

細胞老化が生体機能に及ぼす影響とその機構に関する研究（25-18）

主任研究者 国立長寿医療研究センター 老化細胞研究プロジェクトチーム
(プロジェクトリーダー)

研究要旨

哺乳動物の細胞は過度のストレス（DNAダメージなど）を受けると、細胞老化と呼ばれる恒久的な増殖停止状態に陥る。このようなストレスに対する感受性は、細胞の由来となる生物種の平均寿命と逆相関を示すことから、細胞老化が個体の寿命を規定する一因子ではないかと考えられてきた。細胞老化は、複数の癌抑制タンパク質を介した細胞周期チェックポイント機構の活性化により引き起こされ、生体において極めて重要な癌抑制機構として機能していることが明らかになっている。しかしながら現在までに細胞老化と個体の老化現象を結びつける決定的な証拠は見つかっておらず、老化現象に対する細胞老化の役割については疑問視されてきた。

細胞老化を起こした細胞（ここでは老化細胞と定義する）は、生体内においても様々な組織で加齢に伴い蓄積が認められている。しかしながらその頻度はきわめて低く、加齢に伴って見られる組織機能の低下に老化細胞が貢献しているかについては疑問視されてきた。しかし近年、老化細胞は単に増殖を停止しているだけでなく、様々な生理活性物質を分泌することにより積極的に老化細胞の周辺環境に影響を及ぼすことが示された。この様な老化細胞特異的な分泌表現型はSASP (Senescence-associated secreting phenotype) と呼ばれ、加齢に伴う組織機能の低下に関与する可能性が指摘されている。これまでに少なくとも、SASPを介した老化細胞の非細胞自立的機能により、癌細胞の増殖や幹細胞の異所的分化などを誘発し得ることが報告されている。しかしながら、老化細胞が加齢に伴う生体機能の変化にどのような役割を持つのか、またSASPなどの細胞老化特異的な表現型を維持するメカニズムについては未だ不明な点が多く残されている。

本研究では、これまでに我々が作製したモデル動物を用いて老化に伴う生体機能の変化や疾患において老化細胞の役割について解析を行った。

主任研究者

杉本 昌隆 国立長寿医療研究センター 老化細胞研究プロジェクトチーム
(プロジェクトリーダー)

A. 研究目的

本研究では細胞生物学的視点から加齢現象に迫り、モデル生物を利用して個体老化における細胞老化の役割について明らかにすること、また分子細胞生物学的手法を用いて細胞老化の表現型を発揮・維持するメカニズムについて明らかにすることを目的とする。最終的には、加齢性疾患に対して老化細胞が有効な創薬標的となるかについて知見を得ることを目的とする。

B. 研究方法

申請者の研究室ではこれまでに、生体から老化細胞をルシフェラーゼにより検出し、排除可能なモデルマウスの構築を行った。このモデルマウスを用いて、生体において老化細胞の動態と生理機能について検討した。

(倫理面への配慮)

実験上必要とされる遺伝子サンプル、動物の取り扱いは「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物多様性の確保に関する法律」を遵守した。動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえ、当該研究施設の倫理委員会で承認を受けた後に動物実験ガイドラインに則って実施した。

C. 研究結果

・生体から老化細胞の検出

上記モデルマウスから、*in vivo* イメージングシステムを用いて老化細胞の検出を行った。2ヶ月齢と12ヶ月齢マウスを用いてルシフェラーゼ発光を比較したところ、2ヶ月齢では殆ど発光は検出されなかったのに対し、12ヶ月齢では複数の組織で発光が検出された。次にどの組織においてルシフェラーゼ発光が見られるのか調べるために、12ヶ月齢マウスを開腹してイメージングを行ったところ、12ヶ月齢時点では主に脂肪組織と肺ルシフェラーゼの活性が認められた。12ヶ月齢におけるルシフェラーゼ活性の分布は、以前に我々が示した内在性の細胞老化マーカーの発現分布と一致していることから、老化細胞の蓄積を反映するものと考えられた。

以上の結果を踏まえ、マウス生体から老化細胞の除去可能かどうかを検証した。肺、脂肪組織にルシフェラーゼ活性が認められた 12 ヶ月齢のマウスに、薬剤を投与したところ、投与後 2 日で肺組織からルシフェラーゼ活性の消失が認められた。ルシフェラーゼ活性はその後 2 週間は検出されなかったが、3 週間目には回復が認められた。一方、脂肪組織に関しては肺組織とは異なり、高い再現性を持ってルシフェラーゼ活性の消失は見られなかった。そこで当該年度は、肺組織における老化細胞の役割について解析を行うことにした。

・呼吸機能の加齢性変化と老化細胞の関係

ヒトにおいて肺組織は 20 代をピークとしてその後加齢に伴って弾力を失う。肺の弾性力が低下すると、呼吸時に十分な収縮が行われなくなり、呼吸あたりの喚起効率が低下する。またこのような加齢に伴う弾性力の低下にはエラスチンを主構成成分とする弾性繊維の低下が関与し、ヒトにおいては肺気腫のリスクファクターとなることが知られている。

