

## 【随 筆】

### 老化研究事起こし——老化細胞は高齢者の臓器に実際あるのか？

三井 洋司

徳島文理大学 香川薬学部

#### はじめに

今迄の事始めシリーズ、30話において、老化・寿命の制御にまつわる現状を広く、若い人向けに発信しましたが、新しい視点に気付かされたと言う人も、また、物足りなく思った人もいたでしょう。そして細胞の老化を基盤に考える私と異なる見解の人は、大いなる反論をしたいと思った事でしょう。

それら反論も想定して、これから老化・寿命の研究をどのように進めようか 一緒に考えてみませんか？

老化研究の事起こしです。

そのために今回は先ず、老化細胞についてなるべく認識を共有するところから始めて、個体の老化をどのように考えるかを提起し、その過程で、今後の研究課題を随時、検討していきましょう。

#### 第1話 老化を先行主導するのは？

老化の研究をするにあたって、老化細胞をどう考えるかは、最も基本的なことです。

生体が老化すると言っても、生体内に老化細胞なんて無いと思っている人もいますでしょう。「高齢者において、代謝系、神経内分泌系、ホメオスタシスに関わる制御システムが劣化してきて、機能破綻に向かっている臓器群は認めるけど、特定に老化した細胞は居ないのでは？」との意見を、優秀な研究者から聞きます。その場合、「老化した個体の体細胞は全て老化細胞」なのでしょうか？それとも、「さまざまな偶然の障害因子によって機能が衰え、細胞死に陥る直前の傷害細胞が老化細胞」ということでしょうか？また「調節系臓器に先ず機能不全が生じて、それこそが、個々の細胞へ障害をもたらす」と考えるのでしょうか？

私の理解では、老化細胞についてもっと明確なイメージを描けます。体細胞が老化して、寿命に達するには、広義の遺伝子プログラムが原理として働き、しかも、それを補うべき幹細胞からの再生系も衰えます。だから臓器内の細胞群も数が減るか、機能に欠陥が生じて、臓器、器官系の劣化が起こるのです。当然、この器官系の劣化は、他臓器の細胞群にも影響を与えますから、シグナルのネット間で相互に老化の影響が波及し、その効果は加速されて、結局、個体寿命に至ると考えます。

上記二つの論争点は、「生体調節系の老化」と「細胞の老化」で、どちらが先行した主要原因なのかということですが、40年ほど前になりますが、個体は一個の細胞を起源に発生、成長する事実を強く意識し、その働きを発揮させる遺伝子と環境が寿命を決める鍵だと考えたからこそ、細胞老化のプログラム説で研究に邁進しました。当時、

老化研究のために自ら開発したTIG-1細胞から、今や本研究室では、不死化を達成したIMT細胞、更には、人工多能性幹細胞、hiPSCさえ創製できました。

マウスに至っては1個の線維芽細胞から個体まで作出できたとの報告もあるのです。細胞は万能だとの感じですが、こうして、細胞を軸にヒト個体の老化を考える視点に、ますます確信が湧きます。

さて、そういったからには、老化細胞とは何かについて、もっと明瞭に述べる責任がありそうです。

#### 第2話 老化細胞って、なんですか？

「事初め」で解説したように、end replication problemがありますから、線状DNAは複製ごとにテロメア反復配列の短縮を起こします。それをクロックとして、細胞は一定回数の分裂後に、増殖停止してしまいます。それが典型的な老化細胞で、テロメア短縮依存性の老化……①と言われます。平均して8Kb程度のテロメアを残したまま分裂停止しますが、それは、がん化など異常細胞になる前の予防機構と考えられています。その折には、シグナルとしてp53蛋白の発現が高まりますから、分裂停止できなければ、細胞死への誘導もあり得ることです。もう一つの重要なシグナルは、CdKのインヒビターとして働くp16 (INK4a) の発現亢進です。このp16は、細胞周期に依存せず、老化細胞特有に発現誘導されるのです。テロメアの機能障害は広い意味でDNA傷害ですが、この場合、テロメア末端でのヒストンH2にリン酸化の起こるのが特徴で、テロメアに結合した $\gamma$ H2AXが指標になります。

さて、がん化を防ぐ機構として細胞老化があると述べましたが、若い細胞においても、がん遺伝子が発動すると老化が急速に誘導されることが注目されています。これは第2の老化細胞で、oncogene-induced senescence ……②と呼ばれます。例えば、活性化rasを若い細胞に導入すると、増殖がずっと盛んになるかと言えばそうではなく、テロメア反復が充分長いま、急速に分裂停止します。この際は、p53が誘導されており、また、テロメアとは独立に、DNA傷害シグナルの $\gamma$ H2AX塊が核内に多数観察されます。②の老化については、がん遺伝子だけでなく、特定の増殖因子への暴露、あるいは、DNAへの傷害因子 (DNA stressor) でも、起こるようです。

mutagenはDNA傷害因子ですが、テロメア領域に多数ある塩基のGがターゲットになると、テロメア短縮も、より急速に起こります。同様に、強い酸化ストレスは、テロメアの短縮を加速します。それに加えてDNA傷害誘導の急速な第2の細胞老化をもたらすと考えられます。

それで、テロメアの短縮度は、細胞の分裂回数だけでなく、酸化ストレスへの暴露の程度を反映すると言う見解も出ています。

上に述べたテロメアの限界短縮に依存しない第2の細胞老化の発見は、大変重要です。人間に比べて、テロメアの長さが大変長いまま、細胞老化と個体老化が早く進む近交系マウスの現象や、DNA stressorによる急速な細胞老化も、これで良く説明されるからです。

一方、従来から老化細胞のマーカーとして使われているのが SA $\beta$  Gal (老化関連ベータガラクトシダーゼ) の活性です。至適領域が中性の $\beta$  Galで、それを持つ細胞は分裂寿命が末期になるにつれて、出現頻度が上がることで知られています。前記①、②の老化細胞との関連は不明ですが、これは傷害を受けた分裂停止細胞ではないかというあいまいな印象です。ただ、第3の老化細胞指標としてこれも実用的に有力です。

### 第3話 生体内に老化細胞はあるでしょうか？

上記の老化細胞は、主にインビトロで、詳細な因果解析がなされました。そして、分子レベルで、指標が同定され、免疫染色、蛍光発色、定量化などが検討されたのです。その指標を用いて、動物、人間の組織における老化細胞の存在が明らかになってきました。

特に、前がん状態の組織を解析すると、老化細胞が多数見つかったのは、注目に値します。例えば、がん遺伝子のBRAFの変異患者にできた皮膚の良性腫瘍とか、NF1の変異患者 (Ras活性が亢進する) における神経線維芽腫のなかに、老化細胞が認められています。ヒト前立腺の良性腫瘍内にも見つかります。これらは、テロメア短縮による①の老化細胞と、がん遺伝子活動による②の老化細胞の両方が含まれるに違いありません。その腫瘍細胞が悪性化すると腫瘍内に不死化細胞が出現するわけですが、それはテロメラーゼ遺伝子の発現誘導、またはALTと呼ばれるホモログスリコンビネーションのどちらかによって、テロメア長の維持機構を獲得しています。

腫瘍が悪性化する前は老化しつつある腫瘍細胞が大部分と言うわけなのです。

その意味では、がん細胞に老化を誘導する戦略は、治療に向けて有効に違いありません。その場合、テロメラーゼのインヒビターは別の視点から、もう既知の戦略です。むしろ、老化に本質的なp16や同じ遺伝子locusのARF (p53を誘導する) の発現を誘導する物質を、がん治療薬として探索したらどうでしょう。事起こしの一部です。

一方、正常組織でも老化細胞が見つかります。

老化したメラノ細胞が高齢動物で増えること、テロメラーゼ欠損マウスの肝臓で、老化細胞 (SA $\beta$  Galを指標に) が大量に増えることが見出されています。また、核内にみられる $\gamma$  H2AXのfociを指標にしても、高齢のマウスやサルを生体組織内に、老化細胞の増加が見出されます。ヒト動脈の血管にも、高齢者では、テロメア短縮の進んだ、寿命の短い老化細胞が見られます。また、加

齢に伴って、ヒトの皮膚や腎臓でp16の発現上昇が認められます。このように高齢者の臓器に、老化細胞が増えてくることを、実感できることです。

ところで、個体の老化にとって更に重要なことは、組織幹細胞に老化と枯渇が有るか否かです。つまり老化した体細胞を補う再生系が、補給を続けられるか否かです。

実際、高齢者における造血幹細胞の再生能力の衰えは、貧血をまねいており、皮膚表皮幹細胞の衰えは、薄い皮膚を、そして、メラニン色素幹細胞の供給不足は、白髪をまねいているようです。高齢になると、組織幹細胞においても、細胞老化指標であるp16の発現が上昇してきますが、これは、造血幹細胞系、神経前駆細胞などにおける再生能力の衰えと関係しているのでしょうか。こうした知見から言えることは、これら幹細胞に見られるテロメラーゼ活性は、テロメア短縮による細胞老化を防ぐ事が出来ないほど、不十分であり、機能細胞を供給し続けられないということです。

これらに関連して、特に注目しておきたいことがあります。

Gonzalezらによって作成された*mTert* (テロメラーゼ遺伝子) 過剰発現マウスを解析すると、がんが発生しなかったマウス個体では、対照に比べてその寿命は大きく延長していたとの報告があります。本研究室では既に*hTert*をヒト血管内皮細胞に導入して、寿命延長細胞や不死化細胞株を作製しました。それを動脈硬化モデルマウスの血管に移植して、内膜肥厚を防ぐことが出来る事を示しました。また、p53の下流にあるp21遺伝子を取り除けば、テロメラーゼ欠損マウスの寿命を延長できるとの報告があります。

こうして、細胞老化を遅延する戦略は、がん化を回避できさえすれば、個体の寿命延長を期待できると、示されたのではないのでしょうか？

ところで、まだ気になることが有ります。

老化細胞とは、決して若返らない細胞でしょうか？

### 事起こし①です。

広く認められているStrehlerの個体老化の定義によれば、個体の老化は不可逆的な過程です。どなたも今はそれを認めるでしょう。しかし細胞レベルではどうなのでしょう。

いわゆる分裂寿命に達する老化細胞は、機構が分かる前から、不可逆な過程と考えられています。テロメア短縮が一方的に進むわけで、テロメラーゼの活性誘導が無ければ、当然でしょう。

一方、解析が進んだ分子機序からいって、老化細胞にも2つのタイプがあると指摘する人もいます。つまり、p53とp16の両方の亢進が関わる分裂停止は不可逆的であるが、p53単独が関わる分裂停止は、可逆的だということです。これが前記の老化細胞①と②を示すかは不明です。

20年以上も前の共同研究に成りますが、SV40 virus

を老化しきった細胞に感染させると、DNAの複製は一時的に誘導されるのですが、分裂は再開しませんでした。しかし、老化細胞①、②でも、テロメラーゼやDNA修復系遺伝子の活性化等によって、分裂再開はあり得ないのでしょうか。

個体寿命の延長に期待も寄せられます。試せますよね？

関連しますが、別の視点から疑問があります。生体内で分裂停止の細胞は、老化細胞と関連はないのでしょうか？

### 事起こし②です。

生体内には分裂終了細胞 terminally differentiated cellと言われる細胞群があります。G<sub>0</sub>期にある細胞です。胎児期に分裂、増殖を重ねて、充分量の細胞を用意した心筋細胞とか神経細胞がそうだとされます。いずれも、成人に至って、その喪失や機能異常が、現実の老年病や寿命と関連すると、云う人もいます。この細胞は、分裂を決して再開しないのでしょうか。一方、テロメア短縮の限界に達して分裂停止した①の老化細胞と、テロメア長以外に果たしてどんな違いが有るのでしょうか？更に、テロメア長を維持した②の老化細胞とは、DNA傷害の程度に大きなちがいが有るだけでしょうか？

老化個体に由来する細胞から、或は増殖を殆どしないリンパ球からも、iPS細胞を樹立出来たとの報告はありますが、老化細胞やG<sub>0</sub>期細胞だとの確かな証拠は有りません。

いわゆる分裂終了細胞も、epigeneticな変化だけで分化するならば、その分化を変更させて、分裂再開できないのでしょうか？ 試せますよね？

一方、細胞周期を一時的に停止した静止期細胞、quiescent cellもあります。気にしていることは、組織幹細胞が、長期に分裂寿命を維持するためにquiescent cellをどのように維持するかです。

### 事起こし③

組織の幹細胞は分裂したとき、幹細胞のままの自己再生と前駆細胞に向かう分化とを起こします。体細胞として働く機能細胞を供給するために、分裂して前駆細胞を作りだします。ただ、むやみに分裂すると分裂寿命に陥りますので、なるべくquiescent cellの状態にいて、待機するのが良策です。quiescent cellとは、いわゆるG<sub>1</sub> arrest細胞です。G<sub>0</sub>期細胞との違いは、それとちがって、CdKを一定量発現し続けて、S期に素早く入る事が出来ることでしょう。ただ、老化細胞（ふざけて言えばG<sub>0</sub>細胞）との違いも重要なのに、不明点があります。

一方で、大量出血で貧血気味なら、幹細胞は盛んに分裂して前駆細胞を作るでしょう。

しかし、何かの折、幹細胞の枯渇を招く不必要な血球産生は決してしないのでしょうか？ 制御のシグナルは、何でしょうか？

高齢末期において其れは、特に重要です。幹細胞がquiescent cellを保持する方向と、分裂してsenescent cellに向かう方向の分岐点で、適宜、制御できないのでしょうか。細胞の分化、老化、再生の中身を極めておく必要が有ります。まずは、in vitroで検討を。

これは、あなたの寿命を左右する分岐点です。試せますよね？

次回もこんな怖い言葉で、迫れば幸い。お楽しみに。