

【総 説】

細胞老化研究の新展開

嶋本 顕、田原 栄俊

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 細胞分子生物学研究室

要約

テロメアの短縮による複製老化に端を発した細胞老化の研究は、がん遺伝子によって誘導される早期老化機構の発見で急速に進展し、その始めから終わりまでのおおまかな輪郭が明らかとなってきた。細胞はDNA損傷、活性酸素や過剰な増殖シグナルをストレスとして感知するだけでなく、慢性的な増殖刺激、がん抑制遺伝子の失活、核小体やエピジェネティクスの異常、代謝の変化をもストレスと感知して細胞老化を誘導する機構を発達させている。最近の研究から、生物はがん抑制機構としてだけでなく、胚発生、創傷治癒、そして組織修復においてプログラムされた細胞老化を駆使し、個体の恒常性を維持していることが明らかとなってきた。しかし一方で、個体に蓄積した老化細胞は、老化関連疾患の発症リスクを高める原因ともなっている。本稿では細胞老化の包括的な理解を目指して、細胞老化の新たな戦略としてのマイクロRNAと、若返りの機構としてのリプログラミングを織り交ぜて、細胞老化研究の最新の知見に焦点をあて、その動向について概説し今後の展望について考察する。

キーワード：細胞老化、SASP、エピジェネティクス制御、クリアランス、老化関連疾患リスク

はじめに

日本を含む医療先進国では高齢者人口が占める割合が年々上昇する、いわゆる高齢化社会の時代である。そして加齢ともなって発症リスクが高まるがんや生活習慣病の治療・予防への関心がこれまでに無く高まっている。哺乳類テロメラーゼ遺伝子の同定 [1-4]、過剰増殖シグナルによる細胞老化の誘導 [5]、遺伝的早老症の原因遺伝子の同定 [6-10]、そして線虫 [11-13] や酵母 [14] を用いた寿命制御経路の発見など、1990年代後半からとくに盛んになった老化研究の進展は、このような事情を背景にしてとくに最近眼を見張るものがある。

老化と長寿の機構を解明する研究はおもに、1) 酵母、線虫やショウジョウバエの変異体を用いた寿命の延長に係る遺伝子の探索、2) 酵母 Sir2 遺伝子の研究から発展した、サーチュイン活性化剤とカロリー制限による寿命延長の研究、3) 培養細胞系を用いた細胞老化の分子機構の解明、そして4) ヒト遺伝的早老症とマウスモデルを用いた老化機構の解明、に分類される。1) と2)、

及び3) と4) にはそれぞれ相補的な関係があり、また近年では、マウスとほぼ同じ体重でげっ歯類としては異例の平均寿命28年という、ハダカデバネズミを用いた研究が注目を集めており、長寿でありながらがんを発症しない機構の一端が明らかになりつつある [15]。

これらの老化研究のうち培養系を用いた細胞老化の研究は、ここにきて核心に迫りつつある。長らく細胞老化は、細胞の漸進的な分裂能力の低下がついには分裂停止に陥り、培養皿の上で扁平肥大化した形態を横たえて、静かに呼吸・代謝しながら生きながらえる、というイメージで捉えられてきた。ヒト正常細胞に分裂寿命が存在することは Hayflick が1961年に報告している [16]。テロメラーゼ活性をもたないヒト正常細胞は、染色体の末端複製問題により細胞分裂ごとにテロメアが短縮し、やがては不可逆的に細胞周期が停止した複製老化の状態に陥る [17-19]。複製老化では、分裂を繰り返して短縮したテロメアがDNA損傷応答を引き起こした結果、p53-p21 経路を活性化して細胞周期の不可逆的な停止を誘導する [20, 21]。

しかし、Hayflick の発見から40年余りにわたるこれらの研究成果は細胞老化の始まりを示したに過ぎず、その後の10年余りの細胞老化に関する多くの知見は、これまでのイメージとは180度異なるより動的な生命活動として細胞老化を捉えている。本稿では3) 培養細胞系を用いた細胞老化の分子機構の解明、に関する最近の研

連絡先：〒734-8553

広島市南区霞1-2-3

TEL：082-257-5292

FAX：082-257-5294

E-mail：shim@hiroshima-u.ac.jp

究に焦点をあて、その動向について概説し今後の展望について考察する。

多段階に進行する細胞老化

細胞老化の最初のステップは p53-p21 経路と p16^{Ink4a}-Rb 経路の活性化に代表される細胞周期の停止である。このステップを含め、細胞老化が初期、中期、後期の3つのステップから成ることが提唱されている (図1) [22]。p53-p21 経路の活性化による一過的な細胞周期の停止は、比較的弱い DNA 損傷応答によっても誘導される [23]。一方、細胞老化の初期においては、持続的な DNA 損傷応答による p21 の誘導が p38MAPK を活性化し、ミトコンドリアの機能不全と ROS の産生を誘導する。その結果、DNA 損傷応答のさらなる促進と p16^{Ink4a} の活性化が誘導され、このフィードバックループの形成と、Rb に依存した細胞老化特異的なヘテロクロマチン構造 (SAHF; senescence-associated heterochromatic foci) の形成による S 期に関連した E2F 標的遺伝子の抑制が、細胞周期の不可逆的な停止に重要な役割を果たすと考えられる (図1) [24-26]。線維芽細胞に対する定量的な放射線照射の実験から、慢性的な DNA 損傷を与え続けると、ほぼ同程度の DNA 損傷応答機構が持続的に誘導されるにも関わらず、ある照射線量を超えた場合にのみ細胞老化が誘導されることが報告されている [27]。また、53BP1 フォーカスを指標とした DNA 損傷の定量解析から、細胞老化を起こさない線量では効率的に DNA 損傷が修復されることでフォーカスの蓄積が

