

【奨励賞トピックス】

マウスにおける老化細胞除去は肺気腫関連疾患を改善する

三河 隆太

国立長寿医療研究センター研究所老化機構研究部免疫研究室

1. はじめに

細胞老化は癌抑制機構において重要な役割を担っていることは古くから知られているが、組織と老化の関連についても示唆されてきた。ヒトやマウスの様々な組織において、加齢に伴い老化細胞が蓄積することが報告されている^[1, 2]。しかし生体内の老化細胞が加齢や疾患に対してどのような影響を持つのかについては不明であった。

この問題を明らかにすべく、近年我々を含め3つの研究グループにより、老化細胞だけを任意の時期に排除可能なトランスジェニック (Tg) マウスが作製された^[3-5]。これらのマウスを利用した研究から、これまで不明であった生体内における老化細胞の役割が明らかになりつつある。我々のマウス (ARF-DTR マウス) では、老化細胞を除去することで加齢により低下した肺機能を回復可能であることが示された^[5]。組織の加齢性変化は、組織機能の低下を誘導するだけでなく、様々な疾患の発症リスクを高める。本稿では、ARF-DTR マウスにエラスターゼ誘導性肺気腫モデルや喫煙モデルを応用した研究から、肺疾患における老化細胞の役割について報告する。

キーワード : Cellular Senescence, Emphysema, p19^{ARF}



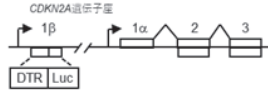
2. 老化細胞除去マウスについて

これまでに INK-ATTAC, p16-3MR, そして我々のグループから ARF-DTR と名付けられた老化細胞除去 Tg マウスが作製されている。これらのマウスでは、*Ink4a* や *Arf* など老化細胞で発現が増加する遺伝子の発現制御領域を用い、蛍光タンパク質 (GFP, RFP) や発光酵素 (ルシフェラーゼ) を導入することで加齢に伴って蓄積する老化細胞の可視化に成功している。また、リガンド依存的に細胞死を誘導する受容体を導入することで、任意の時期に老化細胞を除去することが可能である。これらのマウスを用いた研究からは、加齢や疾患における老化細胞除去が殆どの場合において有益であることが示されている (表)。

3. 老化細胞除去による老齢肺機能低下の回復

我々の ARF-DTR マウスは、*Arf* 遺伝子の第一エクソンにルシフェラーゼ (Luc) とジフテリア毒素 (DT) 受容体を導入した人工染色体をトランスジーンとして保持する。そのため、*Arf* 遺伝子の発現が増加する老化細胞は DT に対して感受性を示すようになり、DT を投与することで老化細胞に選択的に細胞死を誘導し、生体内から排除することが可能である。生体イメージングにより ARF-

表. 老化細胞除去マウスにおける生体内の効果

遺伝子改変マウス	INK-ATTAC	p16-3MR	ARF-DTR
トランスジーン			
老化細胞除去による効果	<ul style="list-style-type: none"> ・ 白内障、腎系球体硬化、心肥大の緩和・治癒 ・ 平均寿命の延長 ・ 肺線維症の緩和・治癒 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 創傷治癒の遅延 ・ 動脈硬化の緩和・治癒 ・ 骨関節炎の緩和・治癒 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 呼吸機能の回復
文献	3, 6, 7	4, 8, 9	5

連絡先 : 三河隆太 〒474-8511
 愛知県大府市森岡町七丁目 430 番地
 TEL : 0562-44-5651 (内線 5114)
 E-mail : mikawa@ncgg.go.jp

