
 シンポジウム

老化を科学する

A Scientific Approach to Aging

第 727 回新潟医学会

日 時 平成 29 年 11 月 18 日 (土) 午後 1 時から
 会 場 新潟大学医学部 有壬記念館

司 会 小野寺理教授 (神経内科学)
 演 者 南野 徹 (循環器内科学), 松井秀彰 (研究推進機構超域学術院脳病態解析分野)
 今井教雄 (地域医療長寿学), 岩間厚志 (千葉大学大学院医学研究院細胞分子医学)

1 老化からみた生活習慣病診療の展望

南野 徹

新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器内科学

Perspectives of Therapeutic Strategy for Lifestyle - related Disease

Tohru MINAMINO

*Department of Cardiovascular Biology and Medicine,
 Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

要 旨

加齢が動脈硬化の独立したリスクファクターであることは、疫学的研究から証明されている。しかし、どのようなメカニズムによって心血管系が老化し、これらの変化を引き起こしているのかは、未解明な点が多い。そこで私は、老化研究を「細胞レベルの老化が個体老化の一部の形質、特に病的な形質を担う」という仮説に基づいて進めることにした。これらの老化シグナ

Reprint requests to: Tohru MINAMINO
 Department of Cardiovascular Biology
 and Medicine, Niigata University Graduate
 School of Medical and Dental Sciences,
 1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
 Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒 951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
 新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器内科
 南野 徹

ルが、重要な役割を担っており、動脈硬化や心不全、糖尿病の病態生理に深く関与していることを示唆するデータを得ているので紹介する。

キーワード：p53, cellular senescence, atherosclerosis, heart failure, diabetes

はじめに

老化はすべての生物種において認められるがその形式は様々である。例えば、マウスの寿命は2-3年であるが、リスは20年以上も生きることができる。出産とともに寿命を全うする生物種も存在する一方で、ある種の魚やカメなどは、あたかも老化していないかのように見える。同一の生物種間、例えばヒトにおいても、その寿命の長さの相違が明らかである。このような多様性の存在にも関わらず、老化の過程は無秩序に生じるものであると考えられてきた。それに対して最近の研究では、老化は秩序ある制御機構を持った生物学的な過程であることが明らかとなりつつある。

加齢に伴って、糖尿病や動脈硬化、高血圧などの生活習慣病の罹患率が増加し、その結果、虚血性心疾患や脳卒中の発症の基盤病態となっている。これらの疾患は、多くの高齢者において共通に認められることから、老化の形質の一部として捉えることができる。すなわち、これらの疾患の究極的な治療のターゲットは、寿命を調節する仕組みそのものかもしれない。しかし、これまで加齢に伴って個々の病態がどのように変化するかという観点からの研究は行われてきたが、老化・寿命という側面からみた包括的な研究は行われていない。

このような現状で、老化・寿命のメカニズムの解明に関する研究は、最近10年間で飛躍的な進歩を遂げている。老化のメカニズムについては諸説あるが、そのひとつが「細胞老化仮説」である。近年、動物モデルにより老化の分子メカニズムが明らかになり、老化や加齢に伴う疾患において、細胞老化の重要性が示唆されている。本講演では、細胞老化に重要なシグナル分子であるp53がどのように老化や加齢に伴う疾患の病態生理に関与しているかについて概説した。

寿命制御からみた p53 依存性細胞老化シグナル

ヒト培養細胞は、およそ50-80回の分裂の後老化し、大型で平坦な形態を示すようになり、分裂を停止する。このような分裂寿命を規定している因子として、テロメアが重要であると考えられている¹⁾²⁾。テロメアは染色体の両端に存在するG rich なリピートで、染色体の保護や複製における基質の役割を担う(図1)。DNAポリメラーゼによる不完全なDNA複製のためテロメアは分裂に伴って短縮し、極度に短縮したテロメアはDNA損傷と認識され、p53依存性の老化シグナルが活性化される(図1)。テロメアを負荷する酵素がテロメラーゼであるが、通常の体細胞では活性が低いため、細胞分裂に伴うテロメアの短縮は免れない。酸化ストレスや放射線などによるDNA損傷や、がん遺伝子の発現などによる過剰な増殖刺激によってもp53依存性の老化シグナルが活性化することが知られており、この場合はテロメア短縮を伴わない¹⁾²⁾。細胞老化は、がん遺伝子による過剰な増殖反応やDNAダメージによるがん化を防ぐ機構であると考えられている。

