

老化細胞を殺して若返る

城村 由和 荒谷 紗絵 中西 真

Key words : 老化, 老化細胞, 慢性炎症, GLS1, 小胞体

人はなぜ老いるのか？ この誰もが必ず経験する生命現象は、時の権力者らにより強い興味の対象となった最も古い科学的命題の一つである。しかしながら、現代科学をもってしてもこの疑問に対して多くは回答できない。近年の研究から、加齢に伴う臓器・組織の微小慢性炎症が個体の老化の原因の一つであることがわかってきた。更に老化細胞が分泌する炎症性サイトカインが微小慢性炎症に大きく関わっていることも提唱されている。本稿では、老化細胞を標的としてこれを除去することで、慢性炎症を抑制して老化を改善・予防する可能性について概説する。

I. 老化細胞とは (図1)

今から60年以上前に、米国の細胞生物学者である Hayflick はヒトの正常細胞を培養すると無限に増殖することなく、ある一定回数の分裂(分裂寿命)ののちに増殖を停止することを見いだした¹⁾。増殖を停止した細胞は細胞死を迎えることなく長期間にわたり生存することができるため、Hayflick はこれを老化細胞と名付けた。興味深いことに、この一定の分裂回数は細胞の種類には無関係に、由来とする生物種に依存して決まっていることがわかり老化細胞と個体老化との関連が示唆された

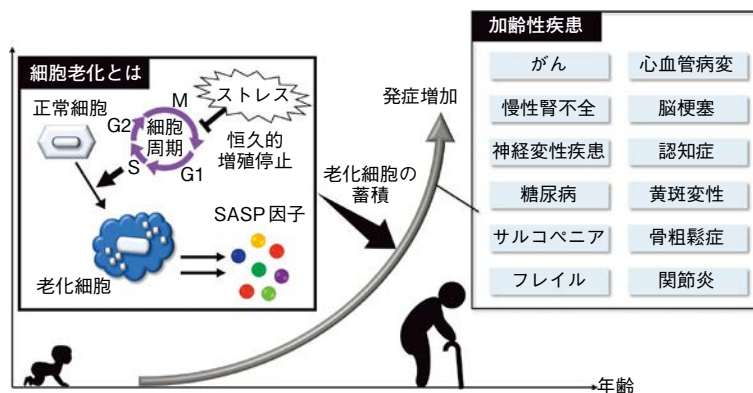


図1 老化細胞による加齢性疾患制御

老化細胞は加齢に伴い様々な臓器・組織に蓄積し、炎症性サイトカインや増殖因子を分泌して慢性炎症を誘発する。この慢性炎症ががんなどの多彩な加齢性疾患発症の引き金となる。

Rejuvenation by senolysis

Johmura Yoshikazu, Aratani Sae, Nakanishi Makoto : 東京大学医科学研究所癌防御シグナル分野 (〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1)

0370-9531/06/¥500/論文/JCOPY

が、一方でこの現象は培養中のアーチファクトであるとの意見もあった。その後、分裂寿命のみならず DNA 損傷や酸化的ストレス、更にはがん遺伝子活性化などのゲノムストレスにより誘導されることが明らかになり、細胞老化はがん化に対する防御機構の一つであると考えられるようになった²⁾。老化細胞はいかなる増殖因子刺激に対しても反応せず、恒久的な増殖停止状態を示し、またアポトーシス刺激に対しても抵抗性を示す。更に重要な性質として、老化細胞は様々な炎症性サイトカインや増殖因子を分泌する性質を獲得している (senescence associated secretory phenotypes; SASP)³⁾。細胞老化には決定的な分子マーカーは今のところ同定されていないが、p16 の発現や、Lamin B1 の消失、更にはリソソーム不全により惹起されると考えられる老化細胞特異的 β -gal 染色 (SA- β gal) 陽性となることで検出可能である⁴⁾。

細胞老化誘導にはがん抑制遺伝子産物である p53 や pRb、更には p16 が必須の役割を果たしている。これらの遺伝子に変異や欠失が生じると、細胞は老化することなく不死化する。細胞老化を誘導する様々なゲノムストレスは p53 を活性化する。p53 の活性化が細胞周期の G2 期で生じた場合、p21 の発現誘導を介して APC/C^{cdh1} を活性化することで、G2 期における分裂期制御タンパク質群の早熟分解を誘導する。G2 期で活性化された p53 は pRb を介して分裂期制御遺伝子の発現も抑制することで、G2 期における分裂期制御タンパク質のほぼ完全な消失をもたらす、これにより分裂期回避を引き起こして 4 倍体化する。その結果、恒久的な増殖停止がもたらされると考えられる⁵⁾。

