

【総説】

細胞老化と加齢性疾患

～予防・治療標的研究の最前線～

渡邊 すぎ子、原 英二

大阪大学 微生物病研究所 遺伝子生物学分野

要約

加齢に伴ってヒトの生体機能は低下し、日々の様々なストレスへの対応が十分でなくなることが疾患に繋がるとされる。実際加齢は種々の疾患のリスク因子であり、高齢化社会における重要な研究課題である。近年細胞老化をおこした細胞（老化細胞）が、加齢に伴い体内の組織に蓄積する現象が観察されており、細胞老化と個体老化との関連が注目されている。マウスにおいて、主要な細胞老化誘導因子 p16 を発現した細胞を人為的に死滅させると、老化現象の軽減と寿命の延伸が報告されている。このような実験結果から加齢性疾患の対策に向けて、老化細胞を選択的に体内から除去する Senolytic 薬の研究が進んできている。本稿では、細胞老化の特徴と加齢性疾患との関連、さらには Senolytic 薬（老化細胞除去薬）や Senomorphic 薬（老化細胞阻害薬）の開発に向けた研究について、最近の知見を紹介しながら今後の展望について論じたい。

キーワード：Senescence, Age-related disease, Senotherapy

1. 細胞老化とは

細胞老化-セネッセンス (Senescence) -は、正常の二倍体細胞を継代培養して一定期間増殖させた後に、もはや増えなくなる分裂限界の状態を表現したもので、ラテン語で“老人”という意味の *senex* という言葉に由来している [1]。細胞が分裂を繰り返すと、各染色体末端のテロメア部位が DNA 複製毎に短くなっていき、限界に達すると DNA 二重鎖断端として露出する。それが DNA 鎖切断として認識されて DNA 損傷応答 (DNA damage response; DDR) を活性化し、細胞増殖は不可逆的に停止され、いかなる増殖刺激にも抵抗性となる。これが初めに定義された細胞老化の誘導機序である。

その後、テロメア部位の露出のみならず、紫外線、細胞内活性酸素種、またがん原性異常増殖刺激などの外因性、内因性 DNA 損傷誘発ストレスもまた DDR を活性

化し、細胞がその活性に持続して暴露されることによってストレス誘導性の細胞老化が引き起こされることがわかってきた。さらに細胞老化をおこした細胞(老化細胞)が、個体の加齢にしたがって、体内の様々な組織に蓄積していく現象が示されており、細胞老化と個体の加齢性変化及び寿命との関係が注目されている [2,3]。

2. 細胞老化の特徴

In vitro において細胞老化をおこすと、老化細胞は形態学的に平らで大きくなり、細胞質には顆粒や空胞を多く含むようになる (図 1)。核膜は裏打ちタンパク質であるラミン B1 の発現低下を伴って脆弱化し、クロマチン構造は弛緩して再構成され、遺伝子発現パターンも変化する。それに伴い抗細胞死タンパク質の発現が上昇してアポトーシス抵抗性を示す [4]。またミトコンドリアの機能は低下してエネルギー産生効率率は低下する一方で、代謝自体は活発に行われて活性酸素の産生は増加する現象がみられる [5]。リソソームの活性が変化して β -ガラクトシダーゼ (β -galactosidase: β -Gal) の活性が上昇し、通常ではみられない pH6.0 の条件でも老化細胞においては β -Gal 活性を示すことから、senescence associated: SA β -Gal として、*in vitro* とともに *in vivo* でも細胞老化のマーカーとしてしばしば用いられる [6]。

連絡先：原英二

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1

Tel：06-6879-4260

Fax：06-6105-5882

E-mail：ehara@biken.osaka-u.ac.jp

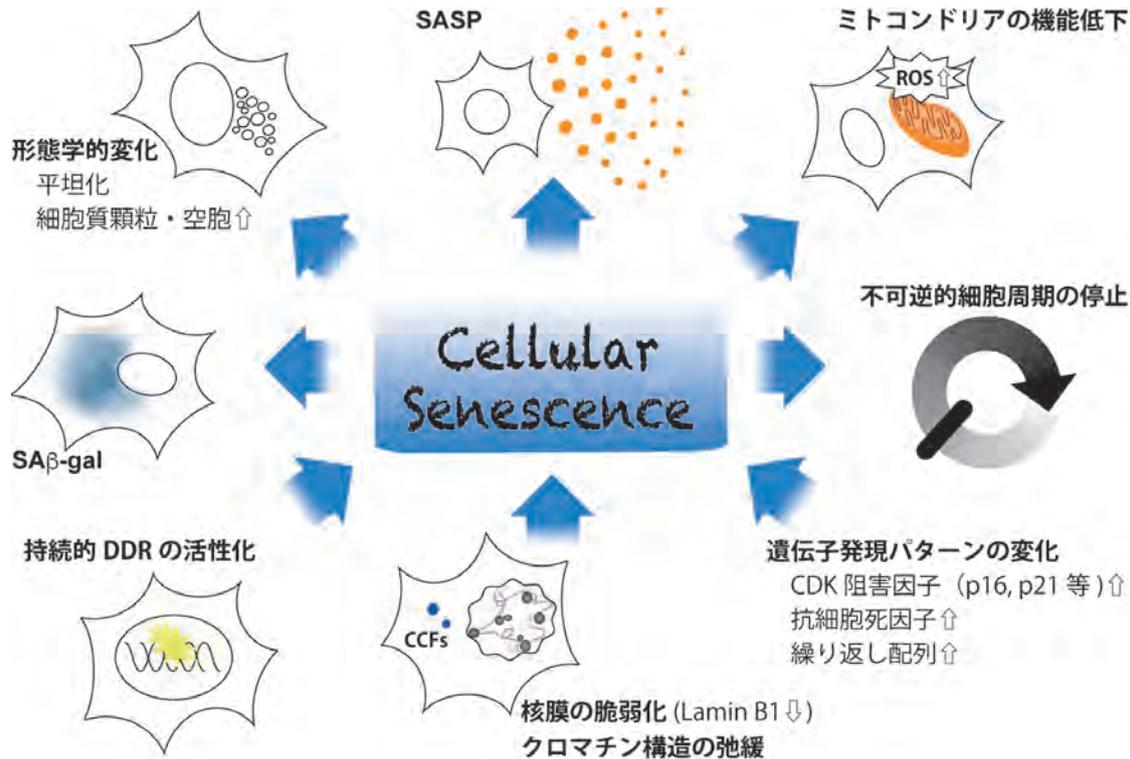


図1. 細胞老化の代表的特徴

SASP; Senescence Associated Secretory Phenotype: 細胞老化に伴性分泌現象。ROS; Reactive Oxygen Species: 活性酸素種。CDK; cyclin dependent kinase: サイクリン依存性キナーゼ。CCFs; cytoplasmic chromatin fragments: 細胞質内クロマチン断片。DDR; DNA damage response: DNA 損傷修復応答。SA β -gal; Senescence associated β -galactosidase: 細胞老化関連 β ガラクトシダーゼ。

これら多くの特徴をもつ細胞老化であるが、各々は必ずしも細胞老化に特異的なものではなく、現在のところ複数の特徴を組み合わせることで細胞老化を判断する必要がある。最も重要な特徴としては、以下に述べる不可逆的な細胞周期停止と、炎症を惹起しうる様々な因子の細胞外分泌亢進（後述 Senescence Associated Secretory Phenotype; SASP）であると考えられる。

1) 細胞周期停止

DDR が活性化すると細胞はその原因となるストレスに対応するため細胞周期を停止させるが、この制御にはがん抑制経路として重要な p53-p21 経路および p16-pRB (Retinoblastoma) 経路が必須の役割をもつ。p53-p21 経路は比較的ストレス応答の急性期に活性化して細胞周期を停止させるのに対し、p16-pRB 経路は長期的な細胞周期停止、ひいては不可逆的な細胞周期の停止に重要である。このことから p16 は細胞老化のマスター制御因子とされ、その発現上昇は細胞老化の指標としても用いられる [7-9]。p16 はサイクリン依存性キナーゼ (cyclin dependent kinase; CDK) 4 や CDK6 と相互作用し、それらのリン酸化活性を阻害することによって、細胞の DNA 複製期進入に必要な RB タンパク質のリン酸化を低下させ、細胞周期を停止させる [10,11]。細胞老化の細胞周期停止は、基本的に不可逆的なものとされ、増殖

刺激によって細胞周期を再開できる休止期の細胞や、特異的な機能をもつ終末分化した細胞とは区別される。この細胞老化の特徴は、細胞の過剰ながん原性増殖シグナルへの応答をブロックし、がんへトランスフォームするのを抑制しうることから、がん化の抑制機構として広く認識されている。実際細胞老化を誘導しうるバルボシクリブやアベマシクリブといった CDK4/6 阻害剤は、再発・進行乳がんの治療に用いられている。

2) SASP

細胞増殖を止め、生きながらえているだけと思われていた老化細胞が、実は炎症性サイトカインやケモカイン、増殖因子や細胞外マトリックス分解酵素といった分泌因子やエクソソームを細胞外に放出し、SASP と呼ばれる機能的特性をもつことが明らかにされた [12-14]。分泌される SASP 因子は、老化細胞自身の不可逆的増殖停止を堅固なものにするだけでなく、周囲の組織内細胞や免疫細胞に情報伝達することによって、*in vivo* における組織恒常性維持に寄与すると考えられている。その生物学的機能は、損傷治癒促進や組織再生、胎生期の組織リモデリングや腫瘍抑制といった個体生存に対して有益なものとともに、慢性炎症をベースとした組織変性や、本来のがん抑制機構に反する腫瘍増殖促進といった有害な事象も引き起こし、正負二面的な役割を持つ。最終的

に組織内の老化細胞は、SASP を介した免疫細胞の動員によって排除されることが示されているが、加齢に伴う免疫機能の低下に伴い、炎症性メディエーターを産生する老化細胞が体内の様々な組織に蓄積する。このことによって、個体における動脈硬化、白内障、慢性閉塞性肺疾患、さらにはがんといった加齢性疾患を引き起こすのではないかと考えられている [15,16]。

3. 細胞老化と加齢性疾患

前述のように、老化細胞の分泌する SASP 因子は、周囲の細胞に働きかけて組織の炎症を引き起こしうる。そのことが、実際に個体の加齢においてどのような生物学的役割をもつかを明らかにする目的で、老化細胞を人為的に除去しうる遺伝子改変マウスが開発され、解析に用いられている。中でも Baker らの作成した INK-ATTAC (INK-linked apoptosis through targeted activation of caspase) マウスはその先駆けであり、細胞老化が個体老化の一因である可能性を明確に示した [3,17]。INK-ATTAC マウスは、薬剤を投与することによって、細胞老化の代表的指標である p16 を発現する細胞に細胞死を誘導し、老化細胞を選択的に除去することができる。マウスの加齢に伴う脂肪細胞の萎縮、糸球体硬化や心筋肥厚等の所見が、老化細胞の選択的細胞死誘導によって軽減し、さらに発がんの時期も遅れ、平均寿命についても 20 ~ 30% 延伸するという結果が示された [3]。この発表に続き、同実験系を用いて、動脈硬化、白内障、サルコペニア、変形性関節症および骨粗鬆症等の加齢性所見の軽減が様々な報告でなされている [18-20]。

ただし p16 発現細胞は、加齢に伴う組織維持に重要であることもわかってきた。マウスの肝臓において、p16 が発現して機能の低下した肝類洞内皮細胞を人為的に除去すると、新しい細胞に置き換わることなく、かえって肝臓の繊維化が進行することが示されている [21]。さらに p16 は、マクロファージや膵 β 細胞といった細胞で、細胞老化をおこしていない状態でも発現していることが明らかになっており、免疫刺激やグルコース等の細胞刺激に応答して、生理的な機能を正常に発揮するためにも必要である。つまり p16 は、細胞老化誘導という役割とは別に、細胞分化成熟における機能をもつ可能性がある [22,23]。実際我々は、Myeloid derived suppressor cell (MDSC) が骨髄から末梢組織へ分化成熟していく過程で、p16 の発現が誘導されることを明らかにしている [24]。このとき p16 は、CDK4/6 の機能を阻害することによって細胞周期を止めると共に、転写因子 SMAD3 の抑制を解除する。それにより MDSC の成熟に従ってケモカイン受容体 CX3CR1 の発現が誘導され、組織への遊走能を獲得することを見いだした。さらに p16 を発現する MDSC は、ケモカイン CX3CL1 を発現するがん組織に集積し、がんに対する免疫応答を抑制することが示唆された。つまり従来がん抑制因子と考えられてきた p16 が、組織内の MDSC を介してがんの免疫回避に作用することで、がんの進展に寄与する可能性がある。こ

のことは p16 が、その発現している細胞によって、がんに対して正負二面的な役割を持つことを示唆している。

このような結果から、p16 発現細胞除去マウスによる健康寿命の延伸効果は、老化細胞以外を標的としている結果も含んでいる可能性があり、DNA 損傷の蓄積した老化細胞とともに、他の細胞、中でも免疫細胞への影響を合わせて考えていく必要がある。また p16 発現細胞の除去は、組織維持の観点から負の影響も危惧される。

4. 治療標的としての細胞老化

老化細胞を選択的に体内から除去した遺伝子改変マウスが示す抗加齢効果から、老化細胞自身が、健康寿命の延伸につながる新たな予防や治療法確立のための標的になりうるとして注目され、期待されている。そのアプローチとして、老化細胞を特異的に死滅させる Senolytic 薬 (老化細胞除去薬) と、老化細胞のシグナル経路に働きかけて表現型を変化させ、主に SASP 因子の分泌を低下させる Senomorphic 薬 (老化細胞阻害薬) の開発が進んでいる (表 1)。Senolytic 薬は、SASP 因子の発生源を断つという意味とともに、ゲノムストレスに暴露され続けてゲノム不安定性をもちうる老化細胞を根本的に個体から排除できる。しかしながら、老化細胞の正の作用が失われることによる副作用も危惧される。一方 Senomorphic 薬は、老化細胞から分泌される様々な因子が引き起こす慢性炎症反応等の有害事象を抑えることに焦点をあてているといえる [25,26]。