見られないが、細胞老化を起こす線量では DNA 損傷の蓄積が見られることがわかった [27]。これらの結果から、細胞には、持続的な DNA 損傷が細胞の DNA 修復能を超えた場合に、細胞老化を誘導する機構が備わっている可能性が示唆される。蓄積あるいは残存する DNA 損傷がどのように細胞老化を誘導するかは、今後の重要な課題であろう。不可逆的な細胞周期停止が確立された後、中期ではラミン B1 の減少によるヒストンのメチル化修飾の変化を含むダイナミックなクロマチンの構造変化が起こるとともに [28-30]、細胞老化特異的な増殖因子、細胞外マトリックス分解酵素、炎症性サイトカインの分泌亢進 (SASP; senescence-associated secretory phenotype) が誘導される (図1) [31]。初期から中期に掛けては細胞が分裂を停止して 10 日~2 週間の間にかかる反応であるが、1~2 ヶ月以上が経過した後期に入ると、染色体上の遺伝子をコードする領域の不活性化と、増殖する細胞ではヘテロクロマチン化されている非コード領域の活性化が見られる [32]。さらに細胞質において、染色体分配の阻害や異常によって形成される微小核とは異なる、クロマチン断片の出現が認められる (図1) [33]。これらの現象は老化細胞に様々な遺伝子発現変化を引き起こすと考えられる。次節からは細胞老化の各ステップについて詳述する。

初期ステップ (図1、初期を参照)

テロメアの短縮以外に ROS の産生も細胞老化における DNA 損傷の原因と考えられ [34]、DNA 損傷は細

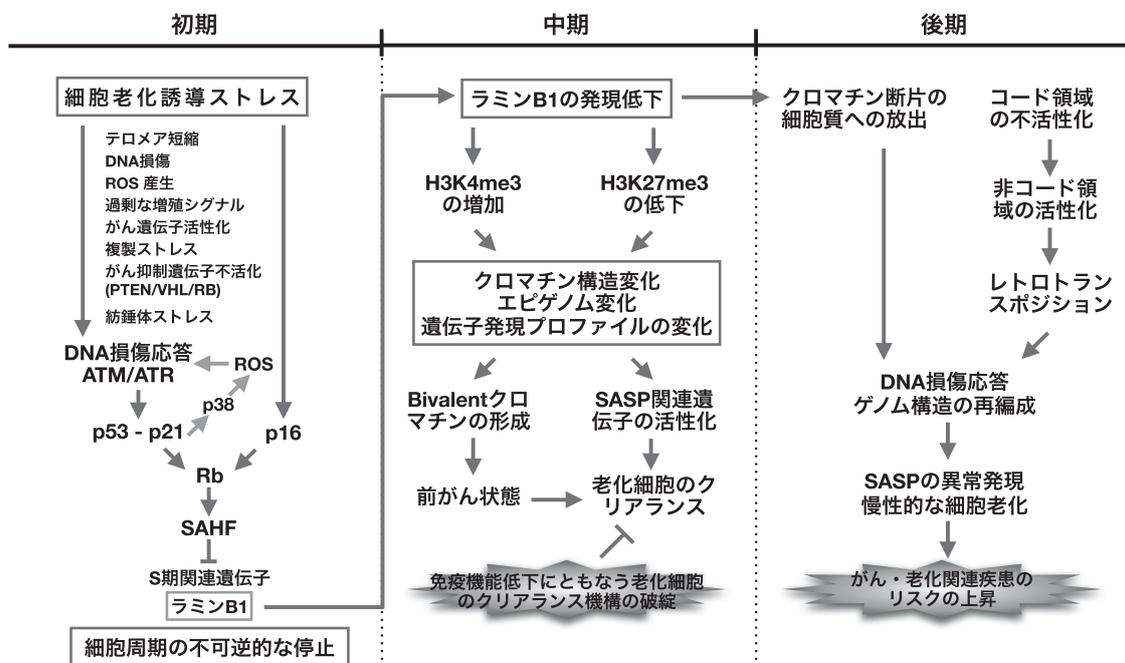


図1 多段階に進行する細胞老化

細胞老化は、細胞がストレスを感知して細胞周期を不可逆的に停止するまでの初期ステップ、エピゲノム変化をとめない SASP などのクリアランスに関わる情報を積極的に発信する中期ステップ、そしてゲノムの再編成と SASP の異常発現をとめないエピジェネティクス制御の破綻ががん・老化関連疾患のリスクを高める原因となる後期ステップ、の3つのステップからなる。

細胞老化にともない、また個体の加齢にともなって蓄積することが知られている [35]。DNA 損傷は ATM 及び ATR チェックポイントキナーゼの活性化を介して、DNA 損傷フォーカス (γ -H2AX フォーカス) の形成と p53-p21 経路の活性化を引き起こす [21]。また DNA 損傷が引き起こす細胞老化には p16^{Ink4a}-Rb 経路も重要な役割を担っている [36]。DNA 損傷応答を介した細胞老化は複製老化においてだけでなく、がん遺伝子の活性化による過剰な増殖シグナルによっても引き起こされる。活性型 Ras 変異体が誘導する細胞老化、いわゆる OIS (Oncogene-induced senescence) では [5]、複製開始を制御する Cdc6 の過剰発現により DNA 複製が強力に誘導されるが、同時にヌクレオチドの生合成に働く RRM2 が抑制されるために、ヌクレオチドの枯渇により DNA 複製の進行が阻害された結果、DNA 損傷応答を介した早期細胞老化が誘導される [37, 38]。がん抑制機構である OIS は活性型 RAF や BRAF でも誘導されるが [39, 40]、これらの早期細胞老化から、S 期を介さず DNA 損傷応答に依存しない細胞老化の機構の存在も明らかとなっている [41, 42]。さらにがん抑制遺伝子の不活性化による早期細胞老化も報告されている。PTEN はホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP3) の脱リン酸化酵素で、ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) 経路を負に制御する。そして PTEN ヘテロ KO マウスは高効率でがんを発症し、さらにヒト腫瘍において高頻度に遺伝子変異が認められることから、PTEN はがん抑制遺伝子として機能する。PTEN の抑制は AKT の活性化を引き起こすと同時に DNA 損傷応答に依存しない p53 の蓄積をもたらし、その結果、p21 の誘導により早期細胞老化を引き起こす [43]。VHL は、低酸素環境下におけるがんの増殖や転移に働く転写因子 HIF1 α に対する E3 ユビキチンリガーゼの構成因子であり、がん抑制遺伝子として機能する。VHL の抑制は p27 を誘導して Rb を活性化し、早期細胞老化を引き起こす [44]。不思議なことに、VHL の抑制は HIF1 α 及びその標的遺伝子を強く誘導するが、VHL 抑制による細胞老化にはこれらの誘導は必要ではなく、p53-p21 経路にも依存しない。神経線維腫症 I 型の原因遺伝子でがん抑制遺伝子の NF1 を抑制すると、一過的に Ras シグナル伝達経路が活性化され、その結果、あたかも OIS のように p53-p21 経路が誘導されて早期細胞老化を引き起こす [45]。さらに、がん抑制遺伝子 Rb の不活性化は E2F の転写活性化を介して、ファルネシル二リン酸合成酵素やプレニル基転移酵素の発現を上昇させる。その結果 N-Ras が活性化され、OIS に類似して DNA 損傷応答が細胞老化を引き起こす [46]。これらのエビデンスは、細胞が様々な発がんシグナルに対する抑制機構を発達させてきたことを物語っており、今後も上述以外の様々な発がんに関連したシグナルが細胞老化を誘導し、細胞老化の初期ステップに関与することが明らかにされるであろう。

中期ステップ (図 1、中期を参照)

細胞老化にともなうクロマチン構造変化は SAHF として知られている [26]。SAHF は p16^{Ink4a}-Rb 経路に依存して形成される老化細胞特異的なヘテロクロマチン構造で、細胞周期の進行に必要な E2F の標的遺伝子の活性化を抑制する。最近の研究から、核膜の内膜を裏打ちする核ラミナの構成因子ラミン B1 の発現が、様々な初期ステップにより誘導される細胞老化において減少することが報告された [29]。細胞老化においてラミン B1 は Rb 依存的に減少し、ラミン B1 を抑制するだけでも早期老化が誘導される [28]。興味深いことに、ラミン B1 の抑制による増殖抑制は p53 依存的で Rb を必要としないが、それに続く早期細胞老化は p53 及び Rb の両方に依存的である。このことは、不可逆的な細胞周期の停止には p16^{Ink4a}-Rb 経路がとくに重要な役割を果たしていることを示している。核ラミナは核の形やクロマチン構造と遺伝子発現に寄与していることから [47, 48]、細胞老化におけるラミン B1 の減少は細胞老化に特異的なクロマチン構造変化に寄与することが示唆される。

ヒストン H3 の 4 番目のリジン残基のトリメチル化 (H3K4me3) 修飾は、ヒストンのアセチル化とともに RNA ポリメラーゼの結合と転写の活性化のシグナルとして働き、一方、ヒストン H3 の 27 番目のリジン残基のメチル化 (H3K27me3) 修飾は、ヘテロクロマチン化と転写の抑制状態を維持するシグナルとして働くことが知られている。そして、転写活性化に働く H3K4me3 と転写抑制的に働く H3K27me3 の両方によって修飾されたヒストン H3 が存在する染色体領域は bivalent ドメインと呼ばれ、この領域は転写の活性化と抑制が平衡状態にある。つまり、bivalent ドメインでは転写は抑制的に維持されており、必要なシグナルを受けると即座に転写が活性化されるよう待機の状態にあると考えられる [49]。ごく最近の研究から、増殖が盛んなヒト正常線維芽細胞において H3K4me3 が低下し H3K27me3 に富んだ領域、即ち転写が抑制されたヘテロクロマチン領域が、老化した線維芽細胞では H3K4me3 と H3K27me3 の両方に富んだ bivalent ドメインに変化することが明らかとなった [30]。一方、細胞老化にともなって発現が減少するラミン B1 は抑制性の染色体領域に結合していることが知られており [50]、抑制された状態から細胞老化にともなって bivalent ドメインに変化する領域はラミン B1 結合領域と一致することから、老化にともなう Rb 依存的なラミン B1 の減少は、抑制的に制御されていたラミン B1 の結合領域を転写活性化待機の状態に誘導すると考えられる [30]。さらに、この bivalent ドメインは、がん細胞において DNA のメチル化が低下した領域、すなわち転写が活性化している領域と重なることから、老化細胞が前がん状態にあることを示唆している [30]。また、老化細胞において特異的に H3K27me3 が低下した領域には遺伝子やエンハンサーが存在し、老化関連遺伝子の発現上昇に重要な役割を果たすと考えられる。事実、SASP 関連遺伝子はこの H3K27me3 が低下した領域に存在することも明らかとなっている [30]。これらの結

