

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293165

研究課題名(和文) 老化遺伝子の統合的解析による加齢関連疾患の病態解明

研究課題名(英文) Pathological elucidation of age-related diseases by integrative analyses of senescence genes

研究代表者

横手 幸太郎 (Yokote, Koutaro)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20312944

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：ウェルナー症候群(Ws)はWRN遺伝子に変異を持つ常染色体劣性の遺伝性早老症であり、テロメア短縮との関連が示唆されている。本研究では、WRNとテロメラーゼ逆転写酵素TERTの2重欠損マウスを作製し、テロメア短縮による病態形成を解析した。同世代間交配を繰り返し、第4世代のWrn/Tert 2重欠損マウス(TertG4/G4)を作出した。Wrn^{-/-}、TertG4/G4マウスは、ほとんどの臓器で組織学的な変化を示さなかったが、精巣組織でのみ、TertG4/G4マウスに比べて有意な精細管の不整が認められた。Wsの早老病態におけるテロメア長短縮の寄与は低い可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Werner syndrome (WS) is progeroid syndrome and is caused by the recessive mutation of WRN gene. WS patients exhibit accelerated telomere shortening. However, Wrntm1Lgu, TertG4/G4 double-null mice have failed to deteriorate pathologies of Wrntm1Lgu single-null mice. In this study, to reconfirm pathological significance of telomere in a WS model, we generated Wrntm1Lgu, Terttm1Fish double-null mice and intercrossed those mice until G4 generation (TertG4/G4) to induce telomere shortening. Although both TertG4/G4 or Wrn^{-/-}, TertG4/G4 double null mice showed significant shortening of telomere length in various organs, Wrn^{-/-}, TertG4/G4 mice were grown without apparent abnormality in muscle, liver as well as bone. However, Wrn^{-/-}, TertG4/G4 mice only deteriorated fat atrophy in skin and testis degeneration, but not epidermis and dermis atrophies. These results suggested that the telomere shortening by Tert deficiency is in part attributable to premature aging pathologies in WS models.

研究分野：老年医学

キーワード：老年医学 老化 遺伝子 早老症 ウェルナー

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴って生活習慣病・がんなどの疾病が増加するメカニズムは未だ明らかでない。遺伝的早老症として知られるWerner 症候群(以下、WS)は、思春期以降、白髪・脱毛、白内障、皮膚萎縮、糖尿病や動脈硬化など全身性に老化徴候を早発し、糖尿病や動脈硬化、癌を好発、40歳台で死亡する。“ヒトの老化モデル”と捉えられる一方、治療法は未確立である。これまで全世界で1500症例と希少だが、うち日本人患者が6割を占め、日本が研究と診療のリーダーシップを取るべき疾患である。1996年に原因遺伝子としてDNAヘリケース(WRN)が同定されたが、個体・細胞レベルで早老をきたすメカニズムの解明は国内外を通じて進んでいない。理由の一つとして、WRN遺伝子のノックアウトマウス(KO)が単独では老化様の表現型が生じないことである。現在2系統のWrn欠損マウスが作出され研究が行われている。まず1998年にLederらがexon 20のヘリカーゼドメインを欠失させ、short formタンパク質が発現するWrn^{tm1Lcd}マウスを作製した(Lebel *et al. Proc Natl Acad Sci* 1998)。Wrn^{tm1Lcd}マウスは正常に発育し、皮膚萎縮などの目立った老化症状も呈さなかった。ただ、老齢時に肝臓での脂肪蓄積、活性酸素過剰産生、および寿命の僅かな短縮が報告されている。さらに2000年にGuarenteらがexon 18のヘリカーゼドメインを欠失させたフレームシフト変異を導入したWrn^{tm1Lgu}マウスを作製した(Lombard *et al. Mol Cell Biol* 2000)。Wrn^{tm1Lgu}マウスも正常に発育して皮膚萎縮などの組織学的な老化症状も認められず、寿命も野生型マウスと差は認められなかった。WRNとテロメア長の関連を明らかにするために、GuarenteらはWrn^{tm1Lgu}とTercの2重欠損マウスを作製した(Chang *et al. Nat Genet* 2004)。テロメア長伸長酵素テロメラーゼはRNA構成要素TERCと逆転写酵素TERTで構成される複合体である。Wrn/Terc 2重欠損マ