本研究では、加齢による肺の生理機能の変化と老化細胞の関係について解析を行った。比較対象として、2 ヶ月齢のマウス、12 ヶ月齢マウス、薬剤投与 12 ヶ月齢マウス（11 ヶ月齢の時点から 2 週間毎に 2 回薬剤を投与）を準備した。これらのマウスについて呼吸機能検査（スパイロメトリー）を行ったところ、2 ヶ月齢と比較して 12 ヶ月齢マウスでは明らかなコンプライアンス（伸展性）の増加と組織抵抗の低下が認められた。一方、薬剤を投与したマウスでは、これらのパラメーターが優位に変化し、若い時期に近い値を示した。このような薬剤の効果は、野生型マウスでは見られなかったことから、老化細胞依存的な現象であることが強く示唆された。また加齢により、中心気道抵抗の低下が起こることが知られているが、老化細胞の除去により、この値には変化は認められなかった。

D. 考察と結論

ヒトやマウスにおいて老化細胞は、加齢とともに様々な組織に蓄積することが報告されている。本研究では、ルシフェラーゼを指標として老化細胞を検出するモデルを使用した。肺と脂肪組織では他の組織と比較して早期からルシフェラーゼの活性が検出された。我々が以前に行った実験から、肺と脂肪組織では他の組織より早くから老化細胞が出現することが示されており、本モデルマウスにおいて検出されたルシフェラーゼ活性は老化細胞の蓄積を反映するものと考えられる。薬剤を投与することにより、肺組織からは 100%の再現性を持ってルシフェラーゼ活性の消失が見られた。しかしながら理由は現段階では不明であるが、脂肪組織からはこのような高い再現性を持ってルシフェラーゼ活性を除去することができなかった。特に脂肪が肥大したマウスではこの傾向が顕著であったことから、脂肪の成熟・肥大により HB-EGF 分子からのシグナルが阻害されるような環境が細胞内で形成される可能性が考えられる。本件については今後の検討課題とする。

呼吸器は加齢に伴って弾性繊維が低下し、その結果弾性力が低下する。このような機能

が低下した呼吸器は老人肺とも呼ばれ、肺気腫の大きなリスクファクターになると考えられている。本研究からは、老化細胞の除去により呼吸器の生理機能が少なくとも部分的に回復ことを示す結果が得られた。また予備実験結果から、老化細胞の排除により肺組織内の弾性繊維が回復ことを示す結果を得つつある。今後はより定量的な解析を行い、弾性繊維と老化細胞の関係について明らかにする。また、老化細胞を排除しても中心気道抵抗の値には変化が認められなかった。従って呼吸器の加齢現象すべてにおいて、老化細胞が影響を与えているわけではない、もしくは本部位においては不可逆的な加齢性変化が構築されていることが考えられる。

以上の結果から老化細胞は、肺気腫のリスクとなる呼吸器の加齢性変化を回復させる上で有効な創薬標的であることが強く示唆された。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kawagishi, H., Hashimoto, M., Nakamura, H., Tsugawa, T., Watanabe, A., Kontoyiannis, D. L., and **Sugimoto, M.** HuR maintains replicative lifespan by suppressing ARF tumor suppressor. *Mol. Cell. Biol.* *33*. 1886-1900. 2013. (Featured article)

2) Takagi, M., Piao, J., Kawagichi, H., Imai, C., Ogawa, A., Watanabe, A., Akiyama, K., Kobayashi, C., Mori, M., Ko, K., **Sugimoto, M.**, and Mizutani, S. Autoimmunity and persistent RAS-mutated clones long after the spontaneous repression of JMML. *Leukemia* *27*. 1926-1928 2013.

3) Unno, J., Takagi, M., Piao, J., **Sugimoto, M.**, Honda, F., Maeda, D., Masutani, M., Kiyono, T., Watanabe, F., Morio, T., Teraoka, H., and Mizutani, S. Artemis-dependent DNA double strand break formation at stalled replication forks. *Cancer Science* *104*. 703-710. 2013.

2. 学会発表

1) **杉本昌隆** 転写後発現調節機構を介した細胞老化の制御 第65回日本細胞生物学会シンポジウム 名古屋, 2013年6月21日 (招待講演)

2) 橋本理尋、川岸裕幸、**杉本昌隆** 転写後発現調節機構を介した細胞老化の制御 日本基礎老化学会第 35 回大会, 大阪, 2013 年 6 月 5 日

3) Tusugawa,T., Hashimoto,M., Kawagishi,H., and **Sugimoto,M.** Regulation of senescence-associated phenotypes by RNA-binding protein HuR. Salk Symposia Mechanisms and Models of Cancer, August 9, 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし