

京都大学大学院医学研究科 教授

鍋島 陽一

「個体老化の分子機構の解明」

1. 研究実施の概要

個体老化の研究はその必要性和緊急性から人類が直面している最重要課題の一つとして認識されてから久しく、その進展が期待されている。我々は多数のヘテロのTgマウスを掛け合わせてホモマウスを作製し、その変異表現型を解析し、その中の1系統において、ホモのみが性成熟期より発育が遅滞し、短命であることを発見した。ホモ個体は3週を越えると顕著な老化症状を呈するようになる。

これらの症状はヒトの老化症状に類似しており、ヒトの老化関連疾患のモデルとして重要と考え、原因遺伝子の同定とその機能解析、多彩な老化症状の病態解析を目的として本プロジェクトを申請した。

鍋島が全体の原因遺伝子の同定と機能解析、永井が循環器系を中心とした病態解析、野田が骨の変異表現型の解析を担当し、研究を展開し、以下の成果をえた。

原因遺伝子：klothoの同定

外来遺伝子は第5染色体に挿入されており、挿入領域の遺伝子を分離し、エクソンの候補を同定し、挿入位置から6Kb離れた部位に転写単位を同定した。ついで、全長のcDNAクローンを分離し、全塩基配列を決定し、得られた遺伝子をklothoと名付けた。Klothoとはヒトの運命を司る3人のギリシャ神話の女神の一人で、生命の誕生に立ち会い、生命を糸を紡ぐ女神の名前である。klotho mRNAは5.2kbで腎臓、脈絡膜での発現を確認した。ホモ変異体ではklotho mRNAの発現は顕著に低下していたが、RT-PCRによりごく僅かな発現が観察され、severe hypomorphであると結論した。ヒトの相同遺伝子は同様の1型膜蛋白質をコードするmRNAとスプライシングの制御により、蛋白中央にストップが入る分泌型蛋白質をコードするmRNAが同定された。klothoが原因遺伝子であることを確認するためにklotho cDNAを発現するトランスジェニックマウスを作成し、変異マウスと掛け合わせ、klotho^{-/-}であっても外来のklotho cDNAの発現があれば変異表現型が回復できるを確認した。この結果はklotho遺伝子が原因遺伝子であること、klotho遺伝子の変異によりすべての変異症状がもたらされることを示している。さらにノックアウトによりnull変異系統を作成し、同様の変異表現型を示すことを確認した。

Klotho蛋白の構造と機能

Klotho蛋白には4つのタイプがある。ER, Golgi体に存在する細胞内タイプ、細胞膜上に存在するタイプ、細胞外ドメインの中央でプロセスされる70kd分泌型、膜貫通ドメインのN端側でプロセスされる全長に近い130kd分泌型からなる。分泌型を高感度に認識する抗体を用いて、ヒト、およびマウスの血清中に130kd分泌型が存在すること

を確認し、サンドイッチエライザー測定系を開発している。また、ヒト遺伝子の解析から推定されていた70 k d分泌型は血清中に同定することはできず、活性をもたないことを示す結果をえた。

Klotho蛋白は1014アミノ酸からなる新規の1型膜蛋白質であり、細胞内ドメインは10アミノ酸からなり、既知の機能配列との相同性は確認されていない。細胞外配列はb-glucosidaseに相同性をもつ2つのドメイン(KL1, KL2)より構成されている。b-glucosidaseには活性中心を担う2つの保存された配列があり、特に各々の配列中のグルタミン酸残基が活性にとって重要であると報告されている。ところが、KL1、KL2いずれも、2つの保存されるべきグルタミン酸残基のうち一方が保存されていない。活性中心の構造に変異があるとはいえ、構造的にはb-Glucosidaseに相同性があることから、酵素活性の有無を追求してきたが、糖鎖切断活性が示唆されており、詳細を検討している。

Klotho蛋白は少なくともターゲット分子の糖鎖を修飾対象、あるいは認識対象の一部としていと推定される。

klotho遺伝子は腎尿細管、副甲状腺の主細胞(PTHを発現する)、脳の脈絡膜、心臓の一部で発現しており、電解質代謝、心拍動、ホルモン制御などに関与すると推定される。とりわけ、Klotho変異マウスでは血清中のカルシウム、リン、ビタミンD値が顕著に亢進しており、さらに1 α -hydroxy-laseの発現が顕著に亢進しており、しかもビタミンDを投与しても発現が低下しない。これらの結果よりklotho変異マウスでは1 α -hydroxylaseの発現亢進により活性型ビタミンDの合成、血清濃度が上昇し、カルシウム、リンの上昇がもたらされ、カルシウム、リン酸ホメオスタシスが破綻し、多彩な変異表現型がもたらされたと推定される。カルシウム、リン酸ホメオスタシスを制御するシグナル伝達システムにおけるKlothoの重要性が示唆される。

b-klotho遺伝子の同定とノックアウトマウスの作成

klotho遺伝子のホモログ、b-klotho遺伝子をマウス、およびヒトから同定した。b-klotho遺伝子は脾臓、肝臓、白色、褐色脂肪細胞、分化した培養脂肪細胞で比較的高い発現が確認されている。既にノックアウトマウスの作成、モノクローナル抗体の分離に成功しており、変異表現型の解析とb-Klothoの機能解明が次の課題となっている。