果から、p53-p21 経路と p16^{Ink4a}-Rb 経路を介して不可逆的な細胞周期停止の状態に陥った細胞は、広範囲なクロマチンの構造変化を介して、SASP 等の老化関連遺伝子の発現上昇を引き起こすという、多段階に進む細胞老化の輪郭が見えてきた。

後期ステップ (図 1、後期を参照)

前述した中期の現象は複製老化や OIS、DNA 損傷剤処理等で細胞が分裂を停止して 10 日～2 週間以降に見られる現象である。SASP の生物学的意義には様々な議論があるが、老化した細胞が前がん状態の性質を有することを考慮すると、細胞老化の中期の段階では SASP は前がん細胞のクリアランスのシグナルとして機能するのではないかと考えられる。しかし、分裂を停止して 1～2 ヶ月が経過した後期では慢性的な細胞老化の状態となり、この時期以降に見られる現象はランダムで脱制御の状態を反映しているかもしれない。オープンクロマチン構造を検出する FAIRE (formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements) を用いた解析によって、分裂を停止して老化し 6 週間以上が経過したヒト線維芽細胞では、プロモーターやエンハンサー領域のシグナルが検出されず、逆に遺伝子があまり存在しない領域においてシグナルの増加が見られる [32]。とくにレトロトランスポゾン Alu, SVA そして L1 のクロマチン領域はよりオープンな状態で発現しており、分裂停止後の時間経過にともないレトロトランスポジションによるゲノムへの蓄積が認められた。間葉系幹細胞の分裂老化においても、Alu レトロトランスポゾンの発現上昇が見られ、DNA 損傷応答を引き起こす [51]。また、複製老化や OIS で分裂停止したヒト線維芽細胞では、H3K27me3 と γ -H2AX 陽性のクロマチン断片が細胞質に検出される [33]。これはラミン B1 の減少にともなう核膜の脆弱性に関連しており、老化細胞ではエピジェネティックな変化をともなうレトロトランスポジションやクロマチン断片の放出により、遺伝子の再編成が生じている可能性がある。

細胞老化における SASP の役割

細胞老化はがん抑制機構としての役割だけでなく、胚発生 [52-54]、創傷治癒 [55]、組織修復 [56]、そして個体の老化 [57] に深く関わっている。マウスの 12.5 日胚～14.5 日胚において中腎、内リンパ嚢、神経管、外胚葉性頂堤 (AER; apical ectodermal ridge)、そして指間の水かきなどで細胞老化が認められる。胚発生におけるプログラムされた細胞老化は p21 に依存するが、p53 や DNA 損傷に依存しない [52, 53]。皮膚の創傷治癒では、傷口の縫合の過程で見られる線維芽細胞の増殖が細胞老化によって制御される。細胞外基質の一種である CCN1 はインテグリン $\alpha 6 \beta 1$ 及びヘパラン硫酸プロテオグリカンと結合し、DNA 損傷応答、p53-p21 経路及び p16^{Ink4a}-Rb 経路を活性化して細胞老化を誘導する [55]。この創傷治癒における細胞老化は、過剰な線維芽細胞の増殖を抑制して線維化を阻害する役割を果たす。細

胞老化による線維化の抑制は肝臓においても認められる。四塩化炭素投与によるマウス肝臓の線維化モデルにおいて、肝臓の障害にตอบสนองして増殖した活性化星細胞は、やがて p53-p21 経路及び p16^{Ink4a}-Rb 経路に依存して細胞老化を引き起こす [56]。したがって組織修復の過程で、細胞老化は線維芽細胞の過剰な増殖による組織の線維化を抑制する役割を担っていると考えられる。

一方、SASP は老化細胞において誘導される分泌性因子をコードする遺伝子群で、増殖因子、細胞外マトリックス分解酵素、炎症性サイトカインなどが含まれ、細胞レベルでは老化の表現型を維持・増強する働きを有する [58, 59]。SASP は持続的な DNA 損傷応答に依存して誘導されるが [60]、DNA 損傷応答に依存しない産生経路も報告されている [42]。胚発生、創傷治癒、組織修復において認められる細胞老化は SASP の発現をとまなう。胚発生においては、CEBP/B、IGFBP5、WNT5A、CSF1、そして CD44 などの SASP 関連因子の誘導が報告されている [53]。また、創傷治癒では IL-6、IL-8、そして IL-11 などのサイトカインに加えて MMP1 や MMP3 といった細胞外基質分解酵素の誘導が見られる [55]。さらに組織修復においても、IL-8、IL-11、MMP1、そして MMP3 に加えて、NK 受容体である NKG2D に対するリガンド MICA などの発現が上昇する [56]。OIS が積極的な細胞老化を通じてがん抑制機構として働くように、胚発生、創傷治癒、組織修復における細胞老化はプログラムされており、個体の恒常性の維持に重要な役割を果たすと考えられる。これらのプロセスでは老化細胞は SASP を介した免疫機構によって組織から積極的に排除される (図 1、中期を参照)。胚発生では老化細胞の領域にマクロファージの浸潤が認められ、CSF1 によって誘引されたマクロファージを介して老化細胞が排除されると考えられる [53]。肝臓の修復においては、MICA を発現した老化細胞が NK 細胞を介して排除される機構が考えられる [56]。

