

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590703

研究課題名(和文) 慢性疾患患者末梢白血球テロメア短縮とその近傍領域脱メチル化の関連について

研究課題名(英文) The relationship between telomere attrition and the subtelomeric methylation of peripheral leukocytes

研究代表者

前田 豊樹(まえだ とよき)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号：30264112

研究成果の概要(和文)：老化により脱メチル化した短テロメアが増加すること、50歳前後で、この変化率が急激に上昇することをつきとめ、種々の疾病状態において、この変化が早まることを見いだした。また、臨床検査値や患者の身体能力とテロメア関連パラメータの関連について解析すると、外来生活習慣病患者では、男性でクレアチニンとビリルビン値が、女性でヘモグロビンとアルブミン/グロブリン比が、また脳卒中男性入院患者では腎機能が、テロメア長や周辺のメチル化の変化と有意な相関関係を示した。女性慢性疾患患者では、身体能力とテロメア長が逆相関し、リハビリテーションによる身体回復効果とテロメア周辺のメチル化の程度が正相関することを見いだした。ヒトで、サブテロメア領域メチル化の解析によりある程度老化促進度を定量的に評価できる可能性を示した。培養系での確認では、老化促進因子として用いた過酸化水素とX線照射のいずれにおいても、通常の老化パターンと異なり、短いテロメアが消失する傾向にあった。そして、放射線や過酸化化合物添加などの有害作用に対して、細胞の自己防御反応としてテロメアラーゼ活性が高まるといった変化が見られた。このように個体レベルの老化と人為的な細胞レベルの老化とはテロメアの変化が異なっていた。

研究成果の概要(英文)：Increasing subtelomeric demethylation of short telomeres turned out to be an aging-associated telomeric change. This demethylation is accelerated after age of 50. This was also accelerated in various disease conditions. The telomere attrition with the subtelomeric demethylation correlated with some clinical laboratory data, serum creatinine and bilirubin in male patients with cerebrovascular disease, hemoglobin and albumin/globulin ratio in female patients with hypertension, physical ability of female patients with chronic diseases. The recovery of physical ability correlated with subtelomeric methylation. Thus, subtelomeric methylation can be a marker for aging as well as telomere length, or more useful to detect aging-acceleration. X-irradiation and hydrogen peroxide were used to accelerate aging-associated telomeric change in vascular endothelial cells in vitro. The telomeric changes in vitro were different from individual aging pattern of telomere length change. The cultured cells exposed to the harmful circumstances revealed an elevated telomerase activity as a cellular self-protective effect.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：老化制御学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般

キーワード：テロメア、サブテロメア、老化、DNAメチル化

1. 研究開始当初の背景

これまでヒトにおいて老化性の体細胞テロメア短縮の病的促進状態を短期間に捉える試みはなされてこなかった。

2. 研究の目的

テロメア長と周辺の DNA メチル化の連関を探りテロメア短縮速度のバロメータとできるかどうかを検証する

3. 研究の方法

種々の疾病に罹患した慢性疾患入院患者を対象に末梢白血球におけるテロメア長と周辺のメチル化をメチル化感受性と非感受性のアイソゾマーを用いてゲノムサザンプロット法で比較検討した。また、培養細胞系で臨床検体での結果の確認を試みた。

4. 研究成果

本研究では疾病の老化への影響を、末梢白血球のテロメア DNA 長関連の変化として定量し、病状を老化の促進の尺度で捉え、その変化の治療効果判定への応用を目的として、種々の病態とテロメア関連パラメータとの相関を検討した。老化により脱メチル化した短テロメアが増加すること、50 歳前後で、この変化率が急激に上昇することをつきとめ、変性疾患（パーキンソン病）肉芽腫性疾患（サルコイドーシス）などで、この変化が早まることを見いだした。さらには、疾病からはなれ、臨床検査値や患者の身体能力とテロメア長関連パラメータとの相関を検証した。これは日常診療の中で、ゲノムレベルでの老化を臨床検査値などから逆に推定することにつながる。まず、外来生活習慣病患者では、男性でクレアチニンとビリルビン値が、女性でヘモグロビンとアルブミン/グロブリン比が、また脳卒中男性入院患者では腎機能が、それぞれテロメア長や周辺のメチル化の変化と有意な相関関係を示した。また療養病棟入院中の女性患者では、身体能力とテロメア長が逆相関し、さらにリハビリテーションによる身体回復効果とテロメア周辺のメチル化の程度が正相関することを報告した。これらは、性別等の条件によって主たる老化指標が変わることを示す一方、ゲノム老化性変化を臨床現場で数値化して捉えうることも同時に示している。そして、リハビリによる回復などの治療効果推定指標にも用いられる可能性を示すことができた。これらのことはヒトにおける、疾病や身体状況により受ける老化への影響をテロメア長とサブテロメア領域メチル化の解析によりある程度定量的に評価できることを証明したことになる。これらの変化を培養系で確認することを試みたが、老化促進因子として用いた過酸化水素と X 線照射のいずれにおいて