疾患解析におけるklotho研究の意義

永井、野田により循環器、呼吸器、糖代謝、骨密度に関する変異表現型が解析され、その詳細を明らかにすると同時に、老化関連疾患のモデルとして40歳を越えるグループに

分与し、専門的な病態解析を行った。また、ヒトklotho遺伝子座に9カ所の遺伝子多型(SNP's)を同定し、これらのうち、7カ所は空腹時血糖値、肥満、骨密度、肺機能、カルシウム代謝、皮膚老化など、klothoマウスで観察された変異症状と関連すると考えられる臨床データと連鎖することが示された。ヒト疾患の病態には主要な疾患遺伝子に加えて多数の修飾遺伝子が関与しており、病態のより深い理解にとって、主要疾患遺伝子と修飾遺伝子間の相互作用の解明は不可欠である。そこで、klotho遺伝子変異を修飾する遺伝子の同定を目的として遺伝子背景の異なるMSMマウスと掛け合わせを行い、遺伝的背景の影響を解析し、MSM系統にはklotho遺伝子変異を抑制する遺伝子が存在することを示す結果をえた。修飾遺伝子の分離同定を進めている。

まとめと展望

Klotho蛋白のような分子が恒常性維持機構や老化関連疾患の病態に深く関わっていることはこれまで全く知られておらず、これまで考えられてきたシステムとは明らかに異なる新しい制御機構の存在が推定され、新たな視点からの生体の恒常性維持機構の解明とその破綻に基づく老化関連疾患の病態解明が期待される。本研究の近未来のゴールは次の2つである。第1はKlotho蛋白がカルシウム・リンホメオスタシスのどのシグナル経路のどの分子の機能を制御しているかを明らかにすることであり、第2はKlotho蛋白がどのような分子機構でターゲット分子に作用しているかを明らかにすることである。一方、本研究により老化疾患の病態解明、新たな診断システムの開発、遺伝子診断による発症予測、新たな医薬品開発のターゲットの創出などが進展し、老化疾患全体に及ぶ応用研究の発展を期待している。

京都大学グループ

挿入突然変異によりホモのみが性成熟期より発育が遅滞し、短命であることを発見した。変異症状はヒトの老化症状に類似しており、原因遺伝子の同定とその機能解析を中心に研究を展開した。

外来遺伝子の挿入領域の解析により原因遺伝子を分離し、得られた遺伝子をklothoと名付けた。ホモ変異体はsevere hypomorphである。レスキュー実験によりklotho遺伝子が原因遺伝子であること、さらにノックアウトによりnull変異系統を作成し、同様の変異表現型を示すことを確認した。Klotho蛋白はER, Golgi体に存在する細胞内タイプ、細胞膜タイプ、70kd分泌型、膜貫通ドメインのN端側でプロセスされる全長に近い130kd分泌型からなる。ヒト、およびマウスの血清中に130kd分泌型が存在することを確認した。Klotho

蛋白はb-glucosidaseに相同性をもつ2つのドメインより構成されており、糖鎖切断活性が示唆されている。Klotho蛋白はターゲット分子の糖鎖を修飾対象、あるいは認識対象の一部としていると推定される。klotho遺伝子は腎尿細管、副甲状腺の主細胞、脳の脈絡膜、心臓の一部で発現しており、変異マウスでは1 α -hydroxylaseの発現亢進により活性型ビタミンDの合成、血清濃度が上昇し、カルシウム、リンの上昇がもたらされ、カルシウム、リン酸ホメオスタシスが破綻し、多彩な変異表現型がもたらされたと推定される。

東京大学グループ

高血圧、狭心症、心筋梗塞、脳卒中などの循環器系疾患の多くは、加齢現象に伴う血管障害が原因である。従って、加齢現象としての血管障害の病態を解明し、老化の本質に基づいた予防・診断・治療法が開発されれば、国民の健康やQOL改善だけでなく、医療制度の効率的運用にも大きく貢献する。

本研究は、多彩な老化症状を呈するklotho変異マウスの解析を基盤に動脈硬化や心不全などの循環器病態でKlotho蛋白の分子機能どのような役割を担っているかを明らかにし、血中濃度測定と遺伝子多型による疾患発症素因解明と診断法を開発し、循環器臨床への応用を目指すことを目的とした。

klotho変異マウスでは血管内皮機能障害が存在し、またKlotho蛋白は液性因子として、血管に対してNO産生を介した内皮機能制御に関与することを明らかとした。Klothoは、血管内皮機能を中心とした細胞寿命決定や生理機能を調整する因子であり、生体のホメオスターシス維持に寄与すると考えられる。実際に各種循環器病態におけるklotho遺伝子の発現異常と、klotho遺伝子導入による表現型の改善が確認された。遺伝子多型要因などを含めて、ヒト循環器疾患及び老化におけるklotho遺伝子の意義の解明と臨床応用への道が開かれた。

東京医科歯科大学グループ

Klotho変異マウスにおいては、骨幹部骨梁の減少および骨幹端部海綿骨における骨梁の増加を伴う異常が観察され、メカニズム解明のために骨の形成及び骨の吸収の両面からの基礎研究を行った。

