

老化機構研究部

(1) 構成員

部長 丸山 光生

室長

代謝研究室 杉本 昌隆 (～9月)

免疫研究室 直江 吉則

流動研究員

坂部 勇

飯島 順子

川岸 裕幸 (6～9月)

外来研究員

本多 三男 (12月～)

客員研究員

丸山 直記

研究生

津田 玲生 (～6月)

林 永美 (～6月)

山崎 泰豊 (～6月)

中村 英亮

武藤 俊亮

島田 貴志 (6月～)

研究参加

勝見 章

研究補助員・事務補助員

木村 広美

早川 朋子

菊池 エミ (6月～)

浅井 小百合

佐藤 裕美

小林 さやか

(2) 平成22年度研究活動の概要

平成22年4月より独立行政法人化に伴い、生体機能研究室が姿を消し、今年度は部長グループを含めて2研究室3研究グループ体制で新たなスタート

を迎えた。しかしその後も9月末で代謝研究室が空席になるなど、部内の異動が多く、組織の変化とともに名実ともに新体制で加齢に伴って生ずる心身の変化の機構に着目した老化のメカニズムについて分子、細胞、組織、個体レベルでの研究を進めた。具体的に以下のような成果を示すことができた。①免疫老化関連遺伝子として同定している Zizimin2 遺伝子欠失マウスを用いて、加齢に伴う免疫力の低下により、高齢者において重篤化する症例が多いことが知られているインフルエンザウイルス感染における重篤化と加齢軸との関連を個体レベルで検討した。②免疫研究室では若齢、高齢マウスから得たT細胞のcDNAマイクロアレイを用い、ヘルパーT細胞分化におけるマスター転写因子である Th-POK 標的探索を行い、ヘルパーT細胞機能発現に必須でかつ加齢により遺伝子発現が変化する遺伝子の探索を行った。③代謝研究室では近年癌抑制機構との関わりが注目されている細胞老化関連タンパク質 ARF について p53 を介した細胞増殖停止だけでなく VEGFA の発現を抑制することにより非細胞自立的な増殖制御を行う可能性あること、ARF タンパク質は加齢と共に様々な組織で発現が亢進することから、加齢に伴う血管新生能の低下に ARF による VEGFA 抑制が関与している可能性が示した。

部長グループ：丸山光生、坂部 勇、飯島順子

○ 加齢に伴う免疫機能低下の分子機構の解明に関する研究

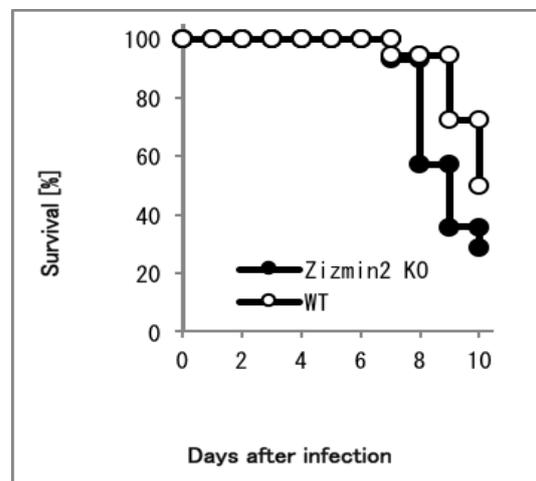
研究目的と背景

加齢・老化に伴って神経、内分泌系等他の生体機能系と同様に近年、獲得免疫系、自然免疫系に加えて、腸管免疫系（腸内フローラと自己免疫疾患、生活習慣病、感染症を含む各種疾患との関連性）が注目されており、健康高齢者においても日常生活の中で免疫能の低下を予防する手立てが提唱できれば、疾患療養中の高齢者も含めた、感染等に対するリスクの軽減を目指した免疫動態を客観的に評価し、その予防や賦活化に有効な方策を検討していくことを目的とする。