も用いた培養細胞の生存率が低下するが、当初の予想に反して短いテロメアが消失する傾向にあり、通常老化パターンとは様相を異にしていた。このことは、短時間で急激な老化性変化がもたらされる場合と長時間かけて慢性的に進行する老化は、ゲノム老化性変化という点では相反する部分があるということを示している。更に解析を進めたところ、放射線や過酸化化合物添加などの有害作用に対して、細胞が、それに「抵抗」する変化と「障害」された変化が混在する結果となった。興味深いことに、軽微な程度の有害作用に対しては、テロメアラーゼ活性が高まり、テロメアが伸長する傾向が見られるといった従来とは逆の結果を確認した。これは、細胞に対して持続する軽微な有害作用によってむしろその老化性変化が抑制されるという、いわゆるホルミシス効果を支持する所見と考えられた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 27 件）

- 1) JZ Guan, T Maeda, M Sugano, J Oyama, Y Higuchi, N Makino. An analysis of the telomere length distribution in Parkinson's disease patients. *J Gerontol A Biol Sci and Med Sci* 63:467-473, 2008.
- 2) 工藤義弘, 尾山純一, 西山保弘, 前田豊樹, 池脇信直, 牧野直樹 温泉入浴による慢性心不全患者の心血管機能改善効果について日本温泉物理医学学会誌 71:234-240, 2008.
- 3) Y Higuchi, T Maeda, JI Oyama, N Makino. Diagonal Earlobe Creases Are Associated with a Shorter Telomere Length in Male Japanese Patients with Metabolic Syndrome - A Pilot Study- *Circ J* 73:274-279, 2009.
- 4) 前田豊樹 酸化的環境への適応不全としての「老化」とテロメア変容の関連の解析 適応医学 12:2-11, 2008.
- 5) M Sugano, Y Iwasaki, M Abe, T Maeda, K Tsuchida, N Makino. TNF-alpha employs a protein-tyrosine phosphatase to inhibit activation of hepatocyte growth factor receptor and hepatocyte growth factor-induced endothelial cell proliferation. *Mol Cell Biochem.* 322:113-117, 2009.
- 6) T Maeda, JZ Guan, JI Oyama, Y Higuchi, N Makino Age-related changes in subtelomeric methylation in the normal Japanese population. *J Gerontol A Biol Sci and Med Sci* 64:426-434, 2009.