この結果、Klothoマウスにおいて脊椎の骨幹端部や大腿骨頸部を含む長管骨の骨幹端部における骨梁の増加を示し、その骨梁増加が軟骨の残存を伴う一次骨梁の著明な増加によることを示した。Klothoマウスによる骨梁の変化の細胞レベルでの制御を明らかにする目的で行われた骨髄の除去実験においては、生体内における骨吸収の著しい抑制が観察され、その原因として破骨細胞数のKlothoマウスにおける低下並びに破骨細胞の分化および活性化を担うRANKLの阻害因子であるOPG(osteoprotegerin)の持続的な活性化と骨髄除去後の再生に

おける骨髄細胞のOsteoprotegerin産生の亢進が明らかとなった。さらにOsteoprotegerin増加に基づくKlothoマウスにおける骨吸収の抑制異常は骨髄除去モデルにとどまらず、メカニカルストレスの喪失による骨粗鬆症状態においても骨吸収抑制機能として観察され、骨梁減少に関わる骨吸収のメカニズムの上でKlotho遺伝子が果たす促進的な役割とサイトカイン産生抑制を伴うその作用のメカニズムが本研究の結果、解明された。

2 . 主な研究成果

(1) 論文発表 (海外 2 4 件, 国内 4 5 件 (総説))

著者、論文名、掲載紙 (巻、号、発行年) 等

- 1) Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H., Kawaguchi H., Suga T. Utsugi T., Ohyama Y., Kaname T., Kume E., Iwasaki H., Iida A., Shiraki-Iida T., Nishikawa S., Ryozo N. and Nabeshima Y.
Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing.
Nature 390, 45-51 (1997)
- 2) Matsumura Y., Aizawa H., Shiraki-Iida T., Nagai R., Koro-o M., Nabeshima Y.
Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted Klotho protein.
*Biochem. Biophys. Res. Comm.*242, 626-630 (1998)
- 3) Shiraki-Iida T., Aizawa H., Matsumura Y., Sekine S., Iida A., Anazawa H., Nagai R., Kuroo M., Nabeshima Y.
Structure of the mouse Klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Letters* 424, 6-10, (1998)
- 4) Saito Y., Yamagishi T., Nakamura T., Ohyama Y., Aizawa H., Suga T., Matsumura Y., Masuda H., Kurabayashi M., Kuro-o M., Nabeshima Y., Nagai R. Klotho protein protects against endothelial dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 248, 324-329 (1998)
- 5) Aizawa H., Saito Y., Nakamura T., Inoue M., Imanari T., Ohyama Y., Matsumura Y., Masuda H., Oba S., Mise N., Kimura K., Hasegawa A., Kurabayashi M., Kuro-o M., Nabeshima Y., Nagai R.
Down regulation of the klotho gene in the kidney under sustained circulatory stress in rats. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 249, 865-871 (1998)
- 6) Ohyama Y., Kurabayashi M., Masuda H., Nakamura T., Aihara Y., Kaname T., Suga T., Arai M., Aizawa H., Matsumura Y., Kuro-o M., Nabeshima Y., Nagai R. Molecular cloning of Rat klotho cDNA: markedly decreased expression of klotho by acute inflammatory stress. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 251, 920-925 (1998)
- 7) Yamashita T., Nifuji A., Furuya K., Nabeshima Y., Noda M. Elongation of the epiphyseal trabecular bone in transgenic mice carrying a klotho gene locus mutation that leads to a syndrome resembling aging. *J. Endocrinology* 159, 1-8 (1998)
- 8) Yamashita T., Yoshitake H., Tsuji K., Kawaguchi N., Nabeshima Y., Noda M.
Retardation in bone resorption after bone marrow ablation in Klotho mutant mice.
Endocrinology 141, 438-445 (2000)
- 9) Kato Y., Arakawa E., Kinoshita S., Shirai A., Furuya A., Yamano K., Nakamura K., Iida A., Anazawa H., Koh N., Iwano A., Fujimori T., Kuro-o M., Hanai N., Takeshige K., Nabeshima Y.
Establishment of the anti-Klotho monoclonal antibodies and detection of Klotho protein in kidneys.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 267, 597-602 (2000)
- 10) Suga T., Kurabayashi M., Sando Y., Ohyama Y., Maeno T., Maeno Y., Aizawa H., Matsumura Y., Kuwaki T., Kuro-o M., Nabeshima Y., Nagai R.
Disruption of the klotho gene causes pulmonary emphysema in mice defect in maintenance of pulmonary integrity during postnatal life. *American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology.* 22(1):26-33, (2000)
- 11) Yamashita T., Nabeshima Y., Noda M. High-resolution mCT(micro-computed tomography) analyses of the abnormal trabecular structures in Klotho gene mutant mice.
J. Endocrinology 164(2): 239-245, (2000)
- 12) Seiji Okada, Toru Yoshida, Zhang Hong, Genichiro Ishii, Masahiko Hatano, Makoto Kuro-o, Yoko Nabeshima, Yo-ichi Nabeshima, and Takeshi Tokuhisa
Impairment of B lymphopoiesis in precocious aging (klotho) mice. *Int. Immunol.*12, 861-971 (2000)
- 13) Shiraki-iida T., Iida A., Nabeshima Y., Anazawa H., Nishikawa S., Noda M., Kuro-o M., Nabeshima Y.
Improvement of multiple pathophysiological phenotypes of klotho (kl/kl) mice by adenovirus-mediated expression of the klotho gene. *J. Gene Medicine* 2, 233-242, 2000