II. 加齢や生活習慣に伴う老化細胞蓄積と疾患

加齢や肥満は生体内の老化細胞蓄積の引き金となる。例えば、加齢や肥満は 2 型糖尿病の大きな危険因子であり、患者の脂肪細胞には SA- β gal 染色陽性の老化細胞が顕著に蓄積している⁶⁾。脂肪組織における脂肪細胞老化は、インスリンに応答した脂肪組織内へのグルコースの取り込みが阻害されており、インスリン抵抗性の大きな一因と

なる⁷⁾。更に、老化細胞から分泌される多様なサイトカイン (SASP) は、脂肪前駆細胞に作用して脂肪細胞分化を抑制するのみならず⁸⁾、直接的にインスリン抵抗性にする⁹⁾。一方、膵島 β 細胞の老化も加齢に伴う 2 型糖尿病発症に関わっていると考えられる。実際、SA- β gal 陽性の老化 β 細胞数は加齢に伴い増加する¹⁰⁾。遺伝子レベルにおいても、p16 遺伝子座の一部の遺伝子多型が 2 型糖尿病や循環器系疾患発症の危険因子であることから、細胞老化とこれら加齢に伴う疾患との関連が示唆されている¹¹⁾。

腎臓は加齢に伴いその機能が大きく影響を受ける臓器の一つである。生理的には 60 歳以上になると年 16 cm³ ずつ腎容積が減少し、糸球体の分節性硬化や、血管の動脈硬化、尿細管の萎縮など構造的な変化もみられる¹²⁾。最終的には腎血流の低下から、糸球体濾過量の減少、尿管管での濃縮力低下を経て腎不全に至る。このような加齢腎の病態や合併症による腎不全病態に、老化細胞の蓄積が関わっていることが報告されている¹³⁾。老化細胞の蓄積は様々な部位に生じると考えられるが、とりわけ尿管管上皮での老化細胞の機能に注目が集まっている。尿管管上皮の細胞老化は SASP 因子を分泌し、コラーゲンを産生することで間質の線維化や炎症を誘発して病態を悪化させる¹⁴⁾。

加齢に伴う老年病の代表的なものに骨粗鬆症がある。骨粗鬆症病態においても、骨を形成する様々な細胞種において細胞老化の蓄積が認められる¹⁵⁾。このうち、骨髄系細胞と骨細胞において SASP 因子の分泌が顕著であり、とりわけ骨細胞の RANKL の発現増加が加齢に伴う骨皮質の減少と相関すると考えられている。

脂肪性肝炎を伴う肝障害は、近年アルコール摂取やウイルス感染によるものが減少している一方、高脂肪食摂取や高カロリー摂取、更には運動不足や生活習慣の乱れが原因となるものが増加している。脂肪肝の大部分は病状が進行しないが、10-20% 程度のものは肝炎状態に移行する。この病態を非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis; NASH) と呼び、放置すると肝硬変から肝がんへと移行する可能性がある。この NASH 病態に細胞老化が大きく関わっているこ

表 これまでに報告されている老化細胞除去薬物のまとめ

薬剤名	作用機序	実験モデル	治療効果
Quercetin	抗酸化作用, PI3K/AKT 抑制, p53/p21/serpines 抑制	高脂肪食	肥満関連腎症の改善
Quercetin + Dasatinib	抗酸化作用, PI3K/AKT 抑制, p53/p21/serpines 抑制, チロシンキナーゼ阻害	糖尿病性腎症 (ヒト) 肥満・糖尿病 加齢 早老症 動脈硬化 放射線照射 肝線維化 肺線維化 細胞移植 肥満	臨床試験中 アルブミン尿減少 心血管機能の改善 加齢性変化の減少 内臓石灰化プラークの減少 損傷部からの老化細胞消失 肝細胞への脂肪沈着減少 肺機能改善 寿命延長と身体機能の改善 脂質代謝機能改善
Navitoclax (ABT263)	BCL-2 阻害, BCL-xL 阻害, BCL-W 阻害	放射線 + 虚血再灌流 加齢 放射線照射 肺線維症 認知症 動脈硬化	腎機能・線維化改善 血球細胞と幹細胞の機能改善 肺線維化の減少 タウタンパク質のリン酸化減少 動脈硬化の改善
FOXO4 阻害	FOXO-DRI	早老症 加齢 ドキシソルビシン	腎機能改善 毛並みの改善 体重改善, 肝毒性改善
UBX0101	MDM2/p53 相互作用阻害	変形性関節症	痛み軽減, 関節変形の改善
Fisetin	BCL-2 阻害	加齢 早老症	寿命延長 幹細胞の老化マーカー発現低下
17-DMAG	HSP90 阻害	早老症	加齢性変化の減少, 腎臓の p16INK4a 発現低下
ARV825	BET 阻害	肝がん	肝がん発症抑制
BPTES	Glutaminase1 阻害	加齢	腎機能の改善, 身体能力改善, 肝・肺・動脈の加齢性変化改善

薬剤名, 作用機序, 実験モデル, および治療効果をまとめた。

とが報告されている¹⁶⁾。高脂肪食を与えたモデルマウスにおいても, ヒトの NASH 肝臓においても細胞老化マーカー分子の発現が増加しており^{17,18)}, 細胞老化誘導に必須の遺伝子である p53 欠損マウスに NASH を誘導すると, 野生型に比較して ROS の産生が有意に低く, 病状の進行も遅かった¹⁹⁾。

動脈硬化も生活習慣や加齢が原因となる疾患である。糖尿病同様に遺伝的な素因も重要であるが, 喫煙や肥満などは大きな危険因子である。動脈硬化の発症には多様な細胞種の老化が関与している²⁰⁾。例えば, 血管内皮細胞の老化はエンドセリンや NO, 更にはアンジオテンシン 2 や MCP-1 の産生を介して動脈硬化を促進し, また血管平滑筋細胞の老化は BMP2 やオステオポンチンの発現を介してプラーク不安定化や石灰化を促進す

る。マクロファージの老化は, 貪食した LDL コレステロールを分解してコレステロールとして放出する能力が低下する²¹⁾。以上のように, 細胞老化は加齢や生活習慣に関わる疾患の発症に大きく関与している。

Ⅲ. 老化細胞除去による老化・老年病の改善

細胞老化除去が老化・老年病病態の改善をもたらすことは, 遺伝学的手法を用いて細胞老化のマーカー分子である p16 陽性細胞を除去することで証明された²²⁾。内在性の p16 遺伝子座に FKBP-Casp8 を挿入して, AP20187 存在下で p16 発現細胞を除去可能なモデルマウス (INK-ATTAC) を用いて解析したところ, p16 陽性細胞除去によりインスリン抵抗性マウスにみられるグルコース代謝

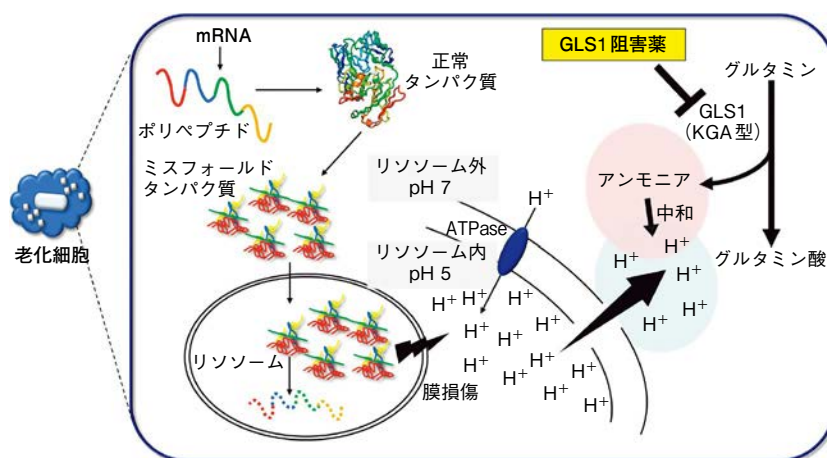


図 2 老化細胞における細胞内酸性化とグルタミン代謝

老化細胞内では大量のミスフォールドタンパク質が合成され、これらが凝集体となってリソソーム内に蓄積する。蓄積したタンパク質凝集体はリソソーム膜の損傷を誘導し、これによりリソソーム内の酸性物質が細胞質に流出して細胞内酸性化が生じる。老化細胞はこれを中和して生存する目的で、KGA 型 GLS1 の転写物を安定化してタンパク質量を増加する。増加した GLS1 はグルタミンをグルタミン酸に代謝し、この過程でアンモニアを生じて細胞内酸性化を中和する。したがって、GLS1 阻害薬は老化細胞に選択的に致死を誘導して、生体内より除去する。

と膵臓ランゲルハンス島β細胞機能が改善し²³⁾、老化骨細胞と破骨細胞除去によると思われる、加齢に伴う骨量低下が有意に抑制されることがわかった²⁴⁾。生活習慣病病態についても、NASH 病態、および動脈硬化のどちらも改善されることが報告された²⁵⁾。これらの知見を踏まえて、世界中で老化細胞を特異的に除去可能な薬物の開発が進められている(表)。

老化細胞を用いた薬物スクリーニングにより、Bcl-2 ファミリーの阻害薬である ABT263²⁶⁾ や ABT737 が生体からの老化細胞除去に効果的であり、老化した造血幹細胞や菌幹細胞を若返らせることが報告された。しかしながら、Bcl-2 ファミリーの Bcl-XL を阻害すると重篤な汎血球減少症を引き起こすことが知られており、ABT263 や ABT737 の臨床応用については慎重にならざるを得ない。

Quercetin はポリフェノールの一種で、果物や野菜に豊富に含まれ、抗酸化作用を有する化合物で、PI3K/AKT や p53/p21/serpines を抑制することでアポトーシス誘導効果を持つ。チロシンキナーゼ阻害薬の Dasatinib と併用して用いることで(D+W 療法)、静止細胞や増殖細胞に影響を与えることなく、老化細胞をアポトーシスに誘導

することが報告された²⁷⁾。D+W 療法を加齢マウスや生活習慣病マウスに用いると、加齢に伴う心血管系の不全や骨粗鬆症が改善されること²⁸⁾、更には糖尿病モデルマウスのインスリン抵抗性も改善されることがわかった²⁹⁾。

最近、大阪大学の原らにより、BET 阻害薬投与により老化細胞が特異的に除去され、肝がんの発症が抑制することが報告された³⁰⁾。ほかにも、FOXO4 阻害薬や 17-DMAG の早老症マウスにおける症状改善効果が報告されている。

IV. 老化細胞の代謝特性と GLS1 阻害薬による老化改善効果(図2)

筆者らは副作用の少ない老化細胞除去薬物を開発する目的で、老化細胞の生存に必須の遺伝子をスクリーニングした。その結果、グルタミンをグルタミン酸に代謝し、アンモニアを産生するグルタミナーゼ1(GLS1)が老化細胞の生存に必須の遺伝子であることを明らかにした³¹⁾。老化細胞のリソソームには大量のタンパク質凝集体が存在してリソソーム膜に損傷を与えており、この膜損傷を介してリソソーム内の H⁺ が細胞質に遊離して細胞内酸性化を来している(図2)。GLS1 には GAC 型と KGA 型の2つのアイソフォームが存在し、

老化細胞では KGA 型が特異的に発現誘導している。KGA 型 GLS1 転写産物には細胞内酸性化に反応して転写産物を安定化する領域があり、この領域が老化細胞における KGA 型の発現誘導に必須であることがわかった。このことから、老化細胞内の酸性化を中和するために GLS1 により産生されたアンモニアを利用していると考えられる。

GLS1 阻害薬の生体への影響を明らかにするために、20 か月齢のマウスに週 2 回、合計 9 回 GLS1 阻害薬である BPTES を投与した。その結果、腎臓においては糸球体硬化率やマクロファージ浸潤が軽減し、腎機能の指標である血清クレアチニンや尿素値も改善した。肺では線維化率の改善、肝臓ではマクロファージ浸潤の軽減と血清アルブミン、遊離脂肪酸値などの機能が改善した。更に握力やつまみ時間などの筋力や、高サイトカイン血症も改善した。一方、高脂肪食摂取による動脈硬化やインスリン感受性なども有意に改善した。これらのことを踏まえると、GLS1 活性の阻害はマウス個体内において老化細胞を選択的に除去し、それに伴い多くの加齢に伴う臓器機能の低下や老年病発症が改善されると考えられた。重要なことに、ヒトにおいても GLS1 の発現は加齢と共に増加することから、今後 GLS1 阻害薬によるヒトを対象とした老化細胞除去療法の確立とその臨床応用が期待される。