ウスは世代を経るにつれテロメア長が短縮し、低身長や、骨量減少、寿命短縮などの軽度な老化症状を呈した。しかしながら、世代を経ても老化症状が現れない個体が50%程度認められ、テロメアの不安定性とWRN機能の関連は完全に明らかにされていない。

2. 研究の目的

そこで本研究で申請者は、より完全なウェルナー症候群モデルマウス作出を進める解決策として2つの計画を立案した。

(1)テロメラーゼ活性に加え、ミトコンドリア機能への関与も報告されている(Sahin *et al. Nature* 2011) TERTに着目し、Wrn/Tert 2重欠損マウスを作製する。

(2)WRNタンパク質との生理的な会合が示されている(Popuri *et al. Nucleic Acids Res* 2013) RECQL5ヘリカーゼとの2重欠損マウスの作製する。

3. 研究の方法

WRNタンパク質はテロメア配列に結合しテロメア高次構造を維持する働きを有する(Opresko. *Mech Ageing Dev* 2008)。申請者はウェルナー症候群でのテロメア長短縮におけるWRNヘリカーゼの関与を再度解明するために、Wrn欠損マウス(Wrn^{tm1Lgu})とTert欠損マウスを交配してWrn/Tert 2重欠損マウスを作製し、さらに同世代間で交配して第4世代(Tert^{G4/G4})まで作製し早老症の表現型を解析した。

WrnまたはRecql5遺伝子の開始ATG exonをターゲットとするguide RNAを設計し、CRISPR/Cas9によるゲノム編集法で新規にKOマウスを新規に作出する。CRISPR/Cas9 guide RNAベクターを受精卵に導入してマウス母体に移植する。誕生したマウスのWRNおよびRECQL5のゲノム配列を調べ、開始ATG exonの欠失を確認する。さらに、WRNとRECQL5タンパク質の欠失を新たに

作製した N 末/C 末抗体を用いたウエスタンブロット法により調べ、適切に欠失した個体を選別する。選別したマウス同士での交配および繁殖により *Wrn* 欠損マウスおよび *Wrn/Recql5* 2 重欠損マウスを作製する。

(倫理面への配慮)

組換え動物実験に関する研究は、千葉大学の実験動物委員会および遺伝子組換え実験に関する指針に基づいてこれを実施する。

4. 研究成果

同世代間交配で作出した *Wrn*^{-/-}, *Tert*^{G4/G4} マウスは正常に生まれ、体重の差もなく正常に発育した。さらに *Wrn* 遺伝子の有無に関わらず *Tert*^{G4/G4} マウスはテロメア長も有意に短縮し、テロメラーゼ活性低下の確証を得た(図1)。

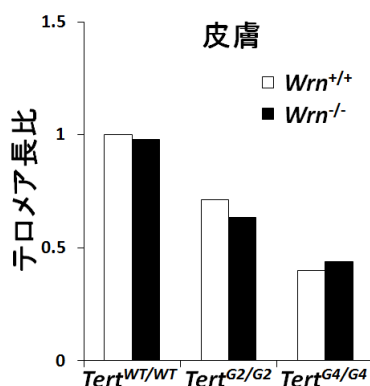


図1 *Wrn/Tert* 2 重欠損マウスの mtDNA 量

皮膚の組織学的解析により *Wrn*^{+/+}, *Tert*^{G4/G4} マウスと *Wrn*^{-/-}, *Tert*^{G4/G4} マウスともに皮膚萎縮を示したため、*Wrn* 欠損の影響は全く認められなかった(図2)。

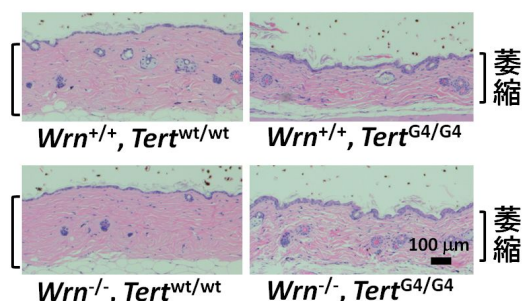


図2 *Wrn/Tert* 2 重欠損マウスの皮膚組織像

さらに、ウェルナー症候群で顕著な病態が現れる筋萎縮や脂肪肝、骨量減少などの臓器変化も見られなかった。他方、精巣組織でのみ、有意な精細管の不整が認められた。また、Sahinらは *Tert* 欠損マウスはミトコンドリア DNA 減少によりミトコンドリア機能が低下し、糖新生低下と活性酸素産生の増加を誘発すると報告した(Sahin *et al.* Nature 2011)。しかしながら、*Wrn*^{-/-}, *Tert*^{G4/G4} マウスに加えて *Wrn*^{+/+}, *Tert*^{G4/G4} マウスも皮膚、肝臓、筋肉のミトコンドリア DNA コピー数の減少を示したことから、*Wrn* 欠損による有意な変化は認められず、*Tert* 欠損によるテロメア長短縮の影響しか確認できなかった。以上の結果から、WSの早老病態におけるテロメア長短縮の寄与は低い可能性が示唆された。

Wrn または *Recql5* 遺伝子の開始 ATG exon をターゲットとする guide RNA を設計した。guide RNA ベクターを受精卵に導入してマウス母体に移植し、CRISPR/Cas9 による KO マウスを新規に作出した。新規 WRN 欠損マウスは 20 匹、RECQL5 欠損マウスは 23 匹得られた。誕生したマウスの WRN および RECQL5 のゲノム配列を調べ、開始 ATG exon の欠失を確認した。フレームシフトが生じ、極端に短いタンパク質を発現するラインを 10 系統ずつ選別した。さらに、WRN と RECQL5 タンパク質の欠失を新たに作製した N 末/C 末抗体を用いたウエスタンブロット法により調べた。適切に欠失した個体を選別した結果、WRN 欠損マウスは a1, と a2、RECQL5 欠損マウスは b1 と b2 のそれぞれ 2 系統が得られた。選別したマウス同士での交配および繁殖により *Wrn* 欠損マウスおよび *Recql5* 欠損マウスを樹立した。単独欠損マウスの早老症表現型は、既報と同様に認められなかった。現在、*Wrn* 欠損マウスおよび *Recql5* 欠損マウスを交配し、*Wrn/Recql5* 2 重欠損マウスを作出している。

WRN タンパク質はテロメア配列に結合しテロメア高次構造を維持する働きを有すると考えられている。また Chang らは WRN とテロメア長の関連を明らかにするために、*Wrn*^{tm1Lgu} と *Terc* の 2 重欠損マウスを作製した。2 重欠損マウスは世代を経るにつれテロメア長が短縮し、低身長や、骨量減少、寿命短縮などの軽度な老化症状を呈したと報告し、多くの研究者がこの論文を信じていた。しかし、詳細に論文を読み解くと、世代を経ても老化症状が現れない個体が 50%程度認められ、テロメアの不安定性と WRN 機能の関連に疑問が投げかけられた。本研究でも独立して、*Wrn*^{-/-}、*Tert*^{G4/G4} マウスを作出し、表現型を解析したが、*Tert*^{G4/G4} マウスの表現型のみ生じ、つまりテロメア短縮による組織変化は生じるが、WRN タンパク質欠損の影響は、非常に軽微、もしくはほとんどないと結論された。以上の結果から、WS の早老病態とテロメア長短縮の関わりは、モデルレベルでは再検証する必要があると考えられた。

本研究では、WS の病態解析を進めるため、新たなモデルマウスの作出を行った。RecQ ファミリーは WRN に加え RECQL, BLM, RECQL4, RECQL5 の計 5 種類が同定され、互いの機能的重複が予想された。興味深いことに WRN と RECQL5 タンパク質が生理的に結合する機能的相互作用が報告された (Popuri *et al. Nucleic Acids Res* 2013)。また *BLM* 遺伝子変異はブルーム症候群、*RECQL4* 遺伝子変異はロスモンド・トムソン症候群を呈するが、*Blm* 欠損マウスおよび *Recql4* 欠損マウスはともに胚性致死を示す (Chester *et al. Genes Dev* 1998, Hoki *et al. Hum Mol Genet* 12:2293-99 2003)。変異型 *Blm* を発現する *Wrn* 欠損マウスにおいてはお互いの表現型を修飾せず (Du *et al. Mol Cell Biol* 2004)、これら RecQ 遺伝子の独立した機能が示唆されている。RECQL5 は変異による遺伝病は報告され

ず機能は不明なままであったが、WRN をノックダウンした線維芽細胞で DNA 二本鎖切断を誘導すると核内への RECQL5 局在が増加し、また WRN と RECQL5 の 2 重ノックダウンでのみ増殖停止が認められることを報告した (Popuri *et al. Nucleic Acids Res* 2013)。これらの報告から、ウェルナー症候群における WRN と RECQL5 との相互作用の可能性も見出された。WRN と RECQL5 タンパク質の生理的会合の事実から、RECQL5 と WRN が相補的な役割を果たし、WRN が欠損した場合 RECQL5 が生理的機能を補填している可能性が考えられた。そのため本研究では、新規に CRISPR/Cas9 法を用いて *Wrn* 欠損マウスおよび *Recql5* 欠損マウスを樹立した。単独欠損マウスは、老化様の組織変化を示していないが、現在、*Wrn* 欠損マウスおよび *Recql5* 欠損マウスを交配し、*Wrn/Recql5* 2 重欠損マウスを作出している。新規な 2 重欠損マウスに早老症変化が認められれば、WS 研究に新しい展開を提示することが期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 42 件)

1. Yamaga M, Takemoto M, Takada-Watanabe A, Koizumi N, Kitamoto T, Sakamoto K, Ishikawa T, Koshizaka M, Maezawa Y, Yokote K. Recent trends in WRN gene mutation patterns in individuals with Werner syndrome. **J Am Geriatr Soc**, *in press*.2017. 査読有
doi: 10.1111/jgs.14906
2. Ide K, Baba Y, Takemoto M, Koide H, Ide S, Yamaga M, Kobayashi K, Yokote K. Case of Werner syndrome complicated by adrenal insufficiency due to hypothalamic dysfunction. **Geriatr Gerontol Int** 17:346-347, 2017. 査読有
doi: 10.1111/ggi.12809
3. Yokote K, Chanprasert S, Lee L, Eirich K, Takemoto M, Watanabe A, Koizumi N, Lessel D, Mori T, Hisama FM, Ladd PD, Angle B, Baris H, Cefle K, Palanduz S, Ozturk S, Chateau A, Deguchi K, Easwar TK, Federico A, Fox A, Grebe TA, Hay B, Nampoothiri S, Seiter K, Streeten E, Piña-Aguilar RE, Poke G, Poot M, Posmyk R, Martin GM, Kubisch C, Schindler D, Oshima J. WRN Mutation Update: Mutation

