

代謝から読み解く細胞老化とがん化 解糖系研究からの新潮流—Roll with it!

これまで老化研究は、モデル動物を用いた個体レベルでの老化 (organismal ageing) と培養細胞を用いた細胞レベルでの老化 (cellular senescence) の大きく2つに分かれ展開されてきた。前者は、古くから知られるカロリー制限による動物の寿命延長効果や寿命・老化に表現型が認められる遺伝子組換え動物などを研究対象とし、老化の仕組みを明らかにしようと試みられてきた。近年、長寿遺伝子と呼ばれる Sirtuin の登場により、カロリー制限による寿命延長効果は遺伝子の言葉で語られるようになった⁽¹⁾。Sirtuin の研究は爆発的に進められ、Sirtuin が多岐にわたる生命現象を制御することが明らかになりつつある。そのなかでも Sirtuin が解糖系代謝、ミトコンドリアでのクエン酸回路、電子伝達系、尿素回路など細胞内代謝のほとんどを制御している点が目につく。どうやら Sirtuin は代謝を制御しているらしいということが見えてきた。また、カロリー制限を行えば代謝が変化するだろうということは予想される。したがって、Sirtuin 研究・カロリー制限による寿命延長効果の研究のクロストークは「代謝」ではないかと考えることができる。このように、代謝が老化・寿命と密接な関係にあり、老化の謎を解くキーとなることが期待される。では、もう一つの老化研究、細胞レベルの老化も個体老化と同じように代謝との接点をもっているのだろうか？ また、細胞老化研究でも代謝がキーになりうるのだろうか？ そこで、本稿では、細胞老化の概略と細胞老化における代謝について、最近の筆者らのグループによる

研究を基に概説したい。

まず、細胞老化について説明したい。細胞老化は1960年代に Hayflick が「すべての初代細胞の増殖能は有限であり、ある閾値を超えると老化する」ことを発見した⁽²⁾のを契機に研究されるようになり、テロメア短縮依存性あるいは非依存性に生じることが知られる。テロメア非依存性細胞老化は酸化ストレスや DNA 損傷、がん化シグナル (活性型 Ras の過剰発現など) などから誘導される細胞老化の総称であり、別名、ストレス老化とも言われる。がん化シグナルによる細胞老化は、1997年に Serrano らにより報告され、「細胞老化によるがん化防止機構」という仮説が提唱された⁽³⁾。つまり、正常細胞はがん化シグナルに応じて細胞老化を誘導することで増殖を非可逆的に停止させがん化を抑制するという機構があるのではないかと、ということだった。その後、Serrano らを含むいくつかの研究グループから *in vivo* でも細胞老化が、がん抑制機構として働いていることを示唆する報告がなされ、現在では細胞老化のがん化抑制機構としての役割は広く認められている。近年では、細胞老化はがん抑制機構としての役割のみならず、全く真逆