研究結果と考察

免疫老化関連遺伝子の1つであると同定した Zizimin2 (Ziz2) の免疫系に関する分子機構を明らかにするために、22年度は Ziz2 遺伝子欠失 (Ziz2KO) マウスを用いた Zizimin ファミリー遺伝子の機能的補完の可能性、T、B リンパ球の質や量的な変化、あるいは獲得免疫系における抗原刺激後の免疫グロブリン産生、サイトカイン産生等を中心に検討しはじめた。また高齢者において重篤化する症例が多いことが知られているインフルエンザウイルス感染における重篤化と加齢軸との関連についても検討した。実際には Ziz2KO マウスまたは野生型 (WT) マウスに、PBS で 1,000pfu/50ml に希釈したインフルエンザ A ウイルス (A/PR /8/34(H1N1))

をイソフルラン麻酔下で経鼻的に投与し、ウイルス感染後の体重変化及びマウス生存率を観察することで、インフルエンザウイルス感染後の症状の重篤化に対する Ziz2 の関与を検討・評価した。結果、WT マウス (18匹) と比較して、Ziz2KO マウス (14匹) の生存率の増悪化が観察された (図)。今後はウイルスの感染部位である肺組織におけるウイルス量、炎症性サイトカインの産生量の測定、並びに各種炎症細胞浸潤の程度を評価する事により、Ziz2KO マウスでの重篤化の原因について詳細な解析を進めていく必要がある。また、非致死量のウイルスを1度感染させた Ziz2KO マウスを用いて、ウイルス再感染時の免疫応答に対する Ziz2 の役割、特にメモリー細胞産生・機能解析を中心に、更なる検討を進めていくことも免疫系の老化と Ziz2 遺伝子の機能との関連を明らかにしていく



上では重要であると考えている。

代謝研究室：杉本昌隆、川岸裕幸、中村英亮

○ 細胞老化に関わるチェックポイントタンパク質の機能解析

ヒトを含む哺乳動物の殆どの体細胞は限られた分裂寿命を持ち、やがて細胞老化と呼ばれる恒久的な細胞増殖停止状態に陥る。細胞老化は生体において極めて重要な癌抑制機構として機能していることが知られていたが、近年ではさらに個体老化に伴う様々な組織の機能低下に関与することが指摘されている。

細胞老化は *INK4a*/*ARF* 遺伝子座にコードされる癌抑制タンパク質 $p16^{INK4a}$ および $p19^{ARF}$ が重要な役割を果たしている。*ARF* タンパク質は別の癌抑制タンパク質 *p53* のユビキチン化を行う酵素 *Mdm2* に直接結合し、その活性を阻害することにより *p53* タンパク質を安定化する機能を持つ。*ARF* または *p53* 遺伝子を欠損したマウスの細胞は分裂寿命を持たず、またヒトにおいても不死化した癌細胞では *ARF* もしくは *p53* の何れかは必ず失活していることが知られている。さらに *ARF* タンパク質の機能は単純に *p53* だけに依存しないことが我々を含む複数のグループの解析により明らかになっている。

我々は以前に *ARF* タンパク質が mRNA の翻訳系に影響を与えることを報告した。我々はさらに *ARF* タンパク質によって影響を受ける mRNA を探索し、*VEGFA* mRNA が *ARF* タンパク質によって翻訳抑制されること

を見出した。この *ARF* タンパク質による翻訳抑制は *p53* 非存在下でも同様に観察されることから、*p53* 非依存的な *ARF* タンパク質の機能であることが明らかになった。*VEGFA* は腫瘍内の血管新生を誘導することにより腫瘍の発達を促進する機能を持ち、多くの固形腫瘍においてその発現が亢進していることが知られている。そこでマウスを用いて腫瘍移植実験を行ったところ、*ARF* タンパク質を発現させた腫瘍を移植したマウスでは、腫瘍内血管新生の著しい低下と共に腫瘍の発達に遅延が認められた。さらにヒト大腸癌においても、*ARF* タンパク質を発現している群では有意に腫瘍内の血管密度が低いことから、ヒトにおいても同様に *ARF* タンパク質が血管新生を抑制していることが考えられる。

以上、*ARF* タンパク質は *p53* を介した細胞増殖停止だけでなく *VEGFA* の発現を抑制することにより非細胞自立的な増殖制御を行う可能性が示唆された。老齢マウスでは *VEGF* の減少により血管新生の低下が認められるが、*ARF* タンパク質は加齢と共に様々な組織で発現が亢進することから、加齢に伴う血管新生能の低下に *ARF* による *VEGFA* 抑制が関与している可能性が考えられる。

参考文献

免疫研究室：直江吉則、

○ ヘルパーT細胞分化ならびに機能発現に関する研究

高齢者の肺炎による死亡の割合が高いのは高齢者の免疫が加齢に伴い低下し、インフルエンザ、緑膿菌および肺炎球菌等の感染症に対する抵抗力が減弱するためと考えられている。

免疫は大きく分けて自然免疫と獲得免疫に分けることができる。さらに獲得免疫は細胞性免疫ならびに液性免疫に分けることができ、細胞性免疫はヘルパーT細胞が細胞障害性T細胞、NK細胞、マクロファージや顆粒球細胞およびマクロファージを活性化し起きる免疫反応でウイルス感染細胞やがん細胞を除去する。一方、液性免疫はヘルパーT細胞がB細胞を活性化し、抗体が中心となる免疫系で細胞外の寄生虫を除去する。これらの免疫系が複雑に相互作用し生体内で病原体やがん細胞を認識、殺滅することにより生体を病気から保護する。しかしながら加齢に伴いこれら免疫系が大きく変化することから免疫力が低下すると考えられている。その変化として自然免疫および獲得免疫を担当するT細胞、B細胞、NK細胞、マクロファージや顆粒球等の細胞数ならびに増殖能が減少することが報告されている。これらは細胞増殖・老化として多くの研究者が研究を行っているテーマである。一方、末梢においてT細胞の総細胞数が加齢によって変化しな

いことも報告されている。このことは加齢に伴うT細胞の活性低下は、細胞数の減少によるものではなく、T細胞の機能そのものが低下していることを示唆し、実際にT細胞からのインターロイキン-2 (IL-2), IL-4 およびインターフェロン γ 等のサイトカイン産生の低下、CD25 および CD44 活性化マーカーの発現低下ならびにヘルパー機能の加齢に伴う低下が報告されている。しかしながら、細胞増殖・老化研究と比べて、多くの成果が得られていないのが現状である。これは、T細胞機能がどのような機序によって発揮されるか詳細な分子メカニズムが明らかになっていないため、加齢に伴う免疫機能低下の機序解明を困難にしている。

そこで、我々は幼若ならびに高齢マウスから得たT細胞の遺伝子発現をcDNAマイクロアレイを用いて調べ、さらにヘルパーT細胞分化におけるマスター転写因子であるTh-POK標的探索を行い、ヘルパーT細胞機能発現に必須な遺伝子かつ加齢により遺伝子発現が変化する遺伝子の探索を行った。その結果、加齢に伴う免疫低下に関与する66個の候補遺伝子の絞り込みに成功し、それら遺伝子の機能はT細胞分化ならびに活性化、酸化酵素活性および細胞死に関与することが判明した。

研究業績（老化機構研究部）

I.論文発表

1.原著

Sakaguchi S, Hombauer M, Bilic I, Naoe Y, Schebesta A, Taniuchi I, Ellmeier W.
The zinc-finger protein MAZR is part of the transcription factor network that controls the CD4 versus CD8 lineage fate of double-positive thymocytes.
Nat Immunol. 11(5): 442-428. 2010

Jia Y, Asai A, Sakabe I, Maruyama M.

Rat monoclonal antibodies against new Guanine nucleotide exchange factor, mouse zizimin2.
Hybridoma. 29(3): 205-209, 2010.

Ito T, Takii T, Maruyama M, Hayashi D, Wako T, Asai A, Horita Y, Taniguchi K, Yano I, Yamamoto S, Onozaki K.
Effectiveness of BCG vaccination to aged mice. Immun Ageing. 7: 12-15, 2010

Kawagishi H, Nakamura H, Maruyama M, Mizutani S, Sugimoto K, Takagi M, Sugimoto M.