- Spectrum, Patient Registries, and Translational Prospects. **Hum Mutat** 38:7-15, 2017. 査読有
doi: 10.1002/humu.23128.
4. Endo Y, Yokote K, Nakayama T. The obesity-related pathology and Th17 cells. **Cell Mol Life Sci** 74:1231-1245, 2017. doi: 10.1038/mi.2017.31.
 5. Tuerdi, A. Kinoshita, M., Kamogashira, T., Fujimoto, C. Iwasaki, S., Shimizu, T., Yamasoba, T. Manganese superoxide dismutase influences the extent of noise-induced hearing loss in mice. **Neurosci Lett.** **642**, 123-128 (2017). 査読有
doi: 10.1016/j.neulet.2017.02.003.
 6. Angela M, Endo Y, Asou HK, Yamamoto T, Tumes DJ, Tokuyama H, Yokote K, Nakayama T. Fatty acid metabolic reprogramming via mTOR-mediated inductions of PPAR γ directs early activation of T cells. **Nat Commun** 7:13683, 2016. 査読有
doi:10.1038/ncomms13683
 7. Mitamura Y, Azuma S, Matsumoto D, Takada-Watanabe A, Takemoto M, Yokote K, Motoshita J, Oda Y, Furue M, Takeuchi S. Case of sarcomatoid carcinoma occurring in a patient with Werner syndrome. **J Dermatol** 43:1362-1364, 2016. 査読有
DOI: 10.1111/1346-8138.13399
 8. Yokote K, Terauchi Y, Nakamura I, Sugamori H. Real-world evidence for the safety of ipragliflozin in elderly Japanese patients with type 2 diabetes mellitus (STELLA-ELDER): final results of a post-marketing surveillance study. **Expert Opin Pharmacother** 17:1995-2003, 2016. 査読有
doi: 10.1080/14656566
 9. Ishibashi R, Takemoto M, Akimoto Y, Ishikawa T, He P, Maezawa Y, Sakamoto K, Tsurutani Y, Ide S, Ide K, Kawamura H, Kobayashi K, Tokuyama H, Tryggvason K, Betsholtz C, Yokote K. A novel podocyte gene, semaphorin 3G, protects glomerular podocyte from lipopolysaccharide-induced inflammation. **Sci Rep** 6:25955, 2016. 査読有
 10. Ide S, Yamamoto M, Takemoto M, Fujimoto M, Ide K, Kobayashi K, Yokote K. Improved Glycemic Control and Vascular Function and Reduction of Abdominal Fat Accumulation with Liraglutide in a Case of Werner Syndrome with Diabetes Mellitus. **J Am Geriatr Soc** 64:687-688, 2016. 査読有
DOI: 10.1111/jgs.13970
 11. Zhang C, van der Voort D, Shi H, Zhang R, Qing Y, Hiraoka S, Takemoto M, Yokote K, Moxon JV, Norman P, Rittié L, Kuivaniemi H, Atkins GB, Gerson SL, Shi GP, Golledge J, Dong N, Perbal B, Prosdocimo DA, Lin Z. Matricellular protein CCN3 mitigates abdominal aortic aneurysm. **J Clin Invest** 126:1282-1299, 2016. 査読有
doi: 10.1172/JCI82337
 12. Sakuma I, Higuchi S, Fujimoto M, Takiguchi T, Nakayama A, Tamura A, Kohno T, Komai E, Shiga A, Nagano H, Hashimoto N, Suzuki S, Mayama T, Koide H, Ono K, Sasano H, Tatsuno I, Yokote K, Tanaka T. Cushing Syndrome Due to ACTH-Secreting Pheochromocytoma, Aggravated by Glucocorticoid-Driven Positive-Feedback Loop. **J Clin Endocrinol Metab** 101:841-846, 2016. 査読有
doi: 10.1210/jc.2015-2855
 13. Juewon Kim, Si Young Cho, Su Hwan Kim, Donghyun Cho, Sunmi Kim, Chan-Woong Park, Shimizu, T., Jae Youl Cho, Dae Bang Seo*, Song Seok Shin*. Effects of Korean ginseng berry on skin anti-pigmentation and anti-aging via FoxO3a activation. **J. Ginseng Res.** 印刷中 国際共著、査読有
doi: 10.1016/j.jgr.2016.05.005.
 14. Shimamoto A, Yokote K, Tahara H. Werner Syndrome-specific induced pluripotent stem cells: recovery of telomere function by reprogramming. **Front Genet** 6:10, 2015. 査読有
doi: 10.3389/fgene.2015.00010
 15. Kobayashi K, Nojiri H, Saita Y, Morikawa D, Ozawa Y, Watanabe K, Koike M, Asou Y, Shirasawa T, Yokote K, Kaneko K, Shimizu T. Mitochondrial superoxide in osteocytes perturbs canalicular networks in the setting of age-related osteoporosis. **Sci Rep** 5:9148, 2015. 査読有
doi: 10.1038/srep09148
 16. Takemoto M, Tamaga M, Furuichi Y, Yokote K. Astaxantin improved non-alcoholic fatty liver disease in Werner syndrome with diabetes. **J Am Geriatr Soc** 63:1271-1273, 2015. 査読有
doi: 10.1111/jgs.13505
 17. Hayashi A, Takemoto M, Shoji M, Hattori A, Sugita K, Yokote K. Pioglitazone improves fat tissue distribution and hyperglycemia in Cockayne syndrome with diabetes. **Diabetes Care** 38:e76, 2015. 査読有
doi: 10.2337/dc14-2944
 18. Koike M, Nojiri H, Ozawa Y, Watanabe K, Muramatsu Y, Kaneko H, Morikawa D, Kobayashi K, Saita Y, Sasho T, Shirasawa T, Yokote K, Kaneko K, Shimizu T. Mechanical overloading causes mitochondrial superoxide and SOD2 imbalance in chondrocytes resulting in cartilage degeneration. **Sci Rep** 5:11722, 2015. 査読有
doi: 10.1038/srep11722
 19. Endo Y, Hirahara K, Shinoda K, Asou HK, Matsugae N, Tumes DJ, Tokuyama H, Yokote K, Nakayama T. Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, ACC1. **Cell Rep** 12:1042-1055, 2015. 査読有
doi: 10.1016/j.celrep.2015.07.014.
 20. Lee EY, Sakurai K, Zhang X, Toda C, Tanaka T, Jiang M, Shirasawa T, Tachibana K, Yokote K, Vidal-Puig A, Minokoshi Y, Miki T. Unsuppressed lipolysis in adipocytes