おわりに

近年の研究から、加齢に伴う老化細胞の蓄積が多様な臓器や組織に慢性炎症を誘発し、老化や老年病の基礎病態を構成することがわかってきた。このことから、炎症の原因となる老化細胞を選択的に除去できれば、老化や老年病が改善できると考えられる。実際に、既にマウスレベルでは期待以上の効果がみられている。今後、老化細胞除去療法のヒトへの応用に向けて加速していくものと思われる。

●文 献

- Hayflick L, Moorhead PS : *Exp Cell Res.* 25 : 585-621, 1961
- Campisi J : *Cell.* 120 : 513-522, 2005
- Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL et al : *EMBO Rep.* 15 : 1139-1153, 2014
- Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M : *Trends Cell Biol.* 28 : 436-453, 2018
- Johmura Y, Shimada M, Misaki T et al : *Mol Cell.* 55 : 73-84, 2014
- Narasimhan A, Flores RR, Robbins PD, Niedernhofer LJ : *Endocrinology.* 162 : bqab136, 2021
- Palmer AK, Gustafson B, Kirkland JL, Smith U : *Diabetologia.* 62 : 1835-1841, 2019
- Xu M, Palmer AK, Ding H et al : *Elife.* 4 : e12997, 2015
- Zaragosi LE, Wdziekonski B, Villageois P et al : *Diabetes.* 59 : 2513-2521, 2010
- Aguayo-Mazzucato C, van Harren M, Mruk M et al : *Cell Metab.* 25 : 898-910, 2017
- Hannou SA, Wouters K, Paumelle R, Staels B : *Trends Endocrinol Metab.* 26 : 176-184, 2015
- Hommos MS, Glasscock RJ, Rule AD : *J Am Soc Nephrol.* 28 : 2838-2844, 2017
- Sturmlechner I, Durik M, Sieben CJ et al : *Nat Rev Nephrol.* 13 : 77-89, 2017
- Mylonas KJ, O'Sullivan ED, Humphries D et al : *Sci Transl Med.* 13 : eabb0203, 2021
- Farr JN, Fraser DG, Wang H et al : *J Bone Miner Res.* 31 : 1920-1929, 2016
- Papatheodoridi AM, Chrysavgis L, Koutsilieris M, Chatzigeorgiou A : *Hepatology.* 71 : 363-374, 2020
- Zhang X, Zhou D, Strakovsky R et al : *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 302 : G558-G564, 2012
- Aravinthan A, Scarpini C, Tachtatzis P et al : *J Hepatol.* 58 : 549-556, 2013
- Tomita K, Teratani T, Suzuki T et al : *J Hepatol.* 57 : 837-843, 2012
- Wu CM, Zheng L, Wang Q, Hu YW : *Clin Chem Lab Med.* 59 : 27-38, 2021
- Sene A, Khan AA, Cox D et al : *Cell Metab.* 17 : 549-561, 2013
- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T et al : *Nature.* 479 : 232-236, 2011
- Aguayo-Mazzucato C, Andle J, Lee TB Jr et al : *Cell Metab.* 30 : 129-142, 2019
- Farr JN, Xu M, Weivoda MM et al : *Nat Med.* 23 : 1072-1079, 2017
- Ogrodnik M, Miwa S, Tchkonja T et al : *Nat Commun.* 8 : 15691, 2017
- Chang J, Wang Y, Shao L et al : *Nat Med.* 22 : 78-83, 2016
- Hickson LJ, Langhi Prata LGP, Bobart SA et al : *EBioMedicine.* 47 : 446-456, 2019
- Tchkonja T, Kirkland JL : *JAMA.* 320 : 1319-1320, 2018
- Palmer AK, Xu M, Zhu Y et al : *Aging Cell.* 18 : e12950, 2019
- Wakita M, Takahashi A, Sano O et al : *Nat Commun.* 11 : 1935, 2020
- Johmura Y, Yamanaka T, Omori S et al : *Science.* 371 : 265-270, 2021