

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 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22510211

研究課題名（和文） 老化関連遺伝素因が健康長寿に及ぼす影響：老化表現型に関するゲノム疫学研究基盤整備

研究課題名（英文） Genetic influence of genes related to aging on successful aging

研究代表者

神出 計 (Kamide Kei)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：80393239

研究成果の概要（和文）：加齢は多くの病気の最大の発症要因である。本研究は、老化や長寿に関連すると考えられる遺伝子の遺伝素因(多型・変異)が、健康長寿や虚弱性(frailty)、高血圧、糖尿病、動脈硬化症といった生活習慣病に及ぼす影響を明らかにし、疾病の病態解明やゲノム創薬に繋げることを目的としている。

本研究では高齢者コホート研究(関西健康長寿研究)を進めた。本研究は100歳、90歳、80歳、70歳の都市部・山間部在住の高齢者計1500名程度を対象に、遺伝素因、血圧やその他の生活習慣病の状態、動脈硬化度、肺機能といった医学的側面、心理学的側面、口腔内衛生状態といった多面的に健康長寿に関わる要因を検討する我が国でも初めての高齢者コホート研究である。22年度にこの研究の倫理審査を申請し、承認され、研究を開始した。都市部として兵庫県伊丹市ならびに第一次産業が盛んな山間部の朝来市の一般住民を対象にコホートを開始し、本年度は主に90歳前後100名以上の調査を行い全年代の登録をほぼ完了した。本研究課題の成果の一つとして健康長寿研究の対象者において、心筋梗塞など冠動脈疾患(CAD)のリスク遺伝子である染色体9p21領域ANRILの遺伝子多型とANRIL遺伝子の発現を解析した。CADのリスクアレルを有するヒトではANRILの発現が低下しており、また頸動脈硬化のある群では有意にANRIL遺伝子発現が低下していたことからCADとの関連メカニズムがわかっていなかったANRIL遺伝子のヒトでの動脈硬化への関与の機序を証明し発表した (Congrains A, et al. *Atherosclerosis* 2012)。本ANRIL遺伝子は高齢者の虚弱(frailty)への関与も指摘されており本研究は長寿関連遺伝子の遺伝素因が、心血管病の発症・進展と関連している証拠となる知見である。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the genetic influences of genes related to aging on successful aging.

Recent findings from the genome-wide association studies have been pointing to novel disease-associated DNA regions, opening doors for new and more accurate targets of research and future therapies for several diseases.

One of these new loci is the chromosome 9p21, which in first place was highlighted as the strongest genetic susceptibility locus for cardiovascular disease. Afterwards, this locus has been linked to other apparently unrelated conditions like cancer, type 2 diabetes, Alzheimer disease, frailty in the elderly, glaucoma, among others. Interestingly, this locus was considered gene deserted and only harbored a long non-coding RNA (called ANRIL) which function was unknown.

Throughout our research in Osaka University, we were able to make significant progress in the understanding of the mechanism behind the 9p21 association. We studied the effects of ANRIL in vascular smooth muscle cells (which are directly involved in the pathogenesis of cardiovascular

disease). After artificially reducing the expression of ANRIL (by siRNA) we proved a regulatory effect of the non coding RNA upon its neighbor genes CDKN2A/B, two important tumor suppressors, which main functions are to control cell growth and senescence. We also found a differential expression of ANRIL in senescent cells, which may imply a role of ANRIL in cell senescence and aging. We also clarified gene polymorphisms in ANRIL could be associated with Japanese coronary diseases and reduced expression of ANRIL genes in peripheral blood might progress the atherosclerosis in human using human sample from our longevity study of an elderly cohort.

Those important processes are certainly linked to atherosclerosis progression in human, but also are crucial in many other pathological conditions and might be the connection between the locus and several age-related human diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム医科学

キーワード：遺伝素因、老化、健康長寿

1. 研究開始当初の背景

我が国において65歳以上の高齢者の全人口に占める比率は増加の一途をたどっており、2050年には36%に到達すると推定されている。しかし確かに寿命は延びているが、必ずしも健康で長寿の高齢者ばかりではなく、生活習慣病や種々の慢性疾患に罹患し、さらには認知症や脳卒中後遺症や骨・関節疾患のため寝たきりを余儀なくされている高齢者が非常に多いことが大きな問題である。医療経済の観点からもこの問題の解決は急務であるが、福祉制度などの改変のみでは到底解決できるものではなく、長期的な展望に立った生活習慣病や慢性疾患の罹患率減少、寝たきりの原因となる疾病の予防と治療が必要不可欠で

ある。さらに、加齢がこれらの病態発症や進展を助長する機序を明らかにすることは、個々の疾病に対する取り組み以上に、健康長寿実現に重要である可能性が高い。

2. 研究の目的

近年、主に線虫や動物モデルを用いた研究により、細胞や個体老化に関わる複数の遺伝子の関与が解明されてきた。またウェルナー症候群やハッチンソン・ギルフォード症候群など遺伝的早老症の原因遺伝子も明らかになって来た。本研究課題では我々がこれまで高血圧や動脈硬化などの生活習慣病関連遺伝子を探索する研究手法として用いてきたヒト遺伝子解析法により、これらの老化や長寿関連遺伝子の加齢や加齢とともに増加する主に生活

習慣病への関与を明らかにし、加齢による疾病発症機序の解明に迫り、ゲノム創薬に繋げることを目的にしている。また我々が本研究の中で最も力を入れて検討を行っていくことが健康長寿に関連する遺伝素因の探索である。おそらく長寿や寿命に関連する遺伝素因は生活習慣病の進展にも強く関連することが予測されるため本研究によって明らかにされる遺伝子は生活習慣病のみならず多くの寿命を規定する疾病の原因に関与する可能性が考えられる。

3. 研究の方法

私共は老化関連遺伝子の遺伝素因と健康長寿の関連性を検討するために本研究費を用いることにより大阪大学人間科学研究科 臨床死生学・老年行動学 榎藤恭之准教授と大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学 池邊一典講師と共同して平成 22 年度より関西健康長寿研究を開始した。本研究は健康長寿の要因を明らかにするための高齢者に特化したコホート研究で兵庫県の都市部に位置する伊丹市と過疎地にあたり第一次産業が盛んな朝来市の地域在住の一般住民 70 歳、80 歳、90 歳、さらに 100 歳以上を対象としてそれぞれ 500 名(100 歳以上は 200 名)を住民基本台帳より無作為に抽出し、医学調査(一般健診・頸動脈超音波・肺活量・遺伝子採血など)、心理調査(認知機能・体力検査、性格・教育歴・家庭環境調査、うつ・幸福感調査、介護認定・サービス利用状況など)、歯科口腔調査(一般歯科検診、歯周病調査、唾液検査、口腔認知機能、栄養調査など)を行い、遺伝素因を含み多面的に健康長寿の要因を探求することを目的としている。

私の医学班は高血圧、糖尿病、脂質異常症やメタボリック・シンドロームという生活習慣病ならびにこれらの疾病への治療介入がどの程度、寿命の延長に貢献しているかを明らかに

する、健康長寿への遺伝素因の関与、生まれながらに持ち合わせる遺伝子多型さらには遺伝子の発現の違いなどの関与を末梢血の DNA・RNA を調べることにより検討する、また頸動脈超音波により全身の動脈硬化度を反映する総頸動脈内中膜肥厚(IMT)や肺機能を測定することにより、生活習慣病・喫煙からその合併症の進行さらには健康長寿への影響を心理班、歯学班の調査データとも合わせ検討を予定している。今後、それぞれの年代を 3 年ごとにフォローアップの調査を行うことで健康長寿の要因が明確になるものと期待される。

4. 研究成果

関西平成 22 年度に大阪大学各学部の倫理審査で承認を受け、平成 22 年度に伊丹・朝来合わせて 494 名の 70 歳調査、平成 23 年度は両地区合わせて 503 名の 80 歳調査と平行して百寿者調査を訪問にて行った。平成 24 年度は約 100 名の 90 歳調査ならびに 100 歳以上の調査を継続し、3 年間でほぼ予定に近い研究対象者を登録・調査した。本研究で得られるすべての情報は各学部で共通にデータベース化され、それぞれの専門的見地から自由に解析に用いられるような体制を構築している。遺伝子としてはまず染色体 9p21 領域に存在する蛋白質をコードしない non-coding RNA(ANRIL)遺伝子がヒト動脈硬化性疾患に関与するメカニズムを詳細に検討した。この 9p21 領域は欧米・日本を含む数か所で行われた大規模なゲノム網羅的関連解析(GWAS)で冠動脈疾患や 2 型糖尿病、アルツハイマー病、老年期虚弱などと同領域内 ANRIL 遺伝子の一塩基多型(SNP)の強い関連性が報告されている。ANRIL 遺伝子には近傍に細胞増殖を調節する Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A と 2B 遺伝子(*CDKN2A/2B*)が存在し、ANRIL 遺伝子 SNP と強い連鎖不平衡が

存在している。したがって ANRIL 遺伝子 SNP と動脈硬化性心血管疾患のリンクの機序に *CDKN2A/2B* が関与している可能性がある。我々はこれらの遺伝子の関係性を血管平滑筋細胞の ANRIL 遺伝子を siRNA を用いて knockdown することで *CDKN2A* は発現抑制、*CDKN2B* は発現亢進を示すことを見出し、ANRIL 遺伝子がこれらの遺伝子を調節し動脈硬化の進展を制御していることを証明した。またマウス動脈硬化モデルの動脈硬化巣に *CDKN2A/2B* が存在していることを免疫組織染色で確認しており、ヒトでも同様の機序が存在すると考えられている。さらに関西健康長寿研究対象者の頸動脈に動脈硬化を有するヒトでは末梢血中の ANRIL 遺伝子の発現が低下しており、ANRIL 遺伝子はヒト動脈硬化形成に保護的に働き、ANRIL 遺伝子 SNP は、心血管疾患のリスクアレルを保因するヒトほど遺伝子発現が低下していることから、ANRIL 遺伝子発現が低下しやすい多型を保因するヒトは動脈硬化性心血管疾患に罹患しやすい可能性が高いことを明らかにした。この 9p21 領域は動脈硬化性心血管疾患のみならず他の common disease とのリンクも指摘されている部位であるため、今回の動脈硬化発症機序の解明はその他の病気とのリンク解明につながる可能性が高く、意義が大きいと考えられる。関西健康長寿研究では、認知症や糖尿病などの疾患に罹患した患者の遺伝子、さらには多くの臨床的情報を有している。我々は 9p21 領域の研究を動脈硬化以外の疾患も対象に入れ展開していくことを考えており、複数の生活習慣病や老年病・老化の機序の解明や新規の治療薬開発に繋がる基礎情報を多く発信していく可能性が期待される。

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)

1. Congrains A, Kamide K, Katsuya T, Yasuda O, Oguro R, Yamamoto K, Ohishi M, Rakugi H.

CVD-associated non-coding RNA, ANRIL, modulates expression of atherogenic pathways in VSMC. *Biochem Biophys Res Commun* 417:612-616, 2012.

2. Oguro R, Kamide K, Katsuya T, Akasaka H, Sugimoto K, Congrains A, Arai Y, Hirose N, Saitoh S, Ohishi M, Miura T, Rakugi H.

A single nucleotide polymorphism of the adenosine deaminase, RNA-specific gene is associated with the serum triglyceride level, abdominal circumference, and serum adiponectin concentration. *Exp Gerontol* 47:183-187, 2012.

3. Congrains A, Kamide K, Oguro R, Yasuda O, Miyata K, Yamamoto E, Kawai T, Kusunoki H, Yamamoto H, Takeya Y, Yamamoto K, Onishi Y, Sugimoto K, Katsuya T, Awata N, Ikebe K, Gondo Y, Oike Y, Ohishi M, Rakugi H.

Genetic Variants at the 9p21 Locus Contribute to Atherosclerosis through Modulation of ANRIL and *CDKN2A/B*. *Atherosclerosis* 220:445-455, 2012.

4. Benigni A, Orisio S, Noris M, Iatropoulos P, Castaldi D, Kamide K, Rakugi H, Arai Y, Todeschini M, Ogliari G, Imai E, Gondo Y, Hirose N, Mari D, Remuzzi G.

Variations of the Angiotensin II type 1 receptor gene are associated with extreme human longevity. *AGE* 2012 (in press)

[雑誌論文] (計 4 件)

[学会発表] (計 6 件)

[図書] (計 0 件)

[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 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神出 計（大阪大学大学院医学系研究科
老年・腎臓内科学 講師）

研究者番号：80393239

(2) 研究分担者

樂木宏実（大阪大学大学院医学系研究科
老年・腎臓内科学 教授）

研究者番号：20252679

(3) 分担研究者

勝谷友宏（大阪大学大学院医学系研究科
寄附講座臨床遺伝子治療学 特任准教授）

研究者番号：30311757

(4) 分担研究者

大石 充（大阪大学大学院医学系研究科
老年・腎臓内科学 講師）

研究者番号：50335345