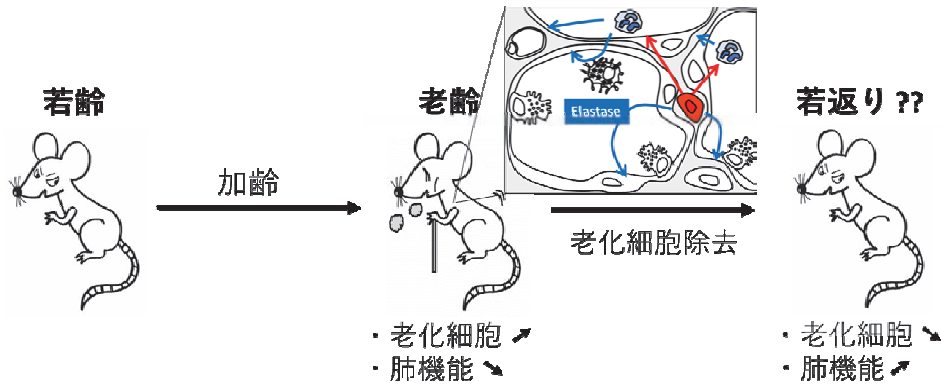


図1. 自然加齢に伴う肺における老化細胞の役割。(文献5より)

DTR マウスでは、加齢に伴い肺と脂肪組織において高い Luc 活性が認められた。老化細胞が蓄積したマウスに DT を投与すると、肺組織では Luc 活性とともに内在性細胞老化遺伝子の発現が消失することから、このマウスでは肺で蓄積した老化細胞を除去することが可能であることを示した。老化細胞が除去された肺に着目して詳しく解析を行った結果、老化細胞を除去した老齢マウスでは肺の生理機能が回復し、組織中における老化関連分泌表現型 (SASP) が抑制されていることが示唆された。これらの研究結果からは、肺における老化細胞 (線維芽細胞と同等) の蓄積により、SASP 因子のマトリックスメタロプロテアーゼや、SASP 因子を介した老化細胞周辺の免疫細胞の活性化などで直接的・間接的に肺胞構造がダメージを受け、肺機能の低下が生じることが考えられた (図1) ^[6]。

4. 肺気腫に対する老化細胞の影響

ヒトにおいて肺の機能は 30 代から低下する傾向にあることが報告されている ^[10]。自然加齢に加えて肺は、長期的な喫煙や大気汚染などによる有害物質への曝露によって機能低下が生じることが示唆されている ^[11, 12]。上述した

ように、我々は自然加齢による肺の機能低下が少なくとも部分的に、老化細胞の蓄積によって引き起こされることを報告した ^[6]。肺組織の老化は様々な呼吸器疾患のリスクを高める。そこで我々は、肺気腫モデルを用い、疾患の発症や進行に老化細胞がどのような影響を持つのかについて、ARF-DTR マウスを用いて解析を行った。疾患モデルとしては、エラスターゼ誘導性肺気腫モデルと喫煙モデルを用いた。DT 投与を行った ARF-DTR マウスでは対照群に比べ、エラスターゼ処理による肺組織の形態変化 (肺胞壁の崩壊による肺胞スペースの拡大、肺胞壁厚の減少) が顕著に抑制された (図2)。またスパイロメトリー法により呼吸器機能を解析した結果、DT を投与した ARF-DTR マウスでは対照群に比べてエラスターゼによって誘導される呼吸機能低下が抑えられていた。野生型マウスでは DT の影響は観察されないことから、DT の効果はすべて老化細胞を肺組織から排除したことに起因するものと考えられた (図3)。さらに肺胞内における免疫細胞を解析したところ、エラスターゼ処理群で観察されるマクロファージや好酸球、好中球の増加は、老化細胞除去により抑えられた (図4)。これらの結果から、エラスターゼ誘

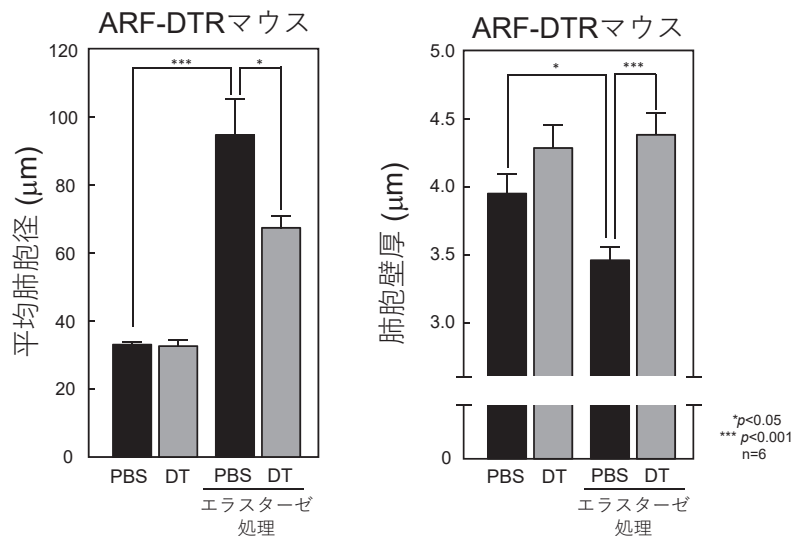


図2. 老化細胞除去は肺気腫モデルにおける組織形態変化を抑制する。(未発表データより) HE 染色した肺組織切片を用いて肺胞の平均径と肺胞壁の厚さを測定した。

導性肺気腫モデルにおいて老化細胞の除去は、エラスターゼの直接的な効果（弾性線維の分解）と、エラスターゼによって引き起こされる炎症反応を抑制することで、肺胞壁の崩壊の進行を阻止し、肺機能の低下を抑えることが

考えられた。喫煙モデルにおいても同様の結果が得られた。従って老化細胞存在下では肺気腫を誘導するストレスに対して感受性が高まることが強く示唆され、自然加齢による肺機能の低下の結果と照らし合わせて考えると、肺の老

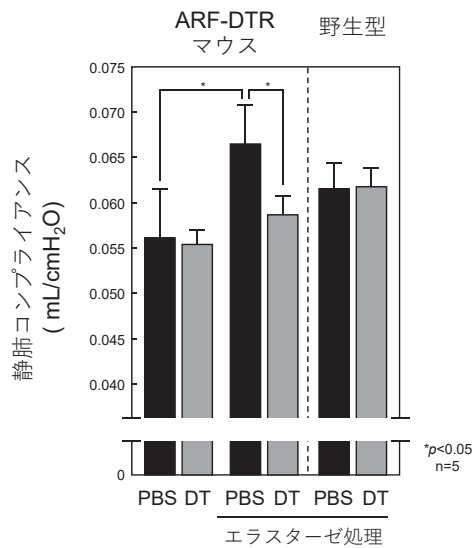


図3. 肺気腫モデルにおいて老化細胞除去は肺機能低下を抑制する。(未発表データより) スパイロメトリー法により静肺コンプライアンスを測定した。

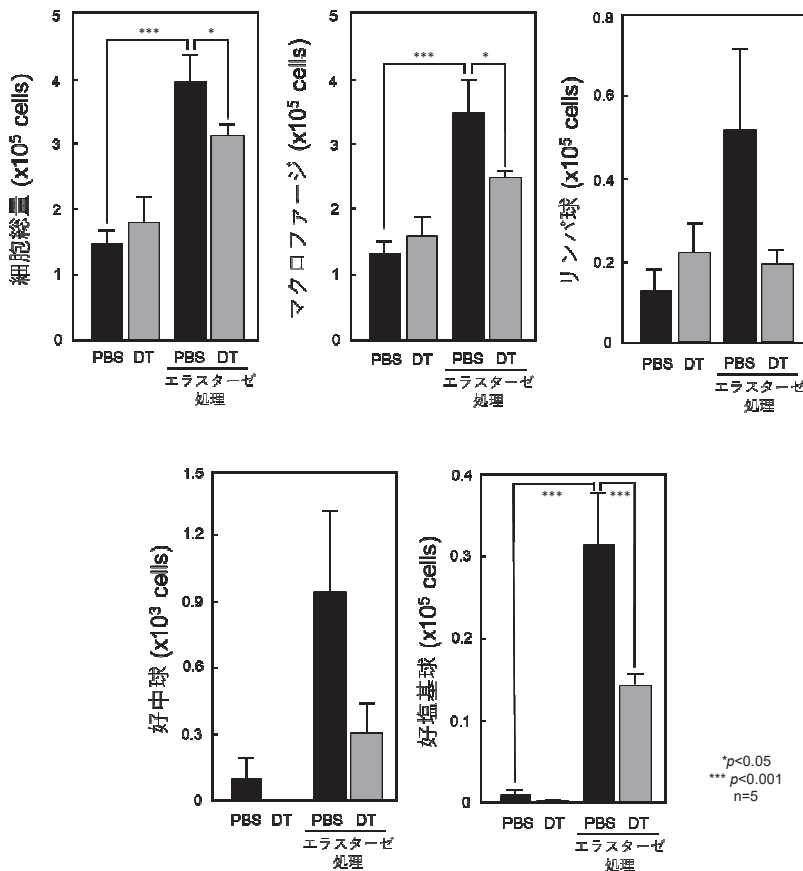


図4. 肺気腫モデルにおいて老化細胞除去は肺の炎症性細胞の増加を抑制する。(未発表データより) スライドガラスに単層塗抹した後、簡易ギムザ染色した肺胞洗浄液の細胞を形態学的に炎症性細胞として分類した。

化細胞の排除を標的とした創薬は肺機能の維持や気腫などの疾患に対して予防または治療効果を持つことが期待される。

5. おわりに

老化細胞除去マウスを用いた研究から、老化細胞の排除が多くの場合生体内で有益であることが明らかになりつつある。我々の研究からも、肺における自然老化と疾患の両側面において老化細胞除去が、組織機能の回復や維持などに有効であることが示された。今回の報告では、セミジェネティックな方法で老化細胞の排除を行った、薬理的に老化細胞を排除する薬剤、セノリティック薬（ナビトクラックス、ケルセチン・ダサチニブ併用など）においても老化細胞除去の効果が示されており、一部ではTgマウス同様の有益な効果が確認されている [13, 14]。肺気腫においてもこれらセノリティック薬が同様の効果を持つのか、今後の検討課題としたい。

6. 謝辞

本研究は国立長寿医療研究センター老化機構研究部免疫研究室・室長杉本昌隆先生のご指導のもと行われました。マウス喫煙モデルは順天堂大学医学部呼吸器内科佐藤匡先生のご協力により作製しました。本研究は長寿医療研究開発費、文部科学省科研費、長寿科学振興財団の助成により行われました。

7. 参考文献

1. Dimri GP, Lee X, Basile G, *et al.* A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 92 : 9363-9367, 1995.
2. Wang C, Jurk D, Maddick M, *et al.* DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Aging Cell* 8 : 311-323 2009.
3. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonina T, *et al.* Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479 : 232-236, 2011.
4. Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, *et al.* An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Developmental Cell* 31 : 722-733 2014.
5. Hashimoto M, Asai A, Kawagishi H, *et al.* Elimination of p19ARF-expressing cells enhances pulmonary function in mice. *JCI Insight*, 1 : e87732, 2016.
6. Baker DJ, Childs BG, Durik M, *et al.* Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530 : 184-9, 2016
7. Schafer MJ, White TA, Iijima K, *et al.* Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease. *Nat Commun.* 8 : 14532, 2017.
8. Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, *et al.* Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354 : 472-7, 2016.
9. Jeon OH, Kim C, Laberge RM, *et al.* Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment. *Nat Med.* 23 : 775-781, 2017.
10. Nunn AJ and Gregg I. New regression equations for predicting peak expiratory flow in adults. *BMJ* 298 : 1068-1070, 1989
11. Fletcher C and Peto R. The natural history of chronic air flow obstruction. *Br. Med. J.* 25 : 1645-1648, 1977.
12. Sean HL and Stephan FE. Particulate matter air pollution exposure : role in the development and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 4 : 233-243, 2009.
13. Ogrodnik M, Miwa S, Tchkonina T, *et al.* (2017). Cellular senescence drives age-dependent hepatic steatosis. *Nature Commun.* 8 : 15691, 2017.
14. Mikawa R. and Sugimoto M. Senescent cell ablation and senolytic drugs. *Biomedical Gerontology* 41 : 31-37, 2017.