- 14) Utsugi T, Ohno T, Ohyama Y, Uchiyama T, Saito Y, Matsumura Y, Aizawa H, Itoh H, Kurabayashi M, Kawazu S, Tomono S, Oka Y, Suga T, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nagai R:
Decreased insulin production and increased insulin sensitivity in the klothomutant mouse, a novel animal model for human ageing. *Metabolism* 49, 1118-1123 (2000)
- 15) Yamashita T., Yoshitake H., Tsuji K., Kawaguchi N., Nabeshima Y., and Noda M. Retardation in bone resorption after bone marrow ablation in klothomutant mice. *Endocrinology* 141: 438-445, 2000.
- 16) Saito Y., Nakamura T., Ohyama Y., Suzuki T., Iida A., Shiraki-Iida T., Kuro-o M., Nabeshima Y., Kurabayashi M., Nagai R. In vivo klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 276 (2) 767-772 (2000)
- 17) Mori K., Yahata K., Mukoyama M., Suganami T., Makino H., Nagae T., Masuzaki H., Ogawa Y., Sugawara A., Nabeshima Y., Nakao K.
Disruption of Klotho gene causes an abnormal energy homeostasis in mice.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 278 (3) 665-670 (2000)
- 18) Koh N., Fujimori T., Tamori A., Nishiguchi S., Shiomi S., Nakatani T., Sugimura K., Kishimoto T., Kuroki T., Nabeshima Y. Severely reduced expression of Klotho gene in human chronic renal failure kidney. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 280, 1015-1020 (2001)
- 19) Yamashita T., Sekiya I., Kawaguchi N., Nabeshima Y., Noda M.
klotho-deficient mice are resistant to bone loss induced by unloading due to sciatic neurectomy.
J. Endocrinology 168 (2) 347-351, (2001)
- 20) Uchida A., Komiya Y., Tashiro T., Yorifuji H., Kishimoto T., Nabeshima Y., Hisanaga S.
Neurofilaments of Klotho, the mutant mouse prematurely displaying symptoms resembling human aging. *J. Neurosci. Res.* 64, 364-370 (2001)
- 21) Noriyo Manabe, Hiroshi Kawaguchi, Hirotaka Chikuda, Chisato Miyaura, Masanori Inada, Ryozi Nagai, Yo-ichi Nabeshima, Kozo Nakamura, Angus M Sinclair, Richard H Scheuermann, and Makoto Kuro-o Connection between B-lymphocyte and osteoclast differentiation pathways. *J. Immunol* (in press).
- 22) Nagai R, Saito Y, Ohyama Y, Aizawa H, Suga T, Nakamura T, Kurabayashi M, Kuroo M. Endothelial dysfunction in the klotho mouse and downregulation of klotho gene expression in various animal models of vascular and metabolic diseases. *Cell Mol Life Sci.* 57(5):738-746, 2000.
- 23) Nabeshima Y. The biological importance of the discovery of klotho gene related to aging *New Frontier in vascular Biology; Thrombosis and Hemostasis* 161-177 ed. Suzuki K., Ikeda Y., Maruyama I. EIBUN PRESS (1999)
- 24) Nabeshima Y.
Challenge of overcoming aging-related disorders. *J. Dermatol. Sci.*(2000) Dec; Suppl 1: S15-21

1) 鍋島 陽一
個体老化研究の新たな展開――老化関連遺伝子みつかる――科学 (岩波書店) 11月号 (1997)

2) 鍋島 陽一
個体老化研究の新たな展開――老化関連遺伝子みつかる――細胞工学 17、16-19 (1998)

3) 鍋島 陽一
個体老化研究の新たな展開―生命の糸を紡ぐKl o t h o 遺伝子―実験医学 16、49-53 (1998)

4) 鍋島 陽一
個体老化研究の新展開 アエラムック

5) 鍋島陽一
K l o t h o マウスーヒトは血管とともに老いるー 実験医学増刊号 16、32-37 (1998)

6) 鍋島陽一
老化関連遺伝子K l o t h o の発見 蛋白質核酸酵素 43、662-668 (1998)

7) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 Molecular Medicine 5、628-634 (1998)