- 7) T Maeda, JZ Guan, JI Oyama, Y Higuchi, N Makino Aging-associated alteration of subtelomeric methylation in Parkinson's disease. *J Gerontol A Biol Sci and Med Sci* 64:949-955, 2009.
- 8) 前田豊樹 老化と病気と DNA 別府市医師会報 40:4-5, 2009.
- 9) T Maeda, JZ Guan, JI Oyama, Y Higuchi, N Makino Aging-related alterations of subtelomeric methylation in sarcoidosis patients. *J Gerontol A Biol Sci and Med Sci* 64:752-760, 2009.
- 10) 牧野直樹、前田豊樹、尾山純一、樋口義洋 老化促進に作用する環境因子 日本臨床 67:1332-1336, 2009.
- 11) N. Makino, T. Maeda, JI Oyama, Y. Higuchi, K Mimori. Improving insulin sensitivity via activation of PPAR-gamma increases telomerase activity in the heart of OLETF rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 297:2188-2195, 2009.
- 12) JI. Oyama, T. Maeda, K. Kouzuma, R. Ochiai, I. Tokimitsu, Y. Higuchi, M. Sugano, N. Makino. Green Tea Catechins Improve Human Forearm Endothelial Dysfunction and Have Antiatherosclerotic Effects in Smokers. *Circ J.* 74:578-588, 2010
- 13) JI. Oyama, S. Satoh, N. Suematsu, T. Kadokami, T. Maeda, M. Sugano, N. Makino. Scavenging free radicals improves endothelial dysfunction in human coronary arteries in vivo. *Heart Vessels* 25:379-385, 2010.
- 14) T. Maeda, JI. Oyama, Y. Higuchi, T. Arima, K. Mimori, N. Makino. The correlation between the telomeric parameters and the clinical laboratory data in the patients with brain infarct and metabolic disorders. *J Nutr Health Aging* 14:793-797, 2010.
- 15) T. Maeda, JI Oyama, M. Sasaki, Y. Nishiyama, Y. Kudo, T. Yamori, T. Nakazono, T. Arima and N. Makino. The physical ability of elderly female Japanese patients with cerebrovascular disease correlates with the telomere length in their peripheral blood leukocytes. *Aging Clin Exp Res.* in press.
- 16) T. Maeda, JI. Oyama, Y. Higuchi, Y. Nishiyama, Y. Kudo, T Yamori, T. Nakazono, T. Arima, K. Mimori, N. Makino. The physical ability of Japanese female elderly with cerebrovascular disease correlates to the telomere length and subtelomeric methylation status in their peripheral blood leukocytes. *Gerontology* 57:137-143, 2010.
- 17) I. Salahshourifar, H. Karimi, T

- Tavakolzadeh, Z Beheshti, T. Maeda, H Aviv and H Gourabi. Constitutional telomeric dysfunction in an azoospermic male with extensive telomeric association. *Am J Med Genet* 152:2413-2416, 2010.
- 18) T Maeda, JI Oyama, M Sasaki, T Arima, N Makino. The correlation between the clinical laboratory data and the telomere length in peripheral blood leukocytes of Japanese female patients with hypertension. *J Nutr Health Aging* 15:240-244, 2011.
- 19) T Maeda, JI Oyama, M. Koyanagi, Y Higuchi, M Sasaki, K Mimori, T Arima, N Makino. The correlation between clinical laboratory data and telomeric status of male patients with metabolic disorders and no clinical history of vascular events. *Aging Male* 14:21-26, 2011.
- 20) 前田豊樹、牧野直樹. 女性高血圧患者における血液検査値と末梢血テロメア長の相関について 日本老年医学会雑誌 47:573-577, 2010.
- 21) 前田豊樹, 小柳雅孔, 尾山純一, 樋口義洋, 牧野直樹 種々の臨床検査値と末梢血白血球テロメア関連パラメータとの連関の解析 適応医学 14:50-59, 2011.
- 22) 前田豊樹, 牧野直樹、高血圧患者におけるアムロジピン錠「EMEC」の臨床的検討 *Prog Med.* 30, 3143-3152, 2010.
- 23) JI Oyama, T Maeda, M Sasaki, K Kozuma, R Ochiai, I Tokimitsu, S Taguchi, Y Higuchi, N Makino. Green tea catechins improve human forearm vascular function and have potent anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in smokers. *Intern Med.* 49:2553-2559, 2010.
- 24) N Makino, T Maeda T, JI Oyama, M Sasaki, Y Higuchi, K Mimori, T Shimizu. Antioxidant Therapy Attenuates Myocardial Telomerase Activity Reduction in Superoxide Dismutase-Deficient Mice. *J Mol Cell Cardiol.* 50:670-677, 2010.
- 25) N Makino, M Sasaki, T Maeda, K Mimori. Telomere biology in cardiovascular disease - role of insulin sensitivity in diabetic hearts. *Exp Clin Cardiol.* 15:128-133, 2010.
- 26) T Maeda, R Kurita, T Yokoo, K Tani, N Makino. Telomerase inhibition promotes an initial step of cell differentiation of primate embryonic stem cell. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* in press.
- 27) JZ Guan, WP Guan, T Maeda, N Makino The effect of vitamin E administration on the elevated oxygen stress and the telomeric and subtelomeric status in Alzheimer's disease. *Gerontology.* in press.