- is linked with enhanced gluconeogenesis and altered bile acid physiology in *Insr*(P1195L/+) mice fed high-fat-diet. **Sci Rep** 5:17565, 2015. 査読有
21. Koike, M., Nojiri, H., Ozawa, Y., Watanabe, K., Muramatsu, Y., Kaneko, H., Morikawa, D., Kobayashi, K., Saita, Y., Sasho, T., Shirasawa, T., Yokote, K., Kaneko, K., Shimizu, T.* Mechanical overloading causes mitochondrial superoxide and SOD2 imbalance in chondrocytes resulting in cartilage degeneration. **Sci. Rep.** 5, 11722 DOI: 10.1038/srep11722 (2015). 査読有 doi: 10.1038/srep11722
 22. Kobayashi, K., Nojiri, H., Saita, Y., Morikawa, D., Ozawa, Y., Watanabe, K., Koike, M., Asou, Y., Shirasawa, T., Yokote, K., Kaneko, K., Shimizu, T.* Mitochondrial superoxide in osteocyte perturbs canalicular networks in the setting of age-related osteoporosis. **Sci. Rep.** 5, 9148 DOI: 10.1038/srep09148 (2015). 査読有 doi: 10.1038/srep09148
 23. Kobayashi, K., Nojiri, H., Saita, Y., Morikawa, D., Ozawa, Y., Watanabe, K., Koike, M., Asou, Y., Shirasawa, T., Yokote, K., Kaneko, K., Shimizu, T.* Mitochondrial superoxide in osteocyte perturbs canalicular networks in the setting of age-related osteoporosis. **Sci. Rep.** 5, 9148 (2015). 査読有 doi: 10.1038/srep09148
 24. Kobayashi K, Yokoh H, Sato Y, Takemoto M, Uchida D, Kanatsuka A, Kuribayashi N, Terano T, Hashimoto N, Sakurai K, Hanaoka H, Ishikawa K, Onishi S, Yokote K; SUCCESS Study Group. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin compared with α -glucosidase inhibitor in Japanese patients with type 2 diabetes inadequately controlled on sulfonylurea alone (SUCCESS-2): a multicenter, randomized, open-label, non-inferiority trial. **Diabetes Obes Metab** 16:761-765, 2014. 査読有 doi: 10.1111/dom.12264.
 25. Oshitari T, Kitahashi M, Mizuno S, Baba T, Kubota-Taniai M, Takemoto M, Yokote K, Yamamoto S, Roy S. Werner syndrome with refractory cystoid macular edema and immunohistochemical analysis of WRN proteins in human retinas. **BMC Ophthalmol** 14:31, 2014. 査読有 DOI: 10.1186/1471-2415-14-31
 26. Tanaka T, Tahara-Hanaoka S, Nabekura T, Ikeda K, Jiang S, Tsutsumi S, Inagaki T, Magoori K, Higurashi T, Takahashi H, Tachibana K, Tsurutani Y, Raza S, Anai M, Minami T, Wada Y, Yokote K, Doi T, Hamakubo T, Johan A, Frank J G, Nakajima A, Aburatani H, Naito M, Shibuya A, Kodama T, Sakai J. PPAR β/δ activation of CD300a controls intestinal immunity. **Sci Rep** 4:5412, 2014 査読有 doi:10.1038/srep05412
 27. Toda N, Ihara K, Takemoto M, Yokote K, Hara T. Endocrine and metabolic abnormalities in a girl with childhood Werner syndrome: case report. **J Am Geriatr Soc** 62:1404-1405, 2014. 査読有 doi: 10.1111/jgs.12897
 28. Shimamoto, A.*, Kagawa, H., Zensho, K., Sera, Y., Kazuki, Y., Osaki, M., Mitsuo Oshimura, Ishigaki, Y., Hamasaki, K., Kodama, Y., Yuasa, S., Fukuda, K., Hirashima, K., Seimiy, H., Koyama, H., Shimizu, T., Takemoto, M., Yokote, K., Goto, M., and Tahara, H.* Reprogramming Suppresses Premature Senescence Phenotypes of Werner Syndrome Cells in Long-Term Culture. **PLoS One** 9(11), e112900 (2014). 査読有 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112900>
 29. Shibuya, S., Ozawa, Y., Watanabe, K., Izuo, N., Yokote, K., and Shimizu, T.* Palladium and platinum nanoparticles attenuate aging-like skin atrophy via antioxidant activity in mice. **PLoS One** 9(10), e109288 (2014). 査読有 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109288>
- [学会発表](計 49 件)
1. Yokote, K. (2017) (招待講演) Autologous transplantation of gene-transferred adipocytes for treatment of intractable diseases. Joint symposium between Taipei Medical University and Chiba University at Taipei Medical University, March 8, Taipei.
 2. Yokote, K. (2016) (シンポジスト、パネルディスカッション) Clinical and biological features of Werner syndrome. The 3rd International Meeting on RECQ Helicases in Biology and Medicine (RECQ2016), May 28-30, Seattle, USA.
- [図書](計 7 件)
1. 横手幸太郎 (2017) (監修) 最新版 計算いらず コレステロール・中性脂肪対策のおいしいレシピ。学研、東京 160。
6. 研究組織
- (1)研究代表者
横手 幸太郎(YOKOTE, Koutaro)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：20312944
 - (2)研究分担者
1)清水 孝彦(SHIMIZU, Takahiko)
千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授
研究者番号：40301791
2)竹本 稔(TAKEMOTO, Minoru)
千葉大学・大学院医学研究院・特任教授
研究者番号：60447307