1) Senolytic 薬

老化細胞を標的として老化細胞を選択的に死滅させる Senolytic 薬は、2015 年に Zhu らによって初めて報告された [27]。かれらは老化細胞が細胞死に抵抗性であることに着目し、高活性となっている抗細胞死経路を標的とする siRNA を用いてスクリーニングを行った。それにより、細胞周期増殖期や休止期の細胞や分化した細胞には作用せず、老化細胞特異的に細胞死を誘導しうる因子を見出した。それらを標的とする薬剤を 46 種類検討し、BCR-ABL をはじめとした複数のチロシンキナーゼ受容体を阻害するダサチニブ (D: Dasatinib) と併せて、PI3K 活性を遮断するケルセチン (Q: Quercetin) を用いると、老化細胞を効果的に死滅させうることを突き止めた。ダサチニブは通常白血病の治療で用いられる薬剤で、ケルセチンは抗酸化作用を持つフラボノイド系ポリフェノールで、たまねぎやリンゴの皮等に含まれている。この 2 剤 (D+Q) を投与したマウスは、非投与群に比べて、加齢による運動能力の衰への改善や、寿命の延伸を示したと報告されている [28]。D+Q は現在、特発性肺線維症に対し臨床第 I 相試験 (NCT02874989) [29] が、慢性腎疾患に対し臨床第 II 相試験 (NCT02848131) [30] が行われている。ケルセチンを含むフラボノイド系ポリフェノールは、その抗酸化作用から以前より抗加齢効果が報告されており、Senolytic 薬としての作用自体は弱いもののその毒性は低く、長期的に進行する加齢性疾患に対する臨床応用の可能性は高い。実際ケルセ

表 1. 細胞老化を標的とした抗加齢候補薬

薬剤	作用	標的	加齢性疾患に関連した臨床試験	文献
ダサチニブ	Senolytic	チロシンキナーゼ受容体	臨床第I相試験 (NCT02874989) : 肺線維症 臨床第II相試験 (NCT02848131) : 慢性腎疾患	27-30
ケルセチン	Senolytic	PI3K経路 セリンプロテアーゼ等	臨床第I相試験 (NCT02874989) : 肺線維症 臨床第II相試験 (NCT02848131) : 慢性腎疾患	27-30
フィセチン	Senolytic Senomorphic	PI3K/AKT/mTOR経路 トポイソメラーゼII	臨床第II相試験 (NCT03430037, NCT03675724) : フレイル	31,32,57
ナビトクラックス / ABT-263	Senolytic	Bclファミリー タンパク質	臨床第Ib/II相試験 (抗がん剤との併用療法) (NCT00878449) : 肺小細胞癌 (+エトポシド/シスプラチン) (NCT00887757) : 進行固形癌 (+ジェムシタビン) (NCT00891605) : 進行固形癌 (+パクリタキセル) (NCT00888108) : 進行固形癌 (+ドセタキセル) (NCT01009073) : 進行固形癌 (+イリノテカン)	15,33-37
プロキシフィム / FOXO4-DRI	Senolytic	FOXO4/p53	前臨床試験 : 慢性腎疾患、慢性閉塞性肺疾患、がん	38,39
UBX0101	Senolytic	MDM2/p53	臨床第II相試験 (NCT04129944) : 変形性膝関節症	20
ARV825	Senolytic Senomorphic	BRD4	前臨床試験 : 急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、乳がん等	40,42
2-DG	Senolytic	解糖系	臨床第I相試験 (抗がん剤との併用療法) (NCT00096707) : 進行固形癌 (+ドセタキセル)	43,44
アルベスピマイシン / 17-DMAG	Senolytic	HSP90	臨床第I相試験 (抗がん剤との併用療法) (NCT00803556) : 進行固形癌 (+トラツズマブ、ドセタキセル)	45
ラパマイシン	Senomorphic	mTOR	免疫抑制剤、抗がん剤として臨床承認済み 臨床第I相試験 (NCT01649960) : 虚血性心疾患、フレイル 臨床第II相試験 (NCT02874924) : 加齢性の免疫能、歩行機能および認知能力低下、動脈硬化	46-50
メトフォルミン	Senomorphic	NF-κB, AMP活性化キナーゼ /mTOR	2型糖尿病薬として臨床承認済み 臨床第III相試験 (Targeting Aging With Metformin:TAME) : 脳卒中、心疾患、がん、認知症、寿命等 臨床第II相試験 (NCT02570672, NCT03451006) : フレイル 臨床第III相試験(NCT02325245) : フレイル	37,51,52
ルキシロチニブ	Senomorphic	JAK	骨髄線維症治療薬として臨床承認済み 前臨床試験 : フレイル、早老症	53-55
カナキマブ	SASP因子阻害	IL-1β	免疫抑制剤、抗がん剤として臨床承認済み 臨床第III相試験(NCT01327846) : 動脈硬化性疾患	56

FOXO4; forkhead box O4. 2-DG; 2-Deoxy-D-glucose; 2-デオキシ-D-グルコース. 17-DMAG; 17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin =アルベスピマイシン。Senolytic; 老化細胞の細胞死を誘導する。Senomorphic ; 老化細胞の表現型を変化させる。PI3K; Phosphoinositide 3-kinase; PI3 キナーゼ。AKT=PKB; protein kinase B: プロテインキナーゼ B。mTOR; mechanistic target of rapamycin. Bcl ; B-cell lymphoma. BRD4; Bromodomain-containing protein 4. HSP90; heat shock protein 90. NF-κB; Nuclear factor-κB. JAK; Janus kinase. IL; interleukin.

チンの類縁物質であるフィセチン (Fisetin) は、PI3K/AKT/mTOR 経路を阻害することによる Senolytic 効果も報告されており [31,32]、フレイル (Frail Elderly Syndrome) に対する臨床第 II 相試験 (NCT03430037, NCT03675724) が行われている。

Zhu らはまた、抗細胞死作用を持つ B-cell lymphoma (Bcl) ファミリータンパク質を標的とする、ナビトクラックス (Navitoclax)/ ABT-263 も老化細胞特異的に細

胞死を誘導することを報告している [33]。その後マウスにおいても、動脈硬化や心筋機能低下等の加齢性変化を改善したり [18,34,35]、抗がん剤誘導性の老化細胞を死滅させることによって骨髄抑制や心毒性等の抗がん剤の副作用を軽減したり、さらには癌の再発も抑制する効果を表している [36]。治療誘導性の細胞老化は、正常組織の加齢性変化を促進するとともに、周囲の細胞老化を起こさない腫瘍細胞の浸潤性や増殖を、SASP を

介して促進すると考えられている。このことから、ナビトクラックスを抗がん剤治療に組み合わせることによってがんの治療効果改善を目指し、肺小細胞癌（エトポシド/シスプラチン：NCT00878449）や進行固形癌（ジェムシタピン：NCT00887757、パクリタキセル NCT00891605、ドセタキセル NCT00888108、イリノテカン NCT01009073）にたいして臨床第 Ib/II 相試験が行われている。徐々に明らかになっているこれらの結果をみると、その安全性は確立されつつあるが、臨床効果は今のところ限定的である [37]。

細胞老化の細胞死抵抗性へのその他の標的として、p53 に結合して抗細胞死作用を持つ因子 FOXO4 が見出され、マウスの腎機能低下や白髪といった加齢性変化や寿命との関連が示された [38]。同報告において、p53 と FOXO4 との結合を阻害するペプチド FOXO4-DRI が開発され、Senolytic 効果が示されている。FOXO4-DRI/プロキシフィム（Proxofim）は現在前臨床試験が進められており（*Clara Biotech* 社）、慢性腎疾患や慢性閉塞性肺疾患、さらにはがんに対してその適応や最適化が模索されている。FOXO4 はヒト精巣の老化したライディッヒ細胞に高発現することが報告されており、FOXO4-DRI の加齢性性腺機能低下への効果の可能性も期待されている [39]。

また p53 を安定化して細胞死を誘導する薬剤として、p53 を分解する MDM2 と p53 との結合を阻害する UBX0101 もまた Senolytic 効果を示し [20]、変形性膝関節症に対して臨床第 II 相試験（NCT04129944）が行われている。

さらに我々は、より効果的な Senolytic 薬を見出すために化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングを行った。その結果、ヒストンのアセチル化リジンを読み取る転写共役因子 BRD4 (Bromodomain-containing protein 4) を標的とする BET (Bromodomain and extra-terminal domain) 阻害剤が、高い Senolytic 活性を持つことを見出した [40]。BRD4 は、老化細胞においてスーパーエンハンサー部位に集積して、細胞老化特異的なエピゲノム構築に重要な役割を持つことが報告されている [41]。複数ある BET 阻害剤の中で、ユビキチン・プロテアソーム系を介して BRD4 を選択的かつ効果的に分解させる PROTACs (Proteolysis-targeting chimeras) の一つである ARV825 が、最も高い Senolytic 効果を示した。これまでの BET 阻害剤は、BRD4 の可逆的結合により効果が不十分であったり、また不完全な阻害から BRD4 の蓄積を引き起こしたりして、その効果が潜在的に損なわれていた [42]。ARV825 は、BRD4 を分解することによりその活性を強力に阻害できる。老化細胞を ARV825 で処理することによって、主たる DNA 二本鎖損傷修復機構の非同末端結合が阻害されると同時に、オートファジー関連遺伝子の発現上昇が生じ、その結果アポトーシスが誘導されることが明らかになった。In vivo においても、ARV825 は細胞老化を起こした肝星細胞によって促進されるマウスの肝がんを抑制する。また Xenograft に

対して投与したドキシソルピシン誘導性の老化細胞を減少させ、その抗腫瘍効果を増強することも認めており、ARV825 のがん治療への応用の可能性が期待される。

その他にも、細胞老化に伴う代謝のリプログラミングによって、亢進した解糖系を標的とする 2-デオキシ-D-グルコース (2-Deoxy-D-glucose) や [43, 44]、抗がん剤としてもその効果が期待されている HSP90 阻害剤アルベスピマイシン (Alvespimycin, 17-DMAG; 17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin) [45] 等、様々なアプローチで Senolytic 効果を示す薬剤が見出されており、その個体老化への効果の検討が進んでいる。

2) Senomorphics 薬

SASP の誘導には、MAPK や PI3K シグナル経路、GATA4/p62 によるオートファジーや mTOR シグナル経路、あるいはヒストンのアセチル化リジンを介するエピジェネティックな制御等の様々なメカニズムが関与し、NF- κ B や C/EBP β 等の転写因子を介して分泌因子の転写を活性化するとされる [16]。Senomorphic 薬はこれらのカスケードに働きかけ、個体の加齢性変化を遅延させようとするものである。

中でも細胞老化で活性化している mTOR シグナル経路は、MAPK 経路を介して慢性炎症のキーとなる転写因子 NF- κ B を活性化することから、SASP の制御に重要である。実際 mTOR 阻害薬であるラパマイシン (Rapamycin) は、老化細胞の炎症性サイトカインの分泌を抑制し [46,47]、線虫、ハエ、およびマウス等の多くの実験動物でその寿命を延伸させる効果が示されている [48,49]。ラパマイシンや、より選択性を高めたエペロリムス等の誘導体は、細胞の代謝やエネルギー産生および細胞分裂を調節する作用を持ち、臓器移植後の免疫抑制剤として、また腎細胞がんや再発乳がん等に対する抗腫瘍薬として、すでに臨床で使用されている。しかしながら、免疫抑制作用や口内炎、またインスリン分泌抑制に伴う耐糖能異常といった副作用も現れることから、加齢性疾患に対する適応はその作用濃度や他剤との組み合わせも含め開発途上である。これまでに加齢性の免疫能低下や虚血性心疾患またフレイルに対し、臨床第 I/II 相試験 (NCT01649960 および NCT02874924) が行われており、その効果や安全性が評価されている [49,50]。

NF- κ B に対し、直接的な阻害剤もまた Senomorphic 薬として期待されているが、その毒性等によりヒトへの適応が難しいものが多い。その中で、既に 2 型糖尿病治療薬として臨床で使用されているメトホルミン (Metformin) が、NF- κ B の核内移行を減弱させることにより、その活性を阻害して SASP を抑制することが示されている [51]。メトホルミンは、AMP-活性化キナーゼを活性化することによって mTOR 経路を抑制し、線虫やマウスの寿命を延長するという報告もなされている [52]。ヒトの加齢に対するメトホルミンの効果を見るために、2016 年から Targeting Aging With Metformin (TAME) と呼ばれる大規模臨床試験が始まっている。

この試験では、米国の14箇所の研究機関において、65～79歳の高齢者3,000人以上を対象に、メトホルミンを服用する群と服用しない群に分け、脳卒中、心筋梗塞などの心疾患、がん、認知症等の加齢性疾患（糖尿病を除く）の発症および寿命について、6年をかけて追跡比較調査している。その他の小規模臨床試験も複数行われており、フレイルに対しては既に臨床第II/III相試験（NCT02325245, NCT02570672 および NCT03451006）において、その安全性と抗老化効果が示されている[37]。その他にもルキソリチニブ（Ruxolitinib）等のJAK阻害剤が、IL-6やIL-8の分泌を抑制してSenomorphic効果を示す薬剤として有望視されており、個体における全身性炎症作用や加齢性の脂肪組織萎縮、また早老症に対し、効果の検討が進んでいる[53-55]。

3) SASP 因子自体の阻害薬

SASP 因子分泌を促進するシグナル経路を標的とする薬剤に加えて、SASP 因子自身を標的とする薬剤もまた加齢性疾患に対し効果を示すことが明らかになってきた。それらは、インターロイキンやその受容体の中和抗体を中心に既にリウマチ性関節炎等に対して臨床で用いられているものが多い。よってその安全性と体内動態が確認されていることから、ドラッグ・リポジショニングによって加齢性疾患への応用が期待される[16,36]。実際にSASP 因子の一つであるインターロイキン18阻害剤のカナキヌマブ（Canakinumab）は、加齢と共にその発症率が増加する動脈硬化性疾患に対する臨床第III相試験（NCT01327846）が行われており、そのリスクを優位に低下させることが報告されている[56]。

5. おわりに

老化細胞を排除できる遺伝子改変マウスの登場によって、老化細胞を標的とするSenolytic薬の開発が大きく注目されるようになってきた。これらの薬剤は、老化細胞で活性化している抗細胞死経路を標的として見出されてきた背景があり、チロシンキナーゼ受容体阻害剤のように元々抗がん剤として使用されているものも多く、慢性的な加齢性疾患に対しての適応には現在のところ課題が多い。かえってフラボノイド系ポリフェノールのように作用は弱くても毒性の少ないものの方が、臨床的に有望なのかもしれない。一方で、細胞老化の機能的特徴であるSASPによる慢性炎症が、個体老化を促進するという分子メカニズムが明らかになるに従って、Senomorphic薬による抗老化戦略が現実味を帯びてきている。SASP 因子の阻害剤は、すでにリウマチ疾患等の慢性疾患に対して臨床で用いられているものも多く、慢性炎症を抑制するという作用点からも抗老化薬剤として有望であると考えられる。

これまでに老化モデル動物を用いて、mTOR阻害剤やメトホルミンの寿命延長の効果が示されてきているが、その分子メカニズムについては不明な点が多い。近年細胞老化の分子メカニズムの理解が進み、SASPの個体老化への影響の詳細が解明されるに従い、それら

薬剤の抗老化に対する作用点が明らかになりつつある。NF- κ Bを阻害してSASPを抑制することがわかってきた2型糖尿病治療薬メトホルミンは、すでに加齢性疾患に対する大規模臨床試験が進行中であり、Senomorphicな効果が有望視されている。今後さらに個体老化における細胞老化の役割とその作用機序の理解が進むことが、安全性と効果を兼ね備えた抗老化薬の開発につながりうると考える。それによって、加齢性疾患の予防による健康寿命の延伸や、化学療法誘導性細胞老化を標的としたがん治療の効果増強といった様々な応用へ発展すると期待したい。

参考文献

1. Hayflick L and Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 25: 585-621, 1961.
2. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest* 114: 1299-1307, 2004.
3. Baker DJ, Childs BG, Durik M, et al. Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530: 184-189, 2016.
4. Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, et al. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep* 15: 1139-1153, 2014.
5. Passos JF, Saretzki G, Ahmed S, et al. Mitochondrial Dysfunction Accounts for the Stochastic Heterogeneity in Telomere-Dependent Senescence. *PLOS Biology* 5: e110, 2007.
6. 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.
7. Hara E, Smith R, Parry D, et al. Regulation of p16CDKN2 expression and its implications for cell immortalization and senescence. *Mol Cell Biol* 16: 859-867, 1996.
8. Ressler S, Bartkova J, Niederegger H, et al. p16INK4A is a robust in vivo biomarker of cellular aging in human skin. *Aging Cell* 5: 379-389, 2006.
9. Takahashi A, Ohtani N, Yamakoshi K, et al. Mitogenic signalling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence. *Nat Cell Biol* 8: 1291-1297, 2006.
10. Lukas J, Parry D, Aagaard L, et al. Retinoblastoma-protein-dependent cell-cycle inhibition by the tumour suppressor p16. *Nature* 375: 503-506, 1995.
11. Stott FJ, Bates S, James MC, et al. The alternative product from the human CDKN2A locus, p14(ARF), participates in a regulatory feedback loop with p53 and MDM2. *EMBO J* 17: 5001-5014,

- 1998.
12. Coppe JP, Patil CK, Rodier F, et al. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 6: 2853-2868, 2008.
 13. Takahashi A, Okada R, Nagao K, et al. Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. *Nat Commun* 8: 15287, 2017.
 14. Takasugi M, Okada R, Takahashi A, et al. Small extracellular vesicles secreted from senescent cells promote cancer cell proliferation through EphA2. *Nat Commun* 8: 15729, 2017.
 15. Childs BG, Durik M, Baker DJ, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med* 21: 1424-1435, 2015.
 16. Watanabe S, Kawamoto S, Ohtani N, et al. Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescence-associated diseases. *Cancer Sci* 108: 563-569, 2017.
 17. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonina T, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479: 232-236, 2011.
 18. Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, et al. Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354: 472-477, 2016.
 19. Farr JN, Xu M, Weivoda MM, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nature Medicine* 23: 1072-1079, 2017.
 20. 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.
 21. Grosse L, Wagner N, Emelyanov A, et al. Defined p16^{High} Senescent Cell Types Are Indispensable for Mouse Healthspan. *Cell Metab* 32: 87-99, 2020.
 22. Helman A, Klochendler A, Azazmeh N, et al. p16(Ink4a)-induced senescence of pancreatic beta cells enhances insulin secretion. *Nat Med* 22: 412-420, 2016.
 23. Hall BM, Balan V, Gleiberman AS, et al. p16 (Ink4a) and senescence-associated beta-galactosidase can be induced in macrophages as part of a reversible response to physiological stimuli. *Aging (Albany NY)* 9: 1867-1884, 2017.
 24. Okuma A, Hanyu A, Watanabe S, et al. p16 (Ink4a) and p21 (Cip1/Waf1) promote tumour growth by enhancing myeloid-derived suppressor cells chemotaxis. *Nat Commun* 8: 2050, 2017.
 25. Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, et al. Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nature Reviews Drug Discovery* 16: 718-735, 2017.
 26. Lozano-Torres B, Estepa-Fernández A, Rovira M, et al. The chemistry of senescence. *Nature Reviews Chemistry* 3: 426-441, 2019.
 27. Zhu Y, Tchkonina T, Pirtskhalava T, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14: 644-658, 2015.
 28. Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med* 24: 1246-1256, 2018.
 29. Justice JN, Nambiar AM, Tchkonina T, et al. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine* 40: 554-563, 2019.
 30. Hickson LJ, Langhi Prata LGP, Bobart SA, et al. Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine* 47: 446-456, 2019.
 31. Yousefzadeh MJ, Zhu Y, McGowan SJ, et al. Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine* 36: 18-28, 2018.
 32. Zhu Y, Doornebal EJ, Pirtskhalava T, et al. New agents that target senescent cells: the flavone, fisetin, and the BCL-X (L) inhibitors, A1331852 and A1155463. *Aging (Albany NY)* 9: 955-963, 2017.
 33. Zhu Y, Tchkonina T, Fuhrmann-Stroissnigg H, et al. Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* 15: 428-435, 2016.
 34. Chang J, Wang Y, Shao L, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22: 78-83, 2016.
 35. Anderson R, Lagnado A, Maggiorani D, et al. Length-independent telomere damage drives post-mitotic cardiomyocyte senescence. *The EMBO Journal* 38: e100492, 2019.
 36. Demaria M, O'Leary MN, Chang J, et al. Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discovery*, 2016.
 37. Paez-Ribes M, González-Gualda E, Doherty GJ, et al. Targeting senescent cells in translational medicine. *EMBO Molecular Medicine* 11: e10234, 2019.
 38. Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, et al. Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores

- Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell* 169: 132-147.e116, 2017.
39. Zhang C, Xie Y, Chen H, et al. FOXO4-DRI alleviates age-related testosterone secretion insufficiency by targeting senescent Leydig cells in aged mice. *Aging (Albany NY)* 12: 1272-1284, 2020.
 40. Wakita M, Takahashi A, Sano O, et al. A BET family protein degrader provokes senolysis by targeting NHEJ and autophagy in senescent cells. *Nature Communications* 11: 1935, 2020.
 41. Tasdemir N, Banito A, Roe J-S, et al. BRD4 Connects Enhancer Remodeling to Senescence Immune Surveillance. *Cancer Discovery* 6: 612-629, 2016.
 42. Vogelmann A, Robaa D, Sippl W, et al. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) for epigenetics research. *Current Opinion in Chemical Biology* 57: 8-16, 2020.
 43. Dörr JR, Yu Y, Milanovic M, et al. Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy. *Nature* 501: 421-425, 2013.
 44. Raez LE, Papadopoulos K, Ricart AD, et al. A phase I dose-escalation trial of 2-deoxy-D-glucose alone or combined with docetaxel in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 71: 523-530, 2013.
 45. Fuhrmann-Stroissnigg H, Ling YY, Zhao J, et al. Identification of HSP90 inhibitors as a novel class of senolytics. *Nature Communications* 8: 422, 2017.
 46. Herranz N, Gallage S, Mellone M, et al. Erratum: mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype. *Nat Cell Biol* 17: 1370, 2015.
 47. Laberge RM, Sun Y, Orjalo AV, et al. MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting ILLA translation. *Nat Cell Biol* 17: 1049-1061, 2015.
 48. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460: 392-395, 2009.
 49. Saxton RA and Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* 168: 960-976, 2017.
 50. Singh M, Jensen MD, Lerman A, et al. Effect of Low-Dose Rapamycin on Senescence Markers and Physical Functioning in Older Adults with Coronary Artery Disease: Results of a Pilot Study. *J Frailty Aging* 5: 204-207, 2016.
 51. Moiseeva O, Deschênes-Simard X, St-Germain E, et al. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK/NF- κ B activation. *Aging Cell* 12: 489-498, 2013.
 52. Barzilai N, Crandall JP, Kritchevsky SB, et al. Metformin as a Tool to Target Aging. *Cell Metab* 23: 1060-1065, 2016.
 53. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* 366: 799-807, 2012.
 54. Xu M, Tchkonina T, Ding H, et al. JAK inhibition alleviates the cellular senescence-associated secretory phenotype and frailty in old age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: E6301-6310, 2015.
 55. Griveau A, Wiel C, Ziegler DV, et al. The JAK1/2 inhibitor ruxolitinib delays premature aging phenotypes. *Aging Cell* 19: e13122, 2020.
 56. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med* 377: 1119-1131, 2017.
 57. Olaharski AJ, Mondrala ST, and Eastmond DA. Chromosomal malsegregation and micronucleus induction in vitro by the DNA topoisomerase II inhibitor fisetin. *Mutation research* 582: 79-86, 2005.

Cellular Senescence and Age-Related Disease

~ Targeting senescence in translational medicine ~

Sugiko Watanabe & Eiji Hara

Department of Molecular Microbiology, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University

Abstract

Aging is associated with a functional decline of a variety of organs and tissues, and that insufficient response for various daily stresses leads to age-related diseases. Therefore, in an aging society, aging is a risk factor for various diseases and an important research subject. It has been reported that cells that have undergone cellular senescence (senescent cells) accumulate in various tissues in the body, and might cause physiological aging. Further, it has been shown that selective elimination of p16-expressing cells in transgenic mice reduces the aging-associated disorders and prolongs lifespan. Given these experimental results, targeting senescent cells in the body is an attractive strategy to prevent and treat age-related diseases. In this review, we will summarize the current knowledge of fundamental characteristics of cellular senescence and its relation with age-related diseases. We will also summarize emerging therapeutic strategies, including senolytic drugs (drugs eliminating senescent cells) and senomorphic drugs (drugs modulating senescent cells), with introducing recent findings and clinical translations.

Keywords : Senescence, Age-related disease, Senotherapy