内因性の制御を伴わないp53の活性化マウスモデルでは、早老症の形質を示し寿命が短縮する。テロメラーゼ欠損マウスも作製されたが、もともとマウスのテロメアが長いいため、初期の世代のマウスでは形質異常を認めない。しかし、ホモ同士の交配を繰り返した後期の世代では、テロメアが短縮し、寿命の短縮やストレスに対する応答の低下など、加齢と同様の変化が認められるようになり、これらの組織ではp53の活性化がおこっていることがわかっている。ヒトにおいてもテロメアは加齢に伴って短縮すること、テロメアが短いグループでは、心疾患による死亡率が3.18倍、感染症による死亡率は8.54倍の増加を認めることなどが報告されている。ヒトの遺伝性の早老症候

群の原因遺伝子の多くは、DNA 修復に関わる分子であるが、そのマウスモデルにおいても、p53 依存性老化シグナルの活性化の重要性が示唆されている。ヒトの遺伝性の早老症候群のひとつである Hutchinson-Gilford 早老症候群は、核膜を構成する A ラミンをコードする遺伝子の変異にもなって変異型の A ラミンであるプロジェリンというタンパクが蓄積することが原因であること明らかとなっている。本症候群の患者やモデルマウスから得られた細胞の寿命は著しく短縮しており、その変化は DNA 損傷の増加や染色体の不安定性と、それらに伴う p53 シグナルの活性化と関連していた。個体レベルにおいても、p53 の欠失は、本症候群のモデルマウスで認められる老化形質を改善し、寿命の延長をもたらした。以上の結果は、個体の老化における p53 依存性の細胞老化シグナルの重要性を示唆するものである。一方、内因性の p53 遺伝子のコピー数の増加は、がん化に対する耐性を獲得し寿命を延長させるという報告もある。

カロリー制限は様々な種においてその寿命を延長し、がんや神経変性疾患、生活習慣病など加齢関連疾患の発症を抑制することが知られている。カロリー制限による寿命の延長には、インスリンシグナルの抑制やミトコンドリア酸化ストレスの軽減、Sirt1 と呼ばれる脱アセチル化酵素の活性化など、様々なメカニズムの関与が想定されている。サルにおいては個体の老化とともに組織における老化細胞の蓄積が認められるが、興味深いことに、その蓄積はカロリー制限によって抑制される。また、カロリー制限に関連するいずれのシグナル経路も p53 の活性を抑制的に調節している。さらに最近、老化細胞が獲得免疫系によって除去されること、加齢に伴い蓄積する老化細胞を除去することによって加齢関連疾患の発症が抑制されることなどが報告されており、個体老化や疾患と細胞老化には重要な関連があることが示されている。

血管老化と p53

ヒト動脈硬化巣の病理学的検討から、冠動脈プラーク表面に老化した血管内皮細胞が認められるのに対し内胸動脈など非動脈硬化巣では認められないことが明らかとなった³⁾。また、これらの老化血管細胞では、内皮型 NO 合成酵素の発現低下、炎症性分子の発現亢進など様々な血管機能障害の形質を示したことから、血管細胞老化の動脈硬化病態生理に対する関与が示唆された。これらの血管細胞では p53 依存性の老化シグナルの活性化が認められたが、その一部はテロメアの短縮によるものと考えられる。実際、ヒト腹部大動脈や大腿動脈の内膜では加齢とともにテロメアの短縮がみられるが、その短縮率は内胸動脈と比較して増加していることから、血流によるストレスが内膜の cell turnover を増強し、テロメアの短縮を促進している可能性がある。一方、生活習慣病において認められる高インスリン血症や高血糖、アンジオテンシン II の活性化は、テロメア非依存性に p53 シグナルを活性化し、血管細胞を老化させることによって動脈硬化を促進していることが、マウスモデルで示されている。これらのマウスにおいて p53 依存性の細胞老化シグナル活性化を抑制すると、動脈硬化の進展を抑制することができることが示されている⁴⁾⁻⁶⁾。

心老化と p53

p53 の発現は、ヒトの不全心で増加していることが報告されている。動物モデルにおいては、高頻度ペーシングやドキシソルピシンによる心機能障害、心筋梗塞や再還流障害モデルなど様々な心不全モデルで p53 の発現亢進が報告されており、ほとんどのモデルでは、p53 の欠失や阻害薬の使用によって心機能障害を軽減できることも示されている。心臓における p53 の発現は、糖尿病モデルにおいても亢進しており、その抑制によって糖尿病性心筋障害を改善することができる。以上より、心不全における p53 依存性シグナルの活性化の重要性が示唆される。

加齢に伴い心不全の発症率は増加する。加齢に伴う高血圧に対しては、初期には適応反応としての心肥大が生じ、長期の圧負荷後には心不全となることが知られているが、そのメカニズムは明らかでなかった。そこで著者らは、心肥大から心不全への移行メカニズムについてマウス圧負荷モデルを用いて検討した⁷⁾。本モデルでは、負荷後2週間までは心肥大が進行し左室収縮力が保たれるが(代償期)、負荷4週後になると心肥大はむしろ退縮し左室収縮力も低下する(非代償期)。心肥大の進行に伴って血管からの距離が増加することから、肥大過程では心筋は低酸素に陥ることが予想される。実際病理学的検討の結果、圧負荷後3日目より心筋低酸素が検出され、それに伴い血管新生が誘導されていた。しかし、14日目以降ではその誘導は減弱し、血管数は低下していた。つまり、心筋内の血管新生能の低下が非代償期における心肥大の退縮と左室収縮力の低下を促進している可能性がある。低酸素下ではHIF1と呼ばれる転写因子が血管新生因子の誘導に重要であることが知られている。事実、心肥大初期にはHIF1の発現は誘導されるが、14日目以降ではその発現が低下していた。p53は長期の低酸素により誘導されること、HIF1の発現や活性がp53によって抑制されることなどが知られている。心肥大非代償期にはp53が誘導されることから、その発現の亢進が血管新生能を低下させ、心機能を障害していると考えられた。実際、p53ノックアウトマウスにおいて、圧負荷モデルを作成したところ、非代償期にもかかわらず、血管数は増加し、心機能は保持されていた。逆に、p53の活性化によって、HIF-1活性と血管新生因子の発現は低下し、早期の心機能不全が誘導された。以上より、圧負荷の初期においては、肥大に伴う低酸素によってHIF-1依存性の血管形成が誘導され、代償的な心肥大が起こるのに対して、非代償には持続的な低酸素によってp53が活性化されることによってHIF-1依存性の血管形成が抑制され、まず血管の細胞障害が引き起こされる結果、心筋細胞死が誘導されるものと考えられた。加齢に伴って心筋のテロメアの機能異常やDNA損傷の集積に

よりp53シグナルの増強がみられることが示唆されていることから、p53の活性化は心不全発症の病態生理に重要であり、加齢に伴うその活性化は、高齢者の心不全発症率増加の一因である可能性がある。

脂肪老化と糖尿病

近年、循環器疾患の発症基盤として、糖尿病やメタボリック症候群といった代謝性疾患が重要視されている。これらの疾患では、肥満に伴う内臓脂肪の蓄積と、それによって惹起されるインスリン抵抗性がその病態の基盤にあると考えられている。しかし、蓄積した内臓脂肪がどのようにしてインスリン抵抗性を惹起するのか、また、加齢に伴ってこれらの疾患が増えるのはなぜかといったことについては明らかとなっていない。一方、糖尿病患者ではテロメアの短縮が亢進していることが報告されており、細胞老化シグナルと糖尿病の発症の関連性が示唆されている。そこで著者らは、p53依存性の細胞老化シグナルと糖尿病の関係について調べることにした⁸⁾。まず、テロメアの短縮と糖尿病の関係を調べるために、テロメレース欠損マウスを用いて検討したところ、本マウスに高脂肪食を与えると、インスリン抵抗性が惹起され、血糖が上昇することがわかった。また血中の悪玉アディポカインも増加しており、その上昇がインスリン抵抗性の原因となっていることがわかった。そこで、テロメレース欠損マウスの脂肪組織を見てみると、脂肪の老化が進んでおり、p53の活性化や炎症性細胞の浸潤、悪玉アディポカインの産生増加などを認めた。次に、2型糖尿病モデルマウスの脂肪を調べてみると、p53依存性の老化シグナルが活性化しており、炎症性細胞の浸潤や悪玉アディポカインの産生増加などを認めた。その活性化には、酸化ストレスの亢進が関与していた。脂肪組織のみでp53を欠失させることによって脂肪の老化を阻害してみると、悪玉アディポカインの産生は低下し、インスリン抵抗性は改善した。逆にp53を過剰発現することによって脂肪の老化を促進すると、悪玉アディポカインの

産生が増加し、インスリン抵抗性が増悪した。

以上の結果より、脂肪の老化に伴って分泌される炎症性のアディポカインが全身性のインスリン抵抗性や糖尿病性血管障害に関与する可能性が示唆された。またこれらの結果より、脂肪における老化シグナル制御は糖尿病治療の新たな標的となりうると考えられた⁸⁾。さらに最近著者らは、心不全(心老化)に伴って脂肪老化が促進され、全身性のインスリン抵抗性が惹起されることによって心機能が悪化するという Vicious cycle が存在することを明らかにした。従って、脂肪における老化シグナル制御は、心不全(心老化)に対する治療標的にもなりうるということが明らかとなった⁹⁾¹⁰⁾。

老化細胞除去による治療戦略

老化研究において、老化分子やシグナルを標的とした抗老化治療の可能性が模索されている一方で、近年全く異なる視点にもとづいたアプローチが注目されている。生体内から老化細胞だけを特異的に除去することで、老化細胞の蓄積に伴う臓器機能の低下や老化関連疾患の発症、さらに個体老化そのものが抑制されるというものである。例えば、抗アポトーシス蛋白である BCL-2 および BCL-xL の特異的阻害剤を経口投与すると、特異的に老化細胞の細胞死を誘導できることが報告されている。また、老化細胞を特異的に除去できる遺伝子改変モデルマウスで検討したところ、加齢に伴う加齢に伴う心肥大や腎機能障害、動脈硬化が有意に抑制されることも明らかとなった。老化細胞除去というアプローチは、老化疾患の次世代の治療法となる可能性があり、更なる研究の発展が期待される。

おわりに

加齢の進行、動脈硬化や心不全、糖尿病を含めた様々な加齢関連疾患において、p53 依存性の老化シグナルが重要な役割を示すエビデンスを紹介した。これらのエビデンスは、加齢に伴って増加する生活習慣病の発症機転を探る糸口となると思

われる。p53 はがん抑制遺伝子として有名であるが、そのシグナルの過剰な活性化は、細胞老化を促進することによって、加齢に伴う様々な疾患に関与する。一方、その活性を過剰に抑制するとがんの発症を招くことになる。多くの病態では、p53 依存性の老化シグナルによって炎症を惹起することが病態生理に直接関与していることから、そのメカニズムの解明によってがん化のリスクのない抗老化治療の開発が可能と考えられる。

参考文献

- 1) Minamino T and Komuro I: Vascular cell senescence: Contribution to atherosclerosis. *Circ Res.* 100: 15-26, 2007.
- 2) Minamino T and Komuro I: Vascular aging: Insights from studies on cellular senescence, stem cell aging, and progeroid syndromes. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 5: 637-648, 2008.
- 3) Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H and Komuro I: Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: Role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation.* 105: 1541-1544, 2002.
- 4) Miyauchi H, Minamino T, Tateno K, Kunieda T, Toko H and Komuro I: Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *Embo J.* 23: 212-220, 2004.
- 5) Kunieda T, Minamino T, Nishi J, Tateno K, Oyama T, Katsuno T, Miyauchi H, Orimo M, Okada S, Takamura M, Nagai T, Kaneko S and Komuro I: Angiotensin ii induces premature senescence of vascular smooth muscle cells and accelerates the development of atherosclerosis via a p21-dependent pathway. *Circulation.* 114: 953-960, 2006.
- 6) Orimo M, Minamino T, Miyauchi H, Tateno K, Okada S, Moriya J and Komuro I: Protective role of sirt1 in diabetic vascular dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009.
- 7) Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama

- Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y and Komuro I: P53-induced inhibition of hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature*. 446: 444-448, 2007.
- 8) Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, Ishikawa F and Komuro I: A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med*. 15: 1082-1087, 2009.
- 9) Shimizu I, Minamino T, Toko H, Okada S, Ikeda H, Yasuda N, Tateno K, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Koh GY, Akazawa H, Shiojima I, Kahn CR, Abel ED and Komuro I: Excessive cardiac insulin signaling exacerbates systolic dysfunction induced by pressure overload in rodents. *J Clin Invest*. 120: 1506-1514, 2010.
- 10) Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Ito T, Zechner R, Komuro I, Kobayashi Y and Minamino T: P53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab*. 15: 51-64, 2012.

2 アフリカメダカは老化とともにパーキンソン病に罹患する

松井 秀彰

新潟大学研究推進機構超域学術院脳病態解析分野

Aged African killifish suffers from Parkinson's disease

Hideaki MATSUI

Department of Neuroscience of Disease, Center for Transdisciplinary Research, Niigata University

要 旨

本シンポジウムでは小型魚類を使ったパーキンソン病の病態研究について概説するとともに、モザンビークに棲息する超短命のアフリカメダカが老化とともにパーキンソン病に罹患することを紹介する。小型魚類は利用者が著増しているモデル動物であり、そのいくつかの利点を議論する。小型魚類は基礎生物学のみならず、疾患研究にも利用可能であり、様々な疾患への適用が期待される。

キーワード：小型魚類、パーキンソン病、メダカ、ゼブラフィッシュ、アフリカメダカ

Reprint requests to: Hideaki MATSUI
Department of Neuroscience of Disease
(in Brain Research Institute), Center for
Transdisciplinary Research, Niigata University,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8585, Japan.

別刷請求先：〒951-8585 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学脳研究所 A, B 棟 112 号室 脳病態解析分野
松井 秀彰