個体の中でランダムに起こる細胞老化はどのような運命を辿るのであろうか。各組織に存在し、子孫の細胞を供給して組織の恒常性を維持する幹細胞は、加齢とともに老化する。組織幹細胞の老化・枯渇は組織の恒常性・機能維持の破綻を招き、個体の老化に強く関連している [61]。造血系の全ての系統を産生し自己再生する造血幹細胞の機能は、加齢とともに減少して、ある血液系細胞集団の喪失を招き免疫機能に影響を与える [62]。加齢にともなう老化細胞の増加と、免疫を介した老化細胞の排除機能の衰退は、個体レベルで老化細胞の蓄積を引き起こす。慢性的に蓄積した老化細胞は SASP のパラクリン作用によって周囲の細胞に老化を誘導し [63, 64]、またがん促進に働くことが示唆されている [31]。したがって、免疫機能低下が引き起こす老化細胞の慢性的な蓄積は、老化を増強し老化関連疾患を引き起こす要因と考えられる (図 1、後期を参照)。

BubR1 は紡錘体形成チェックポイントに働き、紡錘体形成チェックポイントの機能不全は染色体分配異常の原因となり、染色体不安定性を誘導する。BubR1 を正

常マウスよりも低発現するように遺伝子操作したマウスでは、皮下脂肪の喪失、白内障、創傷治癒の遅延、脊椎弯曲、そして寿命の短縮など早老症の兆候を呈する。p16^{Ink4a} は細胞老化の誘導に必須の役割を担うと同時に、優れた老化のバイオマーカーである [65]。BubR1 早老マウスの遺伝的バックグラウンドにおいて、p16^{Ink4a} のプロモーター領域を用い、薬剤投与により p16^{Ink4a} 陽性細胞を選択的に排除できるような遺伝子操作したトランスジェニックマウスでは、総じて老化に関連した病態の発症遅延が認められた [57]。このことは、老化細胞の蓄積が個体の老化に関連した病態を促進していることを逆説的に証明しており、プログラムされた細胞老化機構の破綻と慢性的な老化細胞の蓄積が、老化関連疾患の発症リスクと密接に関連していることが明らかとなった。

マイクロ RNA による細胞老化の制御

マイクロ RNA は 20 ~ 25 塩基の非コード RNA で、転写後の遺伝子発現調節を介して、胚発生、分化、細胞の増殖やアポトーシス、代謝、そして環境ストレスに対する適応などの様々な生命活動を制御する [66]。前述のように、細胞老化の初期ステップではテロメアの短縮、DNA 損傷や細胞周期制御の異常による DNA 損傷応答、増殖促進と増殖抑制のシグナルのバランスの変化が引き起こす OIS など、様々な機構が関与している。ヒトに 2000 種類以上存在するといわれるマイクロ RNA の一つ一つが、100 種類以上の標的遺伝子を制御することを考慮すると、細胞老化の制御にマイクロ RNA が関与していたとしても不思議ではない。近年の老化に焦点を当てたマイクロ RNA の研究成果から、30 種類近くの老化関連マイクロ RNA (SA-miRs; senescence-associated microRNAs) が同定されており [67]、それらのうちのいくつかは、明らかに細胞老化のプログラムに組み込まれて機能している。miR-34a は p53 によって誘導さ

れるがん抑制マイクロ RNA で、DNA 損傷や OIS で非常に強く誘導され、その標的は多岐にわたり細胞増殖の様々なプロセスを抑制的に制御する [68]。細胞老化においては E2F、CDK4、c-myc、そして SIRT1 を標的として細胞老化を誘導することが報告されている [68, 69]。また我々はヒト胎児肺由来線維芽細胞 TIG-3 を用いて、複製老化により発現上昇するマイクロ RNA として miR-22 を同定した。miR-22 は SIRT1、Sp1、そして CDK6 を標的として、正常細胞だけでなくがん細胞に対しても細胞老化を誘導する。このように、SA-miRs の標的遺伝子には増殖に機能する転写因子、クロマチン制御因子、細胞周期制御因子に加え、代謝酵素、シグナル伝達因子、細胞接着因子など様々な生物学的プロセスに関与する遺伝子が含まれている [67]。したがって、老化に関わるマイクロ RNA の標的遺伝子を詳細に調べることで、老化とがん抑制に関わる細胞の戦略が明らかになると考えられる。

リプログラミングによる細胞の若返り

体細胞に Oct3/4、Sox2、Klf4 や c-myc などの多能性遺伝子を導入して誘導することができる人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) は、個体を構成するあらゆる細胞に分化する多能性と無限に分裂する能力を併せもつ、胚性幹細胞 (ES 細胞) によく似た多能性幹細胞である。クローン ES 細胞に関する倫理問題と、異なる遺伝的背景をもつ ES 細胞の利用による免疫拒絶を回避できることから、その多能性と相まって iPS 細胞を用いたオーダーメイド移植医療や創薬スクリーニングへの応用が進められている [70]。体細胞への多能性遺伝子の導入によって誘導される初期化 (リプログラミング) では、体細胞の形質に関わる遺伝子が抑制され、ES 細胞マーカーや内在性多能性遺伝子が誘導されるとともに、細胞の不死化に関わるテロメラーゼが活性化される (図 2) [71-73]。さら