ARF suppresses tumor angiogenesis through translational control of VEGFA mRNA. Cancer Res.70, 4749-4758, 2010

2.総説

川岸裕幸、丸山光生、高木正稔、杉本昌隆

癌抑制・細胞老化因子 ARF が引き起こす血管新生抑制及び疾患との関わり.
基礎老化研究, 34(3);19-21,2010

3.著書

坂部 勇、飯島順子、丸山光生：

完全版マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック「第6部 老化 32章 老化促進モデル」秋山徹・奥山隆平、河府和義編、羊土社、500-514、2010

4.その他

なし

5. 新聞・報道等

なし

6. 特許申請、取得状況

なし

II. 学会・研究会等発表

1. シンポジウム、特別講演

津田玲生

「細胞増殖と分化における G1 期制御」 The First Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate 浜松医科大学 多目的ホール 2010 年 5 月 14 日 浜松

杉本昌隆

Post-transcriptional regulation of the p53 pathway

第 33 回日本基礎老化学会 シンポジウム 2010 年 6 月 17 日 名古屋

津田玲生、山崎泰豊、林 永美

核内因子 Ebi によるポリコーン複合体の機能調節機構

第 43 回日本発生生物学会 シンポジウム (Hot topics) 2010 年 6 月 21 日 京都

Maruyama M

Struggling researches in molecular mechanism of Aging

2010 Japan-Korea Joint Research Project Symposium, Tokyo, June 21, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Asai A, Iijima J

Functional analysis of a novel GEF, Zizimin2/DOCK11, and its role of Immunosenescence, 10th Korea-Japan Gerontologist Joint Meeting, Daejeon, Korea, July 1, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Iijima J, Naoe Y

Molecular mechanisms of functional decline in the immunosenescence

Asian Aging Core for Longevity Research and Education 2010 Jeju Conference, Jeju, Korea, August 23, 2010

2. 国際学会発表

Sakaguchi S, Hombauer M, Bilic I, Naoe Y, Schebesta A, Taniuchi I, and

Ellmeier W. The zinc finger protein MAZR is part of the transcription factor network that regulates CD4/CD8 cell fate decision of DP thymocytes
14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan. August 25, 2010

Maruyama M, Sakabe I, Asai A, Iijima J
Characterization of a novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in Immunosenescence. Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Meeting, New York, USA, September 30, 2010

Nakamura H, Kawagishi H, Watanabe A, Maruyama M, Sugimoto M
Post-transcriptional regulation of the p53 tumor suppressor, Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Meeting, New York, USA, September 30, 2010

Akatsu H, Nagafuchi S, Kurihara R, Okuda K, Takasugi S, Yamaji T, Takami M, Yamamoto T, Maruyama M
Effects of an enteral nutrition containing prebiotics on influenza vaccination in the elderly. Clinical Nutrition Week 2011, American Society for Parenteral and Enteral Nutrition meeting, Vancouver, Canada, January 30, 2011

3. 国内学会発表

飯島順子、Yanjun J, 坂部 勇、浅井あづさ、丸山光生
新規 GEF、Zizimin2/Dock11 の in vitro における機能解析と老化との関わりについて 第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

坂部 勇、飯島順子、直江吉則、丸山光生
免疫老化関連因子 Zizimin2/Dock11 の in vivo における機能解析
第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

赤津裕康、山本孝之、丸山光生
経腸栄養管理高齢者へのプレバイオティクス介入のインフルエンザ抗体価に及ぼす影響 第 33 回日本基礎老化学会 2010 年 6 月 17 日 名古屋

津田玲生

加齢性難聴の発症メカニズム解析
日本基礎老化学会第 33 回大会 ワークショップ 2010 年 6 月 17 日 名古屋

Iijima J, Sakabe I, Asai A, Maruyama M.

Functional analysis of novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in immunosenescence.