- 8) 鍋島陽一
遺伝子の異常が老化を引き起こす 化学 53、18-20 (1998) 化学同人
- 9) 鍋島陽一
老化遺伝子Klothoの発見とその意義 Isotope News 12-13 1998年5月号
- 10) 鍋島陽一
個体老化を制御する遺伝子プログラム 現代化学333、50-57(1998)化学同人
- 11) 鍋島陽一
Klotho遺伝子と個体老化 実験医学16、2342-2347(1998)羊土社
- 12) 鍋島陽一
Klothoマウス 医学のあゆみ188、75-80、(1999)医歯薬出版
- 13) 鍋島陽一
個体老化研究のあらたな展開 医学のあゆみ188、819-823(1999)医歯薬出版
- 14) 鍋島陽一
早期老化マウスKlothoの分子遺伝学的研究 日本内科学会雑誌88、78-82(1999)
- 15) 鍋島陽一
老化遺伝子クロトローの発見
NHKスペシャル 驚異の小宇宙・人体 遺伝子DNA 16-17(1999)NHK出版
- 16) 鍋島陽一
個体老化 Klothoマウスの老化機構 老化と動脈硬化
岩波講座・現代医学の基礎12、79-81 (1999)岩波書店
- 17) 鍋島陽一
多彩な老化症状に関連するklotho遺伝子の発見とその意義
フリーラジカルの臨床14、63-67(1999)
- 18) 鍋島陽一
klotho遺伝子と老化の分子メカニズム CLINICAL NEUROSCIENCE 18、107(2000)
- 19) 鍋島陽一
老化の動物モデルとその分子機構 日本老年医学会雑誌 37、30-33(2000)
- 20) 鍋島陽一
老化マウスKlothoにおける内分泌異常 内科85、121-125(2000)
- 21) 鍋島陽一
klotho遺伝子 診断と治療88、1337-1342(2000)診断と治療社
- 22) 鍋島陽一
遺伝学の挑戦ー老化機構解明を目指してー免疫学のニューフロンティア 南山堂
- 23) 鍋島陽一
筋細胞の形態形成遺伝子とその異常 現代医療 32、2023-2033、(2000)
- 24) 鍋島陽一
Klotho研究と生物学の新たな視点 HUMAN CELL 13、81-84、2000
- 25) 鍋島陽一
老化は再生医学のターゲットか 最新医学 2000年 別冊 再生医学 44-50
- 26) 鍋島陽一
生物学の1分野としての老化研究 細胞 33(2)2-3、2001
- 27) 鍋島陽一
生体の恒常性維持機構とklotho遺伝子 医学のあゆみ196、237-240、2001
- 28) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三

血管内皮保護におけるKltoho遺伝子の機能 日本臨床 57, 1514-1518, (1999)

29) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
血管病変における老化抑制遺伝子Kltohoの意義 脈管学 39, 237-241, (1999)

30) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
Kltohoマウスは内皮細胞障害を来すか Thrombosis and Circulation 7, 322-323, (1999)

31) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
kltoho遺伝子と血管病変形成 BIO Clinica 14, 1288-1291, (1999)

32) 斎藤勇一郎、中村哲也、相澤宏樹、松村穰、大山良雄、倉林正彦、増田浩明、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
高血圧症におけるkltoho遺伝子の役割 分子循環器研究会講演会講演記録集
分子循環器研究会編 日本心臓財団 13-14, 1999.

33) 斎藤勇一郎、黒尾 誠、鍋島陽一、永井良三
Kltohoマウスは内皮細胞障害を来すか 血栓と循環 7, 322-323, (1999)

34) 斎藤勇一郎、黒尾 誠、鍋島陽一、永井良三
Kltoho遺伝子と血管病変形成 BIO Clinica 14, 1288-1291, (1999)

35) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
老化制御遺伝子の働き BIO Clinica 15, 220-223, (2000)

36) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
老化抑制遺伝子kltohoの血管保護作用 実験医学 18, 696-700, (2000)

37) 斎藤勇一郎、黒尾 誠、鍋島陽一、永井良三
Kltoho遺伝子 日本臨床 58, 561-565, (2000)

38) 斎藤勇一郎、黒尾誠、鍋島陽一、永井良三
老化を制御する遺伝子Kltoho 新たな血管内皮保護因子 分子心血管病 1, 46-52, (2000)

39) 山下照仁、鍋島陽一、野田政樹
早期老化マウスにおける骨の形態形成異常 実験医学 16、131-135 (1998)

40) 野田政樹、山下照仁、二藤 彰、古屋高一、鍋島陽一
個体老化モデルとしてのKltoho遺伝子変異をもつマウスの骨の形態学的異常
Molecular Medicine 4、444-447 (1998)

41) 永井良三
老化抑制遺伝子kltohoと血管病態 東京女子医科大学雑誌 69, 164-169, (1999)

42) 永井良三
老化抑制遺伝子kltohoと血管病態 大阪医学 33, 38-41, (1999)

43) 永井良三
老化関連遺伝子 kltoho と血管病態
第114回日本医学会シンポジウム 血管障害 発症機序の解明から治療まで 日本医学会 90-96, (2000)

44) 山洞善恒、須賀達夫、倉林正彦、永井良三
Kltoho遺伝子ヘテロ欠損マウス THE LUNG perspectives 8, 340-346, (2000)

45) 須賀達夫、前野敏孝、倉林正彦、永井良三
老化モデルマウスにおける肺気腫成立の機序 THE LUNG perspectives 8, 393-394, (2000)

(2) 口頭発表

- ・招待講演 (国内学会 36件、国際会議 12件)

1) Nabeshima Y.

Mutation of the mouse Kltoho gene leads to a syndrome resembling ageing
Japan-Germany joint Meeting on Animal Models for Human Diseases. July 11-12, 1997

- 2) Nabeshima Y.
Maturation and aging; the final step in development
COE symposia on Molecular and Cellular Biology of Muscle Development December 8-9, 1997
- 3) Nabeshima Y.
Molecular Mechanisms of Aging
Beppu Hot Spring Harbor Symposium January 25-26 1998 Beppu
- 4) Nabeshima Y
The discovery of Klotho gene and its biological importance
International Meeting on Cell Technology July 30 1998 Kyoto
- 5) Nabeshima Y
The discovery of Klotho gene, an aging related gene.
Gordon Research Conference Aug. 19 1998 Tilton School
- 6) Nabeshima Y.
Klotho gene mutation leads to aging related disorders
Xth International Vascular Biology Meeting Aug. 29 1998 Cairns
- 7) Nabeshima
The biological importance of the discovery of the klotho gene related aging
Third Green Cross International Symposium on New Frontier in Vascular Biology, Thrombosis
and Hemostasis November 21, 1998 Osaka
- 8) Nabeshima Y.
The biological importance of discovery of klotho gene
International congress on gerontology '99 June 10 1999 Seoul
- 9) Nabeshima Y.
Biological importance of Klotho gene
Vascular Biology Conference '99 Aging July 24, 1999 Ohtsu
- 10) Nabeshima Y.
Challenge of overcoming aging related disorders
SHISIDO Science Symposium 2000 April 15, 2000 Tokyo
- 11) Nabeshima Y.
Klotho mouse: A model for human aging related disorders
Japan-USA Workshop on Mouse and Monkey Models for Studying Aging, Cardiovascular
Diseases and Other Age-Related Chronic Disorders. July 4, 2000 Kyoto
- 12) Nabeshima Y.
Challenge of overcoming aging related disorders
International mouse genome meeting satellite symposium Sep. 10, 2000 Yokohama
- 1) Nabeshima Y.
The biological importance of the discovery of the Klotho gene related to multiple aging disorders.
The 16th Kumamoto Medical Bioscience Symposium on Mechanisms of Aging and Age-related Disorders Oct. 16,
1999 Kumamoto
- 2) 鍋島陽一
個体老化の分子機構の解明を目指して
日本基礎老化学会シンポジウム「老化と細胞情報伝達」6月20日、1997 東京
- 3) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 高遠分子細胞生物学シンポジウム 8月21-22日、1997 高遠
- 4) 鍋島陽一
早期老化マウスの分子生物学的解析 日本生化学会ワークショップ 9月24日、1997 金沢
- 5) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 Wakoシンポジウム 11月5日、1997 東京

- 6) 鍋島陽一
挿入突然変異による早期老化マウスの樹立とその原因遺伝子の同定
日本遺伝学会 ワークショップ 11月16日、1997 横浜
- 7) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 蛋白研究所シンポジウム 11月27-28日、1997 大阪
- 8) 黒尾 誠、松村 譲、相沢宏樹、永井良三、鍋島陽一
個体老化の分子機構 日本分子生物学会「個体老化」 12月18日、1997 京都
- 9) 鍋島陽一
個体老化; Klothoの発見とその意義 骨代謝研究会シンポジウム 3月28日 1998 大阪
- 10) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 癌研連シンポジウム「癌化と老化の分子メカニズム」6月24日、1998 札幌
- 11) 鍋島陽一
老化と死を制御する仕組み
第13回「大学と科学」公開シンポジウム 生き物の形づくり1月23日1999年神戸
- 12) 鍋島陽一
個体老化の分子機構
日本学会議50周年記念シンポジウム 分子生物学と環境 1月30日1999年金沢
- 13) 鍋島陽一
個体老化とKlotho遺伝子 第15回臨床フリーラジカル会議 2月13日 1999年 倉敷
- 14) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 第12回日本老年脳神経外科研究会 特別講演 2月27日 1999年 金沢
- 15) 鍋島陽一
早期老化マウスKlothoの分子遺伝学的研究
第9回日本内科学会講演会シンポジウム老化の分子機構と臨床 3月30日1999年 東京
- 16) 鍋島陽一
早期老化マウスKlothoの分子遺伝学的研究
神経組織の成長・再生・移植研究会第14回学術集会 6月5日1999年 名古屋
- 17) 鍋島陽一
Klotho遺伝子の機能解明に向けて 日本基礎老化学会シンポジウム 老化モデルの最前線—老化の多様性と普遍性を探る 6月16日1999年京都
- 18) 鍋島陽一
老化の動物モデルとその分子機構 第21回日本老年医学会総会 Aging Science Forum 細胞の老化と個体の老化、老化の分子機構 6月18日 1999年 京都
- 19) 鍋島陽一
Klotho遺伝子の作用機構 第23回阿蘇シンポジウム 遺伝学の挑戦8月6日 1999年 阿蘇
- 20) 鍋島陽一
老化の分子メカニズム 日本学会議創立50周年記念第24回日本学会議薬理学研究連絡委員会シンポジウム 生命科学の最先端から創薬へ 10月1日 1999年 東京
- 21) 鍋島陽一
個体老化の分子機構 第14回日本整形外科学会基礎学術集会 教育研修講演10月7日1999年奈良
- 22) 鍋島陽一
Klotho遺伝子の発見とその意義 ゲノム創薬フォーラム第2回シンポジウム 疾患からゲノム創薬へ
11月12日 1999年 東京
- 23) 鍋島陽一
Klotho遺伝子から個体老化研究へ
第22回日本分子生物学会年会ワークショップ「老化の生物学」 12月9日 1999年 博多

24) 鍋島陽一
klotho遺伝子による老化のメカニズム 高血圧自然発症ラット学会総会 7月15日 2000 京都

25) 鍋島陽一
生体維持の機能とklotho遺伝子の機能 内分泌・代謝学サマーセミナー 7月21日 2000 支笏湖

26) 鍋島陽一
klotho遺伝子研究の新展開 日本ヒト細胞学会 教育講演 8月25日 2000 京都

27) 鍋島陽一
Klotho研究の新展開ー生物の時間軸をめぐって
第71回日本動物学会シンポジウム「発生の時間制御と時間生物学」9月22日 2000 東京

28) 鍋島陽一
klotho遺伝子研究の新展開 痴呆学会シンポジウム 9月29日 2000 上総

29) 鍋島陽一
klotho遺伝子研究の新展開 日本基礎歯科医学会シンポジウム 10月1日 2000 大阪

30) 鍋島陽一
老化疾患克服への挑戦 静岡県健康フォーラム 10月6日 2000 浜松

31) 鍋島陽一
Just being healthy--klotho研究のもたらすもの--日本生化学会シンポジウム 10月13日 2000 横浜

32) 鍋島陽一
遺伝学が開く未来ーklotho遺伝子研究の新展開ー人類遺伝学会教育講演 10月27日 2000 博多

33) 鍋島陽一
klotho遺伝子研究の新展開 ボディプラン公開シンポジウム 10月28日 2000 東京

34) 鍋島陽一
老化疾患の克服を目指して 上総DNA研究所公開セミナー 10月28日 2000 上総

35) 鍋島陽一
klotho遺伝子研究の新展開
第23回日本分子生物学会シンポジウム エージングの分子生物学 12月13日 2000 神戸

36) 鍋島陽一
老化疾患の克服を目指して 日本分子生物学会春期シンポジウム 公開講演 5月9日 2001 盛岡

口頭発表 (国際学会10件、国内学会14件)

- 1) Y Maeno, T Suga, Y Sando, T Maeno, S Tajima, T Hosono, M Sato, M Kurabayashi, M Kuro-o, Y Nabeshima and R Nagai
The heterozygous Klotho mice develop pulmonary emphysema after exposure to cigarette smoke and intra-tracheal instillation of bleomycin. International Conference ALA/ATS (America Lung Association / America Thoracic Society) (23rd-28th April, 1999, San Diego, CA, USA)
- 2) Asou Y., Yamashita T., Nifuji A., Shinomiya K., Nabeshima Y., and Noda M.
Aberrant maturation of growth plate chondrocytes in klotho mutant mice. 46th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, Orlando, Florida, U.S.A. March 12-15, 2000.
- 3) Yamashita T., Higashio K., Nabeshima Y. and Noda M.
Double Mutant Mice that Lack Both Klotho and OCIF/OPG Genes Reversed Osteopetrotic Klotho Phenotype in Cancellous Bone to Normal. Twenty-Second Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Toronto, Ontario, Canada. September 22-26, 2000.
- 4) Asou Y., Amizuka N., Yamashita T., Nabeshima Y., Ozawa H. and Noda M.
Reduction in the Number of Chondrocyte Columns and in the Height of Prehypertrophic/ Hypertrophic Zone in Growth Plate Temporarily Associate with Bone Phenotypes in Klotho Mutant Mice. Twenty-Second Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Toronto, Ontario, Canada. September 22-26, 2000.

- 5) Yamashita T., Kawaguchi N., Nabeshima Y. and Noda M.
Site-Specific Reduction of Osteoclast Number and Size in Klotho Mutant Mice That Exhibit a Syndrome Resembling Precocious Aging of Human. Twenty-First Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, St.Louis, Missouri, U.S.A. September 30-October 4, 1999.
 - 6) Yamashita T., Kuroo M., Nabeshima Y. and Noda M.
Severe hypercalcification and osteopenia associated with precocious aging in a transgenic mouse carrying insertional mutation in a novel klotho gene locus.The 44th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, New Orleans, Louisiana, U.S.A. March 16-19, 1998.
 - 7) Yamashita T., Nabeshima Y. and Noda M.
Lack of klotho gene product, a suppressor of a syndrome resembling aging and a novel regulator of bone metabolism, blocks bone resorption after bone marrow ablations. Second Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research and The International Bone and Mineral Society, San Francisco, California, U.S.A. December 1-6, 1998. The Journal of Bone and Mineral Research 23.
 - 8) Kawaguchi N., Yamashita T., TsujiK., Wong B., Nabeshima Y., Choi Y. and Noda M.
Soluble TRANCE(RANKL, ODF) receptor blocks development of osteoclast-like cells in klotho mutant mice-derived bone marrow cells cultured in the presence of the mutant mice serum. Second Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research and The International Bone and Mineral Society, San Francisco, California, U.S.A. December 1-6, 1998. The Journal of Bone and Mineral Research 23.
 - 9) Yamashita T., Kuroo M., Nabeshima Y. and Noda M.
Severe hypercalcification and osteopenia associated with precocious aging in a transgenic mouse carrying insertional mutation in Klotho gene locus.The 37th American Society for Cell Biology Annual Meeting, Washington, D.C., U.S.A. December 13-17, 1997. Molecular Biology of the Cell 8.
 - 10) Yamashita T., Kuroo M., Nabeshima Y. and Noda M.
Rescue of severe hypercalcification associated with precocious aging in mice carrying insertional mutation in novel gene, Klotho, locus.The 37th American Society for Cell Biology Annual Meeting, Washington, D.C., U.S.A. December 13-17, 1997. Molecular Biology of the Cell 8.
- 1) 山下 照仁、関矢 一郎、石島 旨章、二藤 彰、鍋島 陽一、野田政樹、坐骨神経離断による骨量減少はklotho遺伝子変異マウスにおいて制御される、第18回日本骨代謝学会、広島国際会場、2000年7月19-22日。
 - 2) 山下照仁、麻生義則、二藤彰、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスにおける成長軟骨細胞の形成異常、第17回日本骨代謝学会、大阪リーガロイヤルホテル、1999年7月29-31日。
 - 3) 山下照仁、辻邦和、儀武啓幸、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスにおける骨髄除去後の骨吸収過程におけるOCIF及びODFの発現、第17回日本骨代謝学会、大阪リーガロイヤルホテル、1999年7月29-31日。
 - 4) 山下照仁、辻邦和、儀武啓幸、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスを用いた骨髄除去後の骨吸収期におけるOCIF遺伝子の発現亢進、第14回日本整形外科学会基礎学術集会、なら100年会場、1999年10月6-8日。
 - 5) 山下照仁、鍋島陽一、野田政樹、klotho遺伝子変異マウスは骨髄除去後の大腿骨において部位特異的な破骨細胞の形態的变化を示す、第22回日本分子生物学会年会、福岡ドーム、1999年12月7-10日。
 - 6) 辻 邦和、伊藤嘉明、野田政樹、Fibroblast Growth Factor(FGF)は、骨芽細胞様細胞においてCbfa1/Osf2/Tit-1の発現量を低下させる、第22回日本分子生物学会年会、福岡ドーム、1999年12月7-10日。
 - 7) 川口奈奈子、山下照仁、鍋島陽一、野田政樹、組織特異型Mitfのklothoミュータントマウスにおける発現の検討、第22回日本分子生物学会年会、福岡ドーム、1999年12月7-10日。
 - 8) 山下照仁、関矢一郎、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスにおける坐骨神経離断後の骨量のマイクロCTによる解析、第16回日本骨代謝会議、1998年8月5-8日。
 - 9) 山下照仁、儀武啓幸、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスの骨髄除去後における骨髄内骨梁の骨形成、骨吸収に関する研究、第16回日本骨代謝学会、1998年8月5-8日。
 - 10) 山下照仁、儀武啓幸、鍋島陽一、野田政樹、骨髄除去後におけるKlotho遺伝子変異マウスの骨髄内骨梁の形成ならびに吸収に関する研究。日本整形外科学会基礎学術集会、1998年9月25-27日。

- 1 1) 川口奈奈子、山下照仁、辻邦和、Wong,B、鍋島陽一、Choi,Y、野田政樹、可溶性TRANCE(RANKL,ODF)
受容体はKlotho遺伝子変異マウスにおける変異マウスの血清を用いたin vitroの破骨細胞形成を抑制する、日本分子生物学会年会、1998年12月16-19日.
- 1 2) 山下照仁、辻邦和、儀武啓幸、鍋島陽一、野田政樹、Klotho遺伝子変異マウスのOCIF/Osteoprotegerin
発現の亢進と骨髄除去後における骨髄内骨梁の骨形成、骨吸収に関する研究、日本分子生物学会年会、
1998年12月16-19日.
- 1 3) 山下照仁、古屋高一、黒尾誠、鍋島陽一、野田政樹、骨梁の過剰石灰化と延長を示す挿入突然変異
により作出された早期老化トランスジェニックマウスの椎骨における形態学的変化の解析、第15回日
本骨代謝学会、1997年7月24-26日.
- 1 4) 二藤彰、山下照仁、田村正人、黒尾誠、鍋島陽一、野田政樹、早期老化トランスジェニックマウス
の顎口腔の硬組織における変化、第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日.

(3) 受賞等

受賞

ベルツ賞 1998年度 受賞者 永井良三、黒尾誠、鍋島陽一

第20回アメリカ骨代謝学会Travel Award

演題： Lack of klotho gene product, a suppressor of a syndrome resembling aging and a novel
regulator of bone metabolism, blocks bone resorption after bone marrow ablations

受賞者：山下照仁

新聞報道

- 1) Klothoの発見について (1997年11月) 鍋島陽一、黒尾誠
海外の新聞にも紹介される
テレビを通じてKlotho遺伝子、klothoマウスが数回取り上げられた。
- 2) 骨量の減少を制御する蛋白質
(1999年7月、2000年1月、2001年2月) 野田政樹

その他