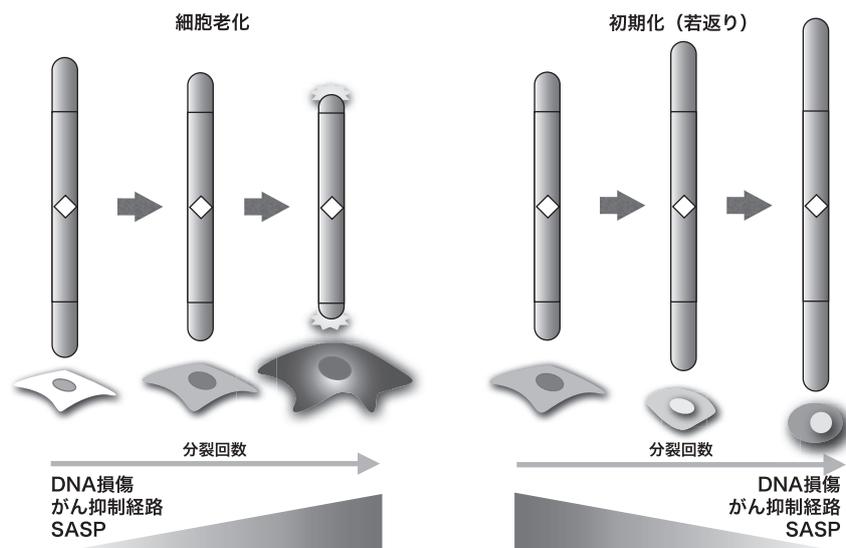


図 2 リプログラミングは細胞老化と正反対の方向に進行する
リプログラミングの過程ではテロメラーゼの活性化によりテロメアが伸長し、細胞老化に関連する p21 や p16^{Ink4a} の発現が強く抑制されるだけでなく、SASP 関連遺伝子もまた強く抑制される。

にリプログラミングにともない、老化に関連する p53-p21、p16^{ink4a}-Rb 経路に関わる遺伝子が抑制され [74]、また我々は SASP 遺伝子が非常に強く抑制されることを見出している (図 2) [75]。さらに酸化ストレスに関連する遺伝子発現やミトコンドリアの機能も初期化されることから [76]、iPS 細胞技術の出現は、リプログラミングが体細胞に未分化性、多分化能と無限分裂能を付与するだけでなく、本質的に細胞を若返らせることを証明している [77]。

終わりに

本稿では最近の細胞老化研究の知見から、細胞老化過程の多段階ステップと、さらに個体における老化細胞の意義についてまとめた。細胞老化はがん化を引き起こす種々のストレスによって誘導されるが、その入り口は上述のように多岐にわたる。また、さらなる証明や裏付けが必要ではあるものの、細胞老化の各ステップと個体に見られる細胞老化を関連付けて考えると、細胞老化は生物にとって必要かつ有益であるステップと、反対に有害無益であるステップに分けられることが明確に見てとれる。そして、SA-miRs の包括的な理解は細胞の老化誘導戦略を明らかにすると同時に、小分子 RNA を用いた老化誘導型がん治療薬の開発への応用が期待される。さらに、リプログラミング機構の解明は、何が細胞老化によって失われ、それらをどのように取り戻すことができるのかを明示してくれるはずである。これらの知見に基づいた細胞レベルでの老化抑制と、免疫機能回復・強化を含む個体レベルでの老化細胞排除の研究は、老化研究の基礎から応用への重要なテーマであり、今後ますますの発展が期待される。

参考文献

- Blasco MA, Funk W, Villeponteau B, Greider CW (1995) Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA. *Science* 269:1267-1270.
- Feng J, Funk WD, Wang SS, Weinrich SL, Avilion AA et al. (1995) The RNA component of human telomerase. *Science* 269:1236-1241.
- Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB, Weinrich SL, Andrews WH et al. (1997) Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science* 277:955-959.
- Meyerson M, Counter CM, Eaton EN, Ellisen LW, Steiner P et al. (1997) hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell* 90:785-795.
- Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW (1997) Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 88:593-602.
- Troelstra C, van Gool A, de Wit J, Vermeulen W, Bootsma D et al. (1992) ERCC6, a member of a subfamily of putative helicases, is involved in Cockayne's syndrome and preferential repair of active genes. *Cell* 71:939-953.
- Henning KA, Li L, Iyer N, McDaniel LD, Reagan MS et al. (1995) The Cockayne syndrome group A gene encodes a WD repeat protein that interacts with CSB protein and a subunit of RNA polymerase II TFIIH. *Cell* 82:555-564.
- Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y et al. (1995) A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 268:1749-1753.
- Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F et al. (1996) Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 272:258-262.
- Kitao S, Shimamoto A, Goto M, Miller RW, Smithson WA et al. (1999) Mutations in RECQL4 cause a subset of cases of Rothmund-Thomson syndrome. *Nat Genet* 22:82-84.
- Kimura KD, Tissenbaum HA, Liu Y, Ruvkun G (1997) daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277:942-946.
- Lin K, Dorman JB, Rodan A, Kenyon C (1997) daf-16: An HNF-3/forkhead family member that can function to double the life-span of *Caenorhabditis elegans*. *Science* 278:1319-1322.
- Ogg S, Paradis S, Gottlieb S, Patterson GI, Lee L et al. (1997) The Fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in *C. elegans*. *Nature* 389:994-999.
- Sinclair DA, Guarente L (1997) Extrachromosomal rDNA circles--a cause of aging in yeast. *Cell* 91:1033-1042.
- Tian X, Azpurua J, Hine C, Vaidya A, Myakishev-Rempel M et al. (2013) High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat. *Nature* 499:346-349.
- Hayflick L, Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 25:585-621.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345:458-460.
- Blackburn EH (1991) Structure and function of telomeres. *Nature* 350:569-573.
- Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP et al. (1998) Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279:349-352.
- Karlseder J, Broccoli D, Dai Y, Hardy S, de Lange

- T (1999) p53- and ATM-dependent apoptosis induced by telomeres lacking TRF2. *Science* 283:1321-1325.
21. d'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P et al. (2003) A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 426:194-198.
 22. van Deursen JM (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature* 509:439-446.
 23. Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K, Wahl GM (1994) DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long-term induction of Cipl in normal human fibroblasts. *Genes Dev* 8:2540-2551.
 24. Passos JF, Nelson G, Wang C, Richter T, Simillion C et al. (2010) Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence. *Mol Syst Biol* 6:347.
 25. Iwasa H, Han J, Ishikawa F (2003) Mitogen-activated protein kinase p38 defines the common senescence-signalling pathway. *Genes Cells* 8:131-144.
 26. Narita M, Nunez S, Heard E, Narita M, Lin AW et al. (2003) Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 113:703-716.
 27. Cao L, Kawai H, Sasatani M, Iizuka D, Masuda Y et al. (2014) A novel ATM/TP53/p21-mediated checkpoint only activated by chronic gamma-irradiation. *PLoS One* 9:e104279.
 28. Shimi T, Butin-Israeli V, Adam SA, Hamanaka RB, Goldman AE et al. (2011) The role of nuclear lamin B1 in cell proliferation and senescence. *Genes Dev* 25:2579-2593.
 29. Freund A, Laberge RM, Demaria M, Campisi J (2012) Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell* 23:2066-2075.
 30. Shah PP, Donahue G, Otte GL, Capell BC, Nelson DM et al. (2013) Lamin B1 depletion in senescent cells triggers large-scale changes in gene expression and the chromatin landscape. *Genes Dev* 27:1787-1799.
 31. Coppe JP, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Munoz DP et al. (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 6:2853-2868.
 32. De Cecco M, Criscione SW, Peckham EJ, Hillenmeyer S, Hamm EA et al. (2013) Genomes of replicatively senescent cells undergo global epigenetic changes leading to gene silencing and activation of transposable elements. *Aging Cell* 12:247-256.
 33. Ivanov A, Pawlikowski J, Manoharan I, van Tuyn J, Nelson DM et al. (2013) Lysosome-mediated processing of chromatin in senescence. *J Cell Biol* 202:129-143.
 34. von Zglinicki T (2002) Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27:339-344.
 35. Sedelnikova OA, Horikawa I, Zimonjic DB, Popescu NC, Bonner WM et al. (2004) Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unreparable double-strand breaks. *Nat Cell Biol* 6:168-170.
 36. Smogorzewska A, de Lange T (2002) Different telomere damage signaling pathways in human and mouse cells. *EMBO J* 21:4338-4348.
 37. Di Micco R, Fumagalli M, Cicalese A, Piccinin S, Gasparini P et al. (2006) Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature* 444:638-642.
 38. Aird KM, Zhang G, Li H, Tu Z, Bitler BG et al. (2013) Suppression of nucleotide metabolism underlies the establishment and maintenance of oncogene-induced senescence. *Cell Rep* 3:1252-1265.
 39. Zhu J, Woods D, McMahan M, Bishop JM (1998) Senescence of human fibroblasts induced by oncogenic Raf. *Genes Dev* 12:2997-3007.
 40. Michaloglou C, Vredeveld LC, Soengas MS, Denoyelle C, Kuilman T et al. (2005) BRAFE600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature* 436:720-724.
 41. Jeanblanc M, Ragu S, Gey C, Contrepois K, Courbeyrette R et al. (2012) Parallel pathways in RAF-induced senescence and conditions for its reversion. *Oncogene* 31:3072-3085.
 42. Kaplon J, Zheng L, Meissl K, Chaneton B, Selivanov VA et al. (2013) A key role for mitochondrial gatekeeper pyruvate dehydrogenase in oncogene-induced senescence. *Nature* 498:109-112.
 43. Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, Lin HK, Dotan ZA et al. (2005) Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 436:725-730.
 44. Young AP, Schlisio S, Minamishima YA, Zhang Q, Li L et al. (2008) VHL loss actuates a HIF-independent senescence programme mediated by Rb and p400. *Nat Cell Biol* 10:361-369.
 45. Courtois-Cox S, Genther Williams SM, Reczek EE, Johnson BW, McGillicuddy LT et al. (2006) A negative feedback signaling network underlies oncogene-induced senescence. *Cancer Cell* 10:459-472.
 46. Shamma A, Takegami Y, Miki T, Kitajima S, Noda M et al. (2009) Rb Regulates DNA damage response and cellular senescence through E2F-

- dependent suppression of N-ras isoprenylation. *Cancer Cell* 15:255-269.
47. Dechat T, Pfliegerhaa K, Sengupta K, Shimi T, Shumaker DK et al. (2008) Nuclear lamins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin. *Genes Dev* 22:832-853.
 48. Shimi T, Pfliegerhaa K, Kojima S, Pack CG, Solovei I et al. (2008) The A- and B-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization and transcription. *Genes Dev* 22:3409-3421.
 49. Voigt P, Tee WW, Reinberg D (2013) A double take on bivalent promoters. *Genes Dev* 27:1318-1338.
 50. Peric-Hupkes D, Meuleman W, Pagie L, Bruggeman SW, Solovei I et al. (2010) Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation. *Mol Cell* 38:603-613.
 51. Wang J, Geesman GJ, Hostikka SL, Atallah M, Blackwell B et al. (2011) Inhibition of activated pericentromeric SINE/Alu repeat transcription in senescent human adult stem cells reinstates self-renewal. *Cell Cycle* 10:3016-3030.
 52. Munoz-Espin D, Canamero M, Maraver A, Gomez-Lopez G, Contreras J et al. (2013) Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell* 155:1104-1118.
 53. Storer M, Mas A, Robert-Moreno A, Pecoraro M, Ortells MC et al. (2013) Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning. *Cell* 155:1119-1130.
 54. Rajagopalan S, Long EO (2012) Cellular senescence induced by CD158d reprograms natural killer cells to promote vascular remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:20596-20601.
 55. Jun JI, Lau LF (2010) The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nat Cell Biol* 12:676-685.
 56. Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J et al. (2008) Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* 134:657-667.
 57. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG et al. (2011) Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479:232-236.
 58. Kuilman T, Michaloglou C, Vredeveld LC, Douma S, van Doorn R et al. (2008) Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell* 133:1019-1031.
 59. Acosta JC, O'Loughlin A, Banito A, Guizarro MV, Augert A et al. (2008) Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133:1006-1018.
 60. Rodier F, Coppe JP, Patil CK, Hoeijmakers WA, Munoz DP et al. (2009) Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol* 11:973-979.
 61. Nakada D, Levi BP, Morrison SJ (2011) Integrating physiological regulation with stem cell and tissue homeostasis. *Neuron* 70:703-718.
 62. Wang J, Geiger H, Rudolph KL (2011) Immunoaging induced by hematopoietic stem cell aging. *Curr Opin Immunol* 23:532-536.
 63. Acosta JC, Banito A, Wuestefeld T, Georgilis A, Janich P et al. (2013) A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat Cell Biol* 15:978-990.
 64. Nelson G, Wordsworth J, Wang C, Jurk D, Lawless C et al. (2012) A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence. *Aging Cell* 11:345-349.
 65. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K et al. (2004) Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest* 114:1299-1307.
 66. Bartel DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116:281-297.
 67. Olivieri F, Rippo MR, Monsurro V, Salvioli S, Capri M et al. (2013) MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence and cancer. *Ageing Res Rev* 12:1056-1068.
 68. Li XJ, Ren ZJ, Tang JH (2014) MicroRNA-34a: a potential therapeutic target in human cancer. *Cell Death Dis* 5:e1327.
 69. Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H (2007) Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:15472-15477.
 70. Stadtfeld M, Hochedlinger K (2010) Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev* 24:2239-2263.
 71. Stadtfeld M, Maherali N, Breault DT, Hochedlinger K (2008) Defining molecular cornerstones during fibroblast to iPS cell reprogramming in mouse. *Cell Stem Cell* 2:230-240.
 72. Marion RM, Strati K, Li H, Tejera A, Schoeftner S et al. (2009) Telomeres acquire embryonic stem cell characteristics in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 4:141-154.
 73. Wang F, Yin Y, Ye X, Liu K, Zhu H et al. (2012) Molecular insights into the heterogeneity of

- telomere reprogramming in induced pluripotent stem cells. *Cell Res* 22:757-768.
74. Li H, Collado M, Villasante A, Strati K, Ortega S et al. (2009) The Ink4/Arf locus is a barrier for iPS cell reprogramming. *Nature* 460:1136-1139.
 75. Shimamoto A, Kagawa H, Zensho K, Sera Y, Kazuki Y et al. (2014) Reprogramming Suppresses Premature Senescence Phenotypes of Werner Syndrome Cells and Maintains Chromosomal Stability over Long-Term Culture. *PLoS One* 9:e112900.
 76. Lapasset L, Milhavet O, Prieur A, Besnard E, Babled A et al. (2011) Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state. *Genes Dev* 25:2248-2253.
 77. Zhang W, Qu J, Suzuki K, Liu GH, Izpisua Belmonte JC (2013) Concealing cellular defects in pluripotent stem cells. *Trends Cell Biol* 23:587-592.

Recent Progress in the Study of Cellular Senescence

Akira Shimamoto, Hidetoshi Tahara

Department of Cellular and Molecular Biology, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

Discovery of the mechanism for premature senescence induced by oncogene activation allowed an accelerated progression of the study of cellular senescence triggered by telomere shortening-induced replicative senescence, leading to elucidation of a rough outline of cellular senescence from beginning to end. Cells developed mechanisms to sense not only DNA damages, reactive oxygen species (ROS) and excess growth signals, but also chronic growth signals, inactivation of tumor suppressor genes, aberrations in nucleoli and epigenetics and metabolism alterations as stressors inducing senescence. Recent findings revealed that organisms take advantage of programmed cellular senescence in embryonic development, wound healing and tissue repair as well as tumor suppression to maintain homeostasis. On the other hand, however, senescent cells accumulated in the body would be a risk factor for aging-related diseases. Towards a comprehensive understanding of cellular senescence, this review summarizes trends in the study of cellular senescence with a focus on its latest findings, and discusses its future perspective.