第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学大会合同大会 BMB2010
2010 年 12 月 9 日 神戸

赤津裕康、永瀨真也、栗原リナ、奥田研爾、山地健人、高見正雄、山本孝之、丸山光生 経腸栄養成分が高齢者の獲得免疫／インフルエンザ抗体価に及ぼす影響 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月17日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、清水金忠、松山善次郎、栗原リナ、小川康一、奥田研爾、山本孝之、丸山光生 プロバイオティクスの経腸栄養管理高齢者への応用〜ビフィズス菌長期投与による生体防御改善 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月17日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、山本孝之、丸山光生

高齢経腸・静脈栄養管理患者における腸内菌叢及びインフルエンザ抗体価と栄養状態の検討 第 26 回日本静脈経腸栄養学会 2011 年 2 月 18 日 名古屋 国際会議場

赤津裕康、遠山友紀子、丸山光生、山本孝之

高齢者経管栄養管理におけるフラクトオリゴ糖 (FOS) 介入による腸管環境改善の試み 第26回日本静脈経腸栄養学会 2011年2月18日 名古屋 国際会議場

4. その他、セミナー等

丸山光生

「難病の克服に向けて」名古屋大学第 15 回鶴舞公開セミナー
2010 年 4 月 23 日.名古屋

丸山光生

「B細胞応答と免疫記憶」平成 22 年度名古屋大学医学部講義「免疫と生体防御」
名古屋大学医学部 2010 年 5 月 12 日.名古屋

丸山光生

「生体防御論」至学館大学 食物栄養科 3 年講義 2010 年 6 月 11 日 大府

丸山光生

「老化と免疫」

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 2010年6月23日 札幌

丸山光生

「分子・細胞レベルにおける老化のしくみの解明をめざして」

分子総合医学専攻 老化基礎科学講座 平成23年度名古屋大学大学院医学系研究科修士課程入試説明会 2010年7月10日 名古屋

丸山光生

「老化と癌化の最新の話題 - 細胞老化関連遺伝子 TARSH の臨床応用と肺癌の臨床研究」 金沢医科大学病院 第29回がん診療連携拠点病院研究会
2010年8月6日 金沢

丸山光生

「老化と免疫の研究の接点は??？」

ニチニチ製薬株式会社中央研究所 2010年8月10日 伊賀

丸山光生

「動物実験が教えてくれる老化と免疫のお話し」

日本実験動物協同組合研修会 2010年9月25日 東京

Maruyama M

Immunological regulation between aging and cell death

Virginia Commonwealth University, Virginia, USA, October 4, 2010

丸山光生

生体防御論 「老化と免疫」

藤女子大学 人間生活学部 食物栄養学科 第5限 2010年12月10日 石狩

Maruyama M

TARSH/Abi3bp, its putative role in tumor suppression or cellular senescence

Virginia Commonwealth University, Virginia, USA, January 27, 2011

Junko Iijima

Functional analysis of novel GEF, Zizimin2/DOCK11 and its putative role in

Immunosenescence 第3回 NAGOYA グローバルリトリート あいち健康プラ
ザ 2011年2月25日、大府

III. 公的研究費

1. 文部科学省

杉本昌隆, (分担) 50万円

文部科学省科研費 基盤研究 (C)

毛細血管拡張性小脳失調症責任遺伝子 ATM による細胞分化制御機構の解析

杉本昌隆, (代表) 190万円 (総額 190万円)

文部科学省科研費 若手研究 (B)

脂肪細胞特異的 mRNA 翻訳制御機構の解明とインスリン感受性調節における
役割

津田玲生, (代表) 360万円 (総額 720万円)

文部科学省科研費 特定領域研究.

細胞周期抑制因子による感覚細胞の生存維持機構

小川郁, (分担) 100万円

文部科学省科研費 基盤研究(B)

内耳の易受傷性と加齢変化に関する検討

2. 財団、その他

丸山光生 (分担) 20万円

私立大学等経常費補助金「特別補助」対象事業

種を越えて保存された新規がん抑制遺伝子ファミリー FAM107 分子の包括
的探索

直江吉則 (代表) 300万円 (総額 300万円)

公益財団法人 内藤記念科学振興財団

ヘルパーT細胞分化過程における選択的スプライシング発現機序の解析