[学会発表] (計 15 件)

- 1) 前田豊樹 九州大学病院別府先進医療センター療養病床の現状について 平成 20 年別府市医師会学術講演会(2008 年 2 月 23 日 別府)
- 2) 前田豊樹、牧野直樹 サブテロメア領域のメチル化の加齢性変化について 第 18 回日本老年医学会九州地方会(2008 年 3 月 1 日福岡)
- 3) 前田豊樹、牧野直樹 ゲノム DNA の加齢性変化と疾病 第 12 回日本適応医学会 シンポジウム (2008 年 6 月 6 日 別府)
- 4) 前田豊樹 環状 DNA 解析による脳組織内体細胞ゲノム DNA 組換え領域の同定 第 12 回日本適応医学会(2008 年 6 月 7 日 別府)
- 5) 前田豊樹 パーキンソン病患者末梢白血球サブテロメア領域のメチル化解析 第 50 回日本老年医学会学術集会(2008 年 6 月 20 日千葉)
- 6) 前田豊樹 生活習慣病としての高血圧について 第 8 回九州大学病院別府先進医療センター市民公開講座(2008 年 6 月 21 日 別府)
- 7) 前田豊樹 老化と病気と DNA 別府医師会メディカルセミナー(2008 年 10 月 18 日 別府)
- 8) 前田豊樹 Ageing-related telomeric change and its acceleration by disease conditions The 2nd Global COE International Symposium joint with the 18th Hot Spring Harbor Symposium of Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University (2008 年 11 月 8 日 Fukuoka)
- 9) 療養病床入院患者末梢血白血球テロメア長の解析 第 19 回日本老年医学会九州地方会 (2009 年 3 月 6 日 宮崎)
- 10) 療養病床入院患者における種々の臨床検査値と末梢血白血球テロメア長の相関について 第 51 回日本老年医学会学術集会 (2009 年 6 月 20 日 横浜)
- 11) T Maeda, JI Oyama, Y Higuchi, N Makino. Telomeric and subtelomeric structural change with aging in chronically ill patients XIXth IAGG World Congress of gerontology and geriatrics(2009 年 7 月 6 日, Paris)
- 12) 前田豊樹、牧野直樹 : 女性高血圧患者における各種臨床検査値と末梢血白血球テロメア長の相関の検討 第 19 回日本老年医学会九州地方会 (2010 年 3 月 13 日熊本)
- 13) 前田豊樹、尾山純一、樋口義洋、牧野直樹 高血圧治療中女性患者における各臨床検査値と末梢血白血球テロメア長の相関の検討 第 107 回日本内科学会総会・講演会 (2010 年 4 月 10 日 東京)
- 14) 療養病床における女性脳卒中入院患者の身体機能と末梢血白血球テロメア長関連パラメータの相関について 前田豊樹、牧野直樹 第 52 回日本老年医学会学術集会 (2010 年 6 月 25 日 神戸)
- 15) 前田豊樹、牧野直樹 外来男性生活習慣病患者における臨床検査値と末梢白血球テロメア長の相関の検討 第 21 回日本老年医学会九

州地方会 (2011 年 3 月 5 日 福岡)

〔図書〕 (計 1 件)

Genetic Recombination Research Progress ed. Jacob H. Schulz (Chapter 12 Genomic DNA rearrangement in brain pp299-313) 2008. Nova Science publishers, Inc.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/mib/divisions/mcb_mcg.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 豊樹 (MAEDA TOYOKI)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号 : 3 0 2 6 4 1 1 2

(2) 研究分担者

牧野 直樹 (MAKINO NAOKI)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号 : 6 0 1 5 7 1 7 0

樋口 義洋 (HIGUCHI YOSHIHIRO)

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号 : 4 0 4 0 4 0 3 2

尾山 純一 (OYAMA JUNICHI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号 : 3 0 3 5 9 9 3 9

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :