

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 26 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21300261

研究課題名（和文） 免疫、炎症、老化に関するバイオマーカーの機能解析

研究課題名（英文） Biological significance of biomarkers on immunity, low-grade inflammation and aging.

研究代表者 小川 貴志子 (OGAWA KISHIKO)

東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：20508676

研究成果の概要（和文）：本研究課題は、老年病に係る新しいバイオマーカーの発見を目的として行った。疫学解析により血漿中熱ショックタンパク質(eHSP)70 が、脳梗塞、心筋梗塞、癌などの疾病だけでなく、サルコペニアや認知症ともよく関連し、これらの早期発見及び病態のメカニズム解明の一助となる情報を得ることができた。さらに、高強度有酸素運動を用い、生体での eHSP7 分泌メカニズムを解明し、この分泌トリガーが血中 ATP であることを発見した。

研究成果の概要（英文）：The object of the present study was to identify new plasma or serum biomarkers for gerontology based on epidemiological analysis. We found that eHSP70 was related with sarcopenia and very mild dementia and that beta2-microglobulin was related with frailty. Our findings could be applied to the development of a screening tool to distinguish these aging disorders. In addition, we found a mechanism of HSP70 release using high intensity aerobic exercise, which results imply that ATP in plasma is a trigger of HSP70 release.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
22 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
23 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：総合

科研費の分科・細目：応用健康学

キーワード：加齢・老化、疫学、バイオマーカー、運動、サルコペニア、認知機能

## 1. 研究開始当初の背景

かつて血中脂質の上昇は動脈硬化症の主要因と考えられていたが、現在では血管内皮細胞での炎症が血管の脂質蓄積に大きく関与することが明らかになってきた。このように、炎症は様々な病態の要因として重要であるが、高齢者も若齢者に比べて免疫・炎症マーカーが高い。申請者らも、高齢者の腫瘍壊

死因子 (Tumor necrosis factor:TNF- $\alpha$ ),C-ReactiveProtein(CRP),Interleukin(IL)-6, IL-8 及び熱ショックタンパク質 70(Heat shock protein:HSP70) などの免疫・炎症マーカーが若齢者より上昇していることを報告してきた (Ogawa et al.Immunity and Ageing.5.13.2008)。特に血漿中の HSP70 が高齢者で上昇していること

は、世界で初めて我々が明らかにしたものである。感染症の罹患や傷害による炎症がCRP, TNF- $\alpha$ , IL-6などのマーカーの急激な上昇とその治癒に伴う低下を示すのに対し、高齢者では、安静時であっても常に低レベルの免疫・炎症マーカーの上昇が観察される。このような、特に局所の炎症がなくても慢性的に軽度の炎症マーカーの上昇が観察される状態をlow-grade inflammationと名付け、近年、加齢や生活習慣病との関連が注目されている。申請者らは、軽度の筋力トレーニングは、筋量の増加だけでなく、後期高齢者においてもCRP, TNF- $\alpha$ , IL-6などの免疫・炎症マーカーを低下させることを報告し(Ogawa et al.<sup>8</sup>International Symposium of Exercise Immunology, Oct, 2007) (図 1,2)、また、これらの免疫・炎症マーカーは、高齢者における健康度自己評価や就学年数などの心理・社会的変数ともよく関連し、高齢者の死亡や介護の独立した危険因子であることも報告した(藤原, 吉田, 小川ら日本公衆衛生学会 2008)。

## 2. 研究の目的

免疫・炎症マーカーの中でも、CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6と生活習慣、栄養、運動との関連については、すでに内外で数多くの疫学研究が行われている。しかし、ベータ2ミクログロブリン( $\beta_2$ -Microglobulin:  $\beta_2$ -MG)や熱ショックタンパク質(heat shock protein:HSP)70などの最近注目されるようになった新しいバイオマーカーについては、その潜在的な重要性は認められているものの、生体での役割や制御機構について十分解明されていない。そこで、本研究は、これら新しいバイオマーカーの生体における新たな機能を決定することを目的に、(1) 各種疾病の発症との関連についての追跡研究、(2) 加齢(Ageing)との関連についての患者対照研究、(3)  $\beta_2$ -M 及びHSP70の制御機構の探索、を行おうとするものである。

## 3. 研究の方法

### (1) 地域住民基本健康診査に基づく疫学調査

基本健康診査を受診した640名の高齢者を対象にコホート集団を確定し、その集団における $\beta_2$ -M及びHSP70のサンプリング用の血液採取と現病歴、新規発症についての聞き取り調査、及び生化学検査を行い、疾病の種類、死亡、 $\beta_2$ -M、HSP70との関連を検討した。

### (2) 「物忘れ外来」患者を対象とした新しいバイオマーカーの意義に関する探索

東京都健康長寿医療センターの「物忘れ外来」に通院する患者54名と認知機能が正常と認められる健常な高齢者72名、合計126名を対象とした。認知機能は、MMSE (Mini-Mental Status Examination)、アミロ

イド $\beta$ イメージング脳画像及び医師によるCDR (Clinical Dementia Rating) スコアにより判定した。さらに、被験者全員の血液生化学検査を行った。

### (3) 高強度有酸素性及び無酸素性運動負荷試験を用いたバイオマーカーの制御機構解析

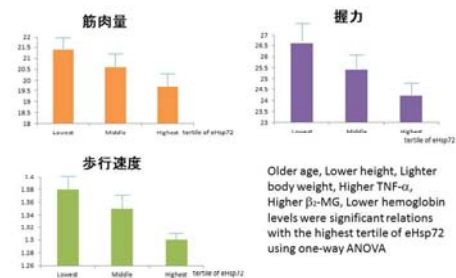
高強度有酸素性運動(70%最大酸素摂取量の強度で1時間にわたる自転車エルゴメーター運動)と高強度無酸素性運動(70%最大心拍数の強度の腕伸展運動10分間3セット)を行い、血漿中HSP70, ATP, ノルエピネフリン測定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 地域住民基本健康診査に基づく疫学調査

#### ① eHSP70のサルコペニアバイオマーカーとしての有用性

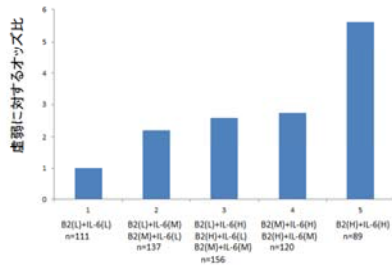
地域基本健康診査65歳以上の受診者640名について受診時保存血漿中eHSP70を測定し、男性より女性で血漿eHSP70が上昇しているが、80歳以上の高齢者では男女差がなくなりしかも他年齢群より低下することを確認した。さらに、脳梗塞、心筋梗塞、癌の被患歴の有る者はeHSP70が上昇しており、eHSP70がこれらの疾患と関連し、かつ早期発見のためのマーカーとして有用であることを確認した。また、eHSP70は、骨格筋量、握力、歩行速度ともよく関連し、筋肉量とその機能低下を示す廃用性症候群(サルコペニア)と関連することが示され、eHSP70の運動神経保護機能が高齢の筋肉減少を防ぐ可能性が示唆された。これらの結果は、高齢者におけるeHSP70の早期診断マーカーとしての有用性を示すものである



#### eHsp72の三分位とサルコペニア

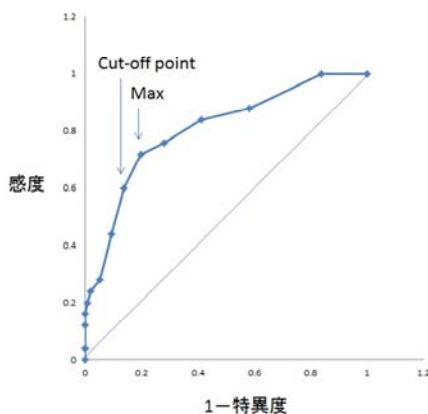
#### ② $\beta_2$ MGの虚弱マーカーとしての有用性

$\beta_2$ MGについては、血清IL-6濃度と組み合わせる場合、両濃度が高い者は「虚弱」であるオッズ比がコントロールに比べて5倍以上に上昇することが明らかになった。これは、虚弱が炎症のみならず、腎機能の低下を伴った場合、極めて誘発される可能性が上昇することを示唆したものである。



### 虚弱に対する炎症マーカーのリスク

この虚弱解析において、もう一つの発見は、「基本チェックリスト」を用いて虚弱を判定することが可能であることを示した点である。「基本チェックリスト」は、我が国の介護保険制度において特定高齢者候補を選定するために広く用いられているが、この「基本チェックリスト」を応用し、虚弱を判定する指標との併存的妥当性を検討した。その結果、「基本チェックリスト」による虚弱判定の cut-off point は 4/5 点で感度、特異度はそれぞれ 72.2%, 80.0%であった。現在、特定高齢者は「基本チェックリスト」10 点で選定されているが、半分の 5 点以上で虚弱の可能性があり、従来から用いられている「基本チェックリスト」10 点という基準は、将来の要支援・要介護の予測としては極めて厳しいと考えられた。また「基本チェックリスト」は虚弱判定など様々な汎用性があると考えられ、今後の活用が望まれる。



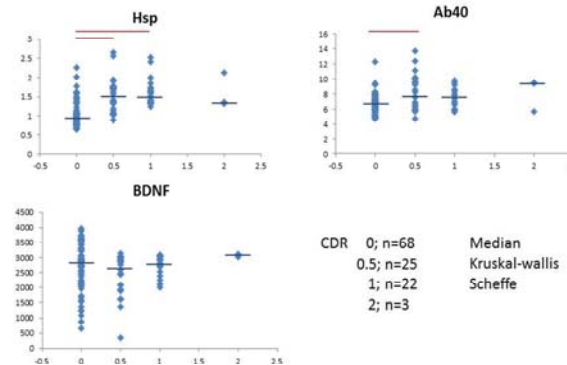
### Friedらの虚弱に対する基本チェックリストのROC曲線

### (2)「物忘れ外来」患者を対象とした eHSP70 の軽度認知症マーカーとしての有用性

「物忘れ外来」に通院する患者 54 名と認知機能が正常と認められる健常な高齢者 72 名、合計 126 名についてその血清及び血漿中

IL-6, TNF- $\alpha$ ,  $\beta$  アミロイド, CRP, 脳由来栄養因子(BDNF), HSP70 濃度を測定し比較した結果、HSP70 が軽度認知症判定に最も有用である可能性が示唆された。

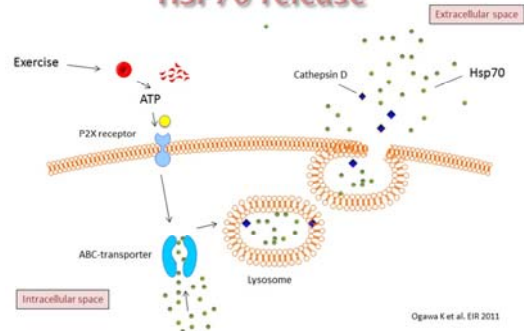
### 物忘れ外来患者のバイオマーカー



### (3)高強度有酸素性及び無酸素性運動負荷試験を用いたバイオマーカーの制御機構

分泌型 HSP70 は運動によって上昇することから、ストレスホルモンの分泌がトリガーとなり組織中の HSP70 が血中に放出されると考えられていた。しかし、運動の中でもエキセントリック運動では血中への HSP70 の放出が見られないことから、高強度有酸素性運動 (70% 最大酸素摂取量の強度で 1 時間にわたる自転車エルゴメーター運動) と高強度無酸素性運動 (70% 最大心拍数の強度の腕伸展運動 10 分間 3 セット) を行い、血漿中 HSP70 と ATP の測定を行ったところ、血漿中 HSP70 と ATP の値が有意に相関し、運動中の血球崩壊によって血中に放出される ATP が白血球中の HSP を血中に誘導することを明らかにした。これらの結果によりストレス反応としての HSP のメカニズムが解明された。

### Non-classical pathway of HSP70 release



Ogawa K et al. IJR 2011

## 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 11 件)

- ① Ogawa K., Kim H., Shimizu T., Abe S., Calderwood SK. Plasma heat shock protein 72 as a biomarker of sarcopenia in elderly people. *Cell Stress and Caperone*. 査読有 17(3), 2012, 545-552 doi: 10.1007/s12192-011-0310-6
- ② 小川貴志子、藤原佳典、吉田裕人、西真理子、金美芝、深谷太郎、天野秀紀、李相侖、渡辺直紀、新開省二. 「基本チェックリスト」を用いた虚弱判定と虚弱高齢者の血液生化学・炎症マーカーの特徴. *日本老年医学会誌*、査読有、48 (5)、2011, 545-552 ISSN: 0300-9173
- ③ 桜井良太、藤原佳典、齋藤京子、安永正史、金美芝、小川貴志子、鈴木克彦、西川武志、渡辺修一郎、新開省二: 温泉利用型健康増進施設を活用した介護予防型総合健康プログラムの開発. *老年医学会誌*、査読有 48(4) 2011, 352-360. ISSN: 0300-9173
- ④ 小川貴志子、阿部茂明. 唾液中分泌型免疫グロブリン A と疾病、食品摂取パターンおよび身体活動との関連. 全面発達の展開, 査読有、1(1), 2011, 42-52.
- ⑤ 小川貴志子, 新しい世界健康戦略への動き. 全面発達の展開, 査読無、1(1), 2011, 12.
- ⑥ Ogawa, K., Seta R., Shimizu T., Shinkai S., Nakazato K., and Takahashi K. Plasma adenosine triphosphate is a trigger of heat shock protein 72 release after exercise. *Exercise Immunology Review* 査読有 17, 2011, 136-149 PMID:21446356
- ⑦ Ogawa, K., Sanada K., Machida S., Okutsu M., Suzu K. Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. *Med Inflamm*. 査読有 12, 2010, 1-7, PMC3022197
- ⑧ Kotani Y., Shinkai S., Okamoto H., Toba M., Ogawa K., Yoshida H., Fukaya T., Fujiwara Y., Chaves PH., Kakumoto K., Kohda N. Oral intake of *Lactobacillus pentosus* strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Immun Ageing*. 査読有 2010, 7-11. PMC2936365.
- ⑨ Ogawa K. Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy

was associated with reduction of inflammatory markers in very old women. as an awarded symposist, European College of Sports Science, 査読有, 2009 6, 21-25

- ⑩ Ogawa K. Child Health Rights in Japan, The 3rd Uniform Report to CRC from Japanese NGOs and Citizens “Derived Childhood in Neo Liberalism Society”, 査読無 5.2010, 111-146

[学会発表] (計 33 件)

- ① Ogawa K., Fujiwara Y., Fukaya T., Simizu S., Kim H., Siga Y., Abe S. Cross-sectional study of elderly people in relation to plasma heat shock protein 72 levels. GSA 2011.11 in Boston
- ② 前場良太、藤原佳典、荒木厚、小川貴志子、安永正史、長沼亨、石井賢二、原博、西向めぐみ、岡崎具樹、松本英之. 血清プラスマローゲンの認知機能評価の血液バイオマーカーとしての有効性の検討. 日本認知症学会 2011.11 東京
- ③ 小川貴志子、藤原佳典、吉田裕人、西真理子、金美芝、深谷太郎、天野秀紀、李相侖、渡辺直紀、新開省二. 「基本チェックリスト」を用いた虚弱判定と虚弱高齢者の血液生化学・炎症マーカーの特徴. 日本公衆衛生学会. 2011.10 秋田
- ④ 吉田裕人、西真理子、小川貴志子、金美芝、村山洋史、藤原佳典、深谷太郎、新開省二. 虚弱指標 (Frailty Index) を用いた「虚弱」の予知因子に関する研究. 日本公衆衛生学会. 2011.10 秋田
- ⑤ 深谷太郎、藤原佳典、金憲経、齋藤京子、桜井良太、小林和成、田中千晶、渡辺修一郎、小川貴志子、鈴木克彦、吉田裕人、岡部たづる、干川なつみ、土屋由美子、新開省二. 温泉施設を活用した複合介入プログラム「すぷりんぐ」-介入終了1年後の状況-. 日本公衆衛生学会. 2011.10 秋田
- ⑥ 齋藤京子、藤原佳典、桜井良太、金憲経、深谷太郎、安永正史、金美芝、西川武志、小川貴志子、渡辺修一郎、鈴木克彦、田中千晶、吉田裕人、新開省二. 温泉施設を活用した複合介入プログラム「すぷりんぐ」-メタボ予防効果の検証. 日本公衆衛生学会. 2011.10 秋田
- ⑦ 金美芝、西真理子、村山洋史、吉田裕人、小川貴志子、藤原佳典、深谷太郎、新開省二. 地域在住虚弱高齢者における身体組成と身体機能との関係. 日本公衆衛生学会. 2011.10 秋田

- ⑧ 村山洋史、西真理子、金美芝、吉田裕人、小川貴志子、藤原佳典、新開省二。高齢期の虚弱予防に向けた複合的介入プログラムの作成と評価デザイン。日本公衆衛生学会。2011.10 秋田
- ⑨ 西真理子、吉田裕人、渡辺直紀、小川貴志子、金美芝、村山洋史、藤原佳典、深谷太郎、新開省二。地域在宅高齢者における虚弱の疫学的特徴および関連要因。日本公衆衛生学会。2011.10 秋田
- ⑩ 新開省二、渡辺直紀、吉田裕人、西真理子、村山洋史、藤原佳典、深谷太郎、小川貴志子、金美芝。虚弱指標の開発—「介護予防チェックリスト」の虚弱指標としての妥当性の検証—。日本公衆衛生学会。2011.10 秋田
- ⑪ 桜井良太、藤原佳典、金憲経、齋藤京子、安永正史、野中久美子、小林和成、小川貴志子、吉田裕人、田中千晶、内田勇人、鈴木克彦、渡辺修一郎、渡辺直紀、新開省二。温泉施設を活用した複合介入プログラム「すぷりんぐ」-介護予防型プログラムの検証。日本公衆衛生学会。2011.10 秋田
- ⑫ 野口司、宍戸洲美、富山芙美子、白澤章子、馬場富美子、外村幸子、齋藤静栄、山田澄子、松本順子、松本稜子、齋藤淳子、新谷チヨ子、古野桂子、舟見久子、中村富美子、小川貴志子。養護教諭の職務研究—IUHPE 会議での報告を通して得た成果と課題 2—「保健室からの学校づくり」。日本学校保健学会 2011.10 名古屋
- ⑬ 小川貴志子、清水孝彦、金憲経、阿部茂明。分泌型熱ショックタンパク質 72 の廃用性骨格筋萎縮マーカーとしての妥当性—地域在住高齢者の eHsp72 レベルに関する横断研究—。日本体力医学会 2011.9 下関
- ⑭ Ogawa K., Fujiwara Y., Fukaya T., Yoshida H., Shinkai S. The validity of plasma heat shock protein 72 as a biomarker of sarcopenia. ISEI. 2011.7 Oxford
- ⑮ Kishiko Ogawa, Ryosuke Seta, Takahiko Shimizu, Shoji Shinkai, Stuart Calderwood, Koichi Nakazato, Kazuo Takahashi. Plasma adenosine triphosphate and heat shock protein 72 concentrations after aerobic and eccentric exercise. ECSS. 2011.7 Liverpool
- ⑯ 宍戸洲美、富山芙美子、白澤章子、馬場富美子、外村幸子、齋藤静栄、山田澄子、松本順子、松本稜子、齋藤淳子、新谷チヨ子、古野桂子、野口司、舟見久子、中村富美子、小川貴志子養護教諭の職務研究—IUHPE (国際健康教育ユニオン) 会議での報告を通して得た成果と課題— 第 57 回日本学校保健学会大会 11/2010 埼玉
- ⑰ 小川貴志子、瀬田亮介、中里浩一、高橋一衛 高強度運動による血漿中熱ショックタンパク質 72 の増加とカテプシン D の関連性。第 64 回日本体力医学会大会 9/2010 千葉
- ⑱ 深谷太郎、藤原佳典、齋藤京子、金憲経、野中久美子、安永正史、桜井良太、小川貴志子、渡辺修一郎、吉田裕人、新開省二：地域高齢者における日常の温泉利用が QOL に与える影響—温泉利用型施設を活用する総合健康増進プログラム“すぷりんぐ”より(その 1)—。日本老年社会学会第 52 回大会, 2010. 6. 16-17 名古屋,
- ⑲ 藤原佳典、齋藤京子、金憲経、吉田裕人、内田勇人、小川貴志子、荒木厚、渡辺修一郎、新開省二：温泉利用型施設を活用する総合健康プログラムの開発—1.生活習慣病予防。第 52 回日本老年医学会学術集会, 2010, 6, 24-26 神戸
- ⑳ 齋藤京子、藤原佳典、金憲経、吉田裕人、内田勇人、小川貴志子、荒木厚、渡辺修一郎、新開省二：温泉利用型施設を活用する総合健康プログラムの開発—2.介護予防。第 52 回日本老年医学会学術集会, 2010, 6, 24-26 神戸
- 21 桜井良太、藤原佳典、金憲経、齋藤京子、深谷太郎、安永正史、野中久美子、小林和成、渡辺修一郎、小川貴志子、吉田裕人、岡部たづる、干川なつみ、土屋由美子、新開省二：温泉施設を活用した複合的介入プログラム“すぷりんぐ”(2)—介護予防効果の検証—。第 69 回日本公衆衛生学会総会, 2010. 10. 27-29 東京
- 22 齋藤京子、藤原佳典、金憲経、桜井良太、深谷太郎、安永正史、野中久美子、小林和成、西川武志、小川貴志子、吉田裕人、岡部たづる、干川なつみ、土屋由美子、新開省二温泉施設を活用した複合的介入プログラム“すぷりんぐ”(3)—生活習慣病予防効果の検証—。第 69 回日本公衆衛生学会総会, 2010. 10. 27-29 東京
- 23 山口幸一、内田勇人、藤原佳典、深谷太郎、金憲経、齋藤京子、桜井良太、安永正史、小川貴志子、鈴木克彦、作田はるみ、下村尚美、松浦伸郎：温泉施設を活用した複合的介入プログラム“すぷりんぐ”(7)—中高年労働者への効果—。第 69 回日本公衆衛生学会総会, 2010. 10. 27-29 東京
- 24 Sumi Shishido, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in aneo-liberalism society.

- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 25 Akiko Shirasawa, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in aneo-liberalism society. - An action of community health care center- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 26 Sumiko Yamada, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in a neo-liberalism society. -The Yogo teachers' support to child of long-term absence- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 27 Fumiko Baba, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in a neo-liberalism society. -A practice of sex education in a high school- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland
- 28 Chiyoko Shintani, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in a neo-liberalism society. -A trial on school health promotion in Nepal- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 29 Yoko Sato, Kishiko Ogawa. Child health problems and the role of Yogo teachers in a neo-liberalism society. -A practice of sex education in an elementary school and junior high school- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 30 Fumiko Tomiyama, Kishiko Ogawa. 7/2010 Child health problems and the role of Yogo teachers in a neo-liberalism society. -A practice of sex education in a college- 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, Geneva, Switzerland.
- 31 Takeo Masaki, Kishiko Ogawa, Michiko Sakamoto Why do boys die before birth. - An analysis of foetal death in Japan. 20<sup>th</sup> IUHPE World Conference on Health Promotion, 7/2010 Geneva, Switzerland.
- 32 小川貴志子, 鈴木克彦, 新開省二. 高齢者の好中球活性酸素産生能と血中炎症指標との関係. 日本老年医学会大会 5/2009 横浜
- 33 Ogawa K. Kim K. Peake J. Suzuki K. The effects of exercise in the cold on

plasma heat shock protein 70 concentration, catecholamines, and metabolites. The 9<sup>th</sup> International Symposium of Exercise Immunology, 9/2009 Tübingen, Germany

〔図書〕 (計 1 件)

- ① Ogawa K & Fehrenbach E, Springer, Exercise intensity and duration affected blood-soluble HSP72., In Heat Shock Proteins and Whole Body Physiology. Vol.5, 2010, 253-266, 429

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

出願申請準備中

名称: 認知機能検査法

発明者: 前場良太、藤原佳典、小川貴志子、荒木厚、原博

権利者: 東京都健康長寿医療センター、帝京大学、旭化成ファーマ株式会社、国立大学法人北海道大学

国内外の別: 国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小川 貴志子 (OGAWA KISHIKO )

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号: 20508676

### (2) 研究分担者

新開 省二 (SHINKAI SHOUJI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号: 60171063

吉田 裕人 (YOSHIDA HIROTO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号: 40415493