhibitors of amyloid b fibrillization, 4,5-dianilinophthalimide and staurosporine aglycone, enhance degradation of preformed aggregates of

mutant Notch3.

**Biochemical and Biophysical Research Communications 402(1):  
54-58**

Minagawa H, Watanabe A, Akatsu H, Adachi K, Ohtsuka C, Terayama Y, Hosono T, Takahashi S, Wakita H, Jung CG, Komano H, Michikawa M  
Homocysteine, another risk factor for Alzheimer's disease, impairs apolipoprotein E3 function.

**Journal of Biological Chemistry 285(49): 38382-38388**

Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M: Dental pulp derived CD31-/CD146- side population stem/progenitor cells enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats.  
**Tissue Engineering Part A. Feb 15, 2011, Epub ahead of print.**

2. 総説

なし

3. 著書、Chapters

なし

4. その他

なし

5. 新聞・報道,等

なし

5. 特許申請、取得状況

なし

6. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

本山 昇

DNA損傷応答と老化

第52回日本老年医学会学術集会, 6月25日, 神戸

脇田英明

血管性認知症の実験モデル

第 29 回日本認知症学会学術集会 (シンポジウム 1 血管性認知症のニューホライズン) 2010 年 11 月 5 日, 名古屋

## 2. 国際学会発表

Wakako Maruyama

Role of ageing on the pathogenesis of neurodegeneration. The First Workshop on Beneficial Marine Lipids as Ingredients for Functional Foods.

April 26, Tokyo, Japan

Wakako Maruyama

The role of lipid peroxidation in ageing-related neurodegeneration, and the possible prevention by food factors.

The Second Workshop on Beneficial Marine Lipids as Ingredients for Functional Foods.

Oct 31- Nov. 4 Wellington New Zealand.

Shinsuke Hisaka, Yoshimi Hayashi, Masayo Shamoto-Nagai, Yoji Kato, Hiroyasu Akatsu, Mitsuhiko Nose, Wakako Maruyama, and Toshihiko Osawa

Propanoylation of amyloid  $\beta$  is trigger to the aggregation and enhanced its neurotoxicity.

Society for Free Radical Biology and Medicine (SFRBM)' s 17th Annual Meeting (Orlando, Florida, USA) 2010 年 11 月

Matsumot-Ohya M, Suzuki K, Ohta K, Young SG, Motoyama N:

Extended lifespan of *Zmpste24*<sup>-/-</sup> mice, a model mouse for Hutchison-Gilford Progeria Syndrome (HGPS), in a Chk2-null background.

Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on "Molecular Genetics of Aging", 9月30日, Cold Spring Harbor, NY, USA

Yanagino T, Furukawa-Hibi Y, Iemura S, Natsume T, Watanabe K, Maruyama W, Motoyama N:

Selective dephosphorylation of FOXO by PP2A mediates cellular oxidative

stress response.

Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on “Molecular Genetics of Aging”,  
9月30日, Cold Spring Harbor, NY, USA

Yoshizaki K, Wakita H, Osumi N

Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in  
depressive phenotypes

The 40th annual meeting of Society for Neuroscience

November 13-17, 2010, San Diego

### 3. 国内学会発表

柳野卓也、日比陽子、伊藤雄貴、家村俊一郎、夏目 徹、渡辺研、丸山  
和佳子、本山 昇

酸化ストレスによるフォークヘッド型転写因子FOXO の活性化メカニズ  
ムの解析.

第33回日本基礎老化学会, 6月18日, 名古屋

稲葉桂子、直井信、丸山和佳子、永井雅代

B型モノアミン酸化酵素阻害剤による神経保護剤による神経保護の機序に  
はモノアミン酸化酵素が関与する

Neuro2010 第53回日本神経化学会 2010.9.2 神戸

永井雅代、能勢弓、直井信、丸山和佳子

不飽和脂肪酸は神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞の酸化ストレスと細胞死を誘  
導する

Neuro2010 第53回日本神経化学会 2010.9.3 神戸

國本正子、渡辺淳、足立香代、松崎三記子、武田和也、脇田英明、Rajesh  
N. Kalaria, 丸山和佳子、高橋憲吉

CADASILモデルとしての変異NOTCH3ノックインマウスの作成と解析

Neuro2010 第20回日本神経科学会 2010.9.4 神戸

渡辺 淳、足立香代、國本正子、武田和也、脇田英明、丸山和佳子、高橋  
慶吉

ヒト変異Notch3重合体の分解促進剤のスクリーニング

第29回日本認知症学会学術集会, 11月5日-11月7日, 名古屋

大矢 恵、鈴木今日子、大田久美子、早川智久、Stephen G Young、丸山和佳子、本山 昇

Hutchson-Gilford Progeria Syndrome モデルマウスの寿命制御における Chk2 を介した DNA 損傷応答の関与.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

永井雅代、能勢弓、直井信、大澤俊彦、丸山和佳子

Alpha-synuclein は不飽和脂肪酸による酸化ストレス障害を抑制することでドパミン神経を保護する。

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

星野文彦、渡辺修、呉暁紅、瀧本陽介、竹内征夫、丸山和佳子、大澤俊彦

抗体チップを用いた尿中酸化ストレスマーカーの測定.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会), 12 月 9, 10 日, 神戸

Yanagino T, Hibi Y, Ito Y, Maruyama W, Motoyama N

PP2A protects cells from oxidative stress by selective dephosphorylation of FOXO.

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会)、12 月 9, 10 日、神戸

丹伊田 浩行, 村田 和大, 島田 緑, 小川 久美子, 鈴木 今日子, 藤垣 秀和, Aik Kia Khaw, Birendranath Banerjee, M. Prakash Hande, 宮本 智美<sup>7</sup>, 三好 一郎, 白井 智之, 本山 昇, Mireille Delhase, Ettore Appella, 中西 真

Chk1 と Chk2 の協調的な機能が生体内の発癌を抑制する

BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会)、12 月 8, 9 日、神戸

早川智久

SIRT1 による Senescence Associated Secretory Phenotype (SASP) の発現制御.

第 4 回 Frontier of cardiovascular disease and metabolic syndrome research (FANTASY), 2月5日、東京

Yanagino T

Protein phosphatase PP2A-mediated activation of FOXO promotes cellular resistance to oxidative stress.

第 3 回 NAGOYA グローバルリトリート、2月25日、大府

Hayakawa T

SIRT1 suppresses senescence-associated secretory phenotype (SASP) during cellular senescence.

第 3 回 NAGOYA グローバルリトリート、2月25日、大府

脇田英明、足立香代

セレクチンを標的としたリポソームによる細胞接着分子抑制効果の検討  
第 35 回日本脳卒中学会総会, 2010年4月16日, 盛岡

脇田英明、足立香代

E-selectin を標的としたリポソームによる細胞接着分子阻止とグリア細胞活性化の抑制

第 51 回日本神経学会総会, 2010年5月21日, 東京

Yoshizaki K, Wakita H, Osumi N

Chronic cerebral hypoperfusion might affect stress vulnerability in depressive phenotypes

第 33 回日本神経科学大会, 2010年9月2-4日, 神戸

脇田英明、足立香代、武田和也、國本正子、渡邊淳、丸山和佳子

マウス血管性認知症モデルに対する Sialyl Lewis X 結合リポソームの有効性の検討

第 29 回日本認知症学会学術集会, 2010年11月5、6日, 名古屋

足立香代、國本正子、武田和也、渡邊淳、脇田英明、丸山和佳子

血管性認知症モデルマウスを用いた抗 E-selectin 抗体による治療法の有効性の検討

第 29 回日本認知症学会学術集会, 2010年11月5、6日, 名古屋

#### 4. その他、セミナー等

丸山和佳子

Neuro2010 第53回日本神経化学会 2010. 9. 1 神戸

若手研究者育成セミナー 「臨床研究とはどうあるべきか」

丸山和佳子

40 2010 8. 5 名古屋

美と健康のための食事-あたまで食べよう-

丸山和佳子 2010

第一回ブレインフーズ研究会 脳の老化を制御する食品成分

本山 昇

アポトーシス・ストレス応答

名古屋大学医学部講義「免疫と生体防御」. 5月7日

本山 昇

DNA 損傷応答：がんと老化

長崎大学医学部講義「病理学総論」. 5月11日、長崎

本山 昇

酸化ストレス・DNA 損傷応答の制御メカニズムと老化.

長崎大学大学院医歯薬総合研究科大学院セミナー. 5月10日、長崎

#### 7. 公的研究費

##### 1. 文部科学省

丸山和佳子, (代表) 100 万円 (総額 320 万円)

科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究

老化シグナルを制御し、神経変性を予防する食品由来成分の開発

脇田英明 (代表) 130 万円 (総額 130 万円)

基盤研究 (C)

セレクチンを標的とするリポソームを用いた脳虚血での血管内皮細胞  
活性化機構の解析

## 2. 財団、その他

丸山和佳子, (分担) 一括計上

戦略的国際科学技術協力推進事業

機能性食品素材としての海産脂質の有用性

丸山和佳子(分担) 220 万円

地域イノベーション創出研究開発事業

抗体チップを用いた未病検査システムの開発

丸山和佳子 (分担) 250 万円

carnosine 高含有トリ胸肉抽出物 (CBEX) による虚弱高齢者の生活機能改善効果に関する基礎的、臨床的研究

日本ハム株式会社