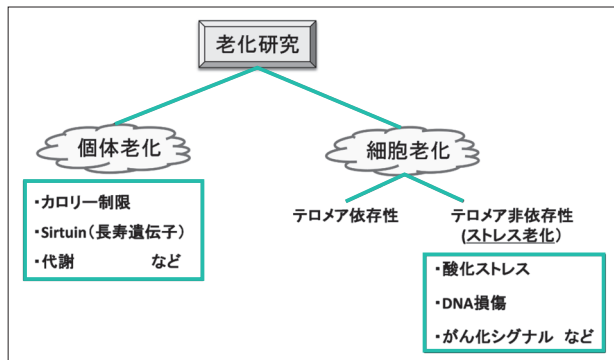


図1 ■ 個体老化研究と細胞老化研究

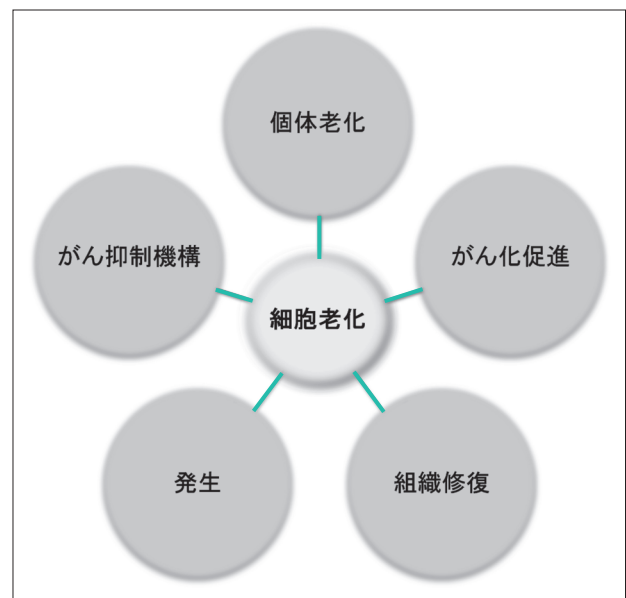


図2 ■ 細胞老化はさまざまな生命現象に関与する

のがん化促進、組織の修復、炎症や発生段階での組織リモデリングなどにかかわることが明らかとなってきた。細胞老化はこのようにさまざまな生物学的役割をもつことが明らかにされてきたが、当初から予想されていた個体老化との関係もいくつかの報告により示唆されている。なかでもBakerらによる報告は、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⁽⁴⁾。Bakerらは細胞老化のマーカー遺伝子の一つであるp16を発現した細胞のみを薬物依存的に細胞死を誘導し排除することができるマウスを作製した。このマウスを用い、p16を発現した細胞を終生排除したところ、筋肉の低下や脂肪の減少、白内障などの老化様症状が抑制されることが示された。また、老化様症状が出始めてから、薬剤誘導的にp16発現した細胞を排除したところ、すでに発症していた老化様症状が抑制されることが示された。これらの結果は、細胞老化が個体老化の原因の一つである可能性を示唆しており、また、細胞老化した細胞を除くことがアンチエイジングにつながる可能性を示した。ここで、注意したいことは、p16発現細胞を排除しているが、p16が細胞老化のマーカーの一つであるとはいえ、必ずしも老化した細胞とは言えないこと、また、このマウスのバックグラウンドが老化しやすいマウスであったことである。しかし、このBakerらによる研究は細胞老化と個体老化とのリンクの存在を大きく後押しした。

細胞老化における代謝について話を移したい。筆者らのグループでは、cDNAライブラリーを用い細胞老化を乗り越える遺伝子の探索を試みた。その結果、解糖系代謝の酵素であるPGAM (phosphoglycerate mutase) を同定した⁽⁵⁾。初代培養細胞であるMEF (mouse embryonic fibroblast) 細胞は、細胞株樹立後、培養していくと、徐々に増殖能が低下し細胞が老化し始める。そこで、老化する前のMEF細胞に遺伝工学的手法でPGAMを過剰に発現させたところ、PGAMの酵素活性上昇に伴い解糖系全体が亢進することが観察され、細胞は老化せず増殖能を維持するようになった。つまりPGAMを過剰発現させた細胞は、細胞老化を乗り越え不死化したのである。PGAMの酵素活性変異体ではこの効果が見られないことから、PGAMの酵素活性依存的な解糖系代謝全体の亢進により細胞老化を乗り越えることが示唆された。また、逆に、MEF細胞でRNAi (RNA干渉) 法によりPGAMの発現量を低下させると、早期に細胞老化が誘導されることが判明した。つまり、解糖系代謝を亢進させ

ると細胞老化を乗り越えられるようになり、逆に、解糖系代謝を低下させると細胞老化を誘導することがわかってきた。これらの結果より、“解糖系代謝と細胞老化との密接な関係”が浮き彫りとなってきた。解糖系代謝は、糖であるグルコースをピルビン酸へと分解し、グルコースに含まれるエネルギーをATPやNADHの形に変換することで生体が利用しやすくする、異化反応の代謝過程である。解糖により得られたピルビン酸は、乳酸やアセチルCoAに置換され、アセチルCoAはさらにミトコンドリアでクエン酸回路に入る。また、一方で、解糖系代謝の中間産物は、核酸・アミノ酸などのさまざまな生体物質の前駆体となり、解糖系はそのような前駆体を供給するうえでも重要な役割を担っている。では、果たして細胞老化の過程で解糖系代謝やその酵素であるPGAMはどのような挙動を示すのだろうか。また、代謝変化があるとしたら、どのような意味をもつのであろうか。

筆者らのグループは、これらの疑問に対し長年挑戦してきた。最近得られた結果を紹介したい⁽⁶⁾。まず、細胞老化を誘導するようなストレス、過酸化水素やエトポシド (DNA傷害剤) を細胞に処理した際の解糖系を測定してみたところ、著しい解糖系全体の低下が観察された。つまり、細胞老化に先立ち、あるいは、同時に、解糖系全体が負の方向に変化することがわかった。この解糖系全体の低下がどのような原因で生じているか解明すべく、いくつかの解糖系代謝酵素のタンパク質量を調べてみたところ、細胞老化を誘導するストレス処理時に唯一、PGAMのタンパク質量が著しく低下することが判明した。つまり、細胞老化を誘導するストレスはPGAMのタンパク質量減少を引き起こし、解糖系全体を低下させ細胞老化を誘導するという機構が考えられた。

さらに、詳細な分子関係を調べてみたところ、細胞老化を誘導するストレスはリン酸化酵素であるPak1 (p21-activated kinase) を活性化させ、活性化したPak1がPGAMをリン酸化することが判明した。また、PGAMはPak1によるリン酸化を引き金とし、MDM2 (mouse double minute 2) によるポリユビキチン化修飾を受けることも判明した。ポリユビキチン化修飾はプロテアソームによる分解を誘導することが知られており、PGAMもユビキチン-プロテアソームのタンパク質分解系により速やかに分解されることが示唆された。実際、プロテアソームの阻害剤であるMG132処理時にPGAMの分解が抑制される。これらの結果は、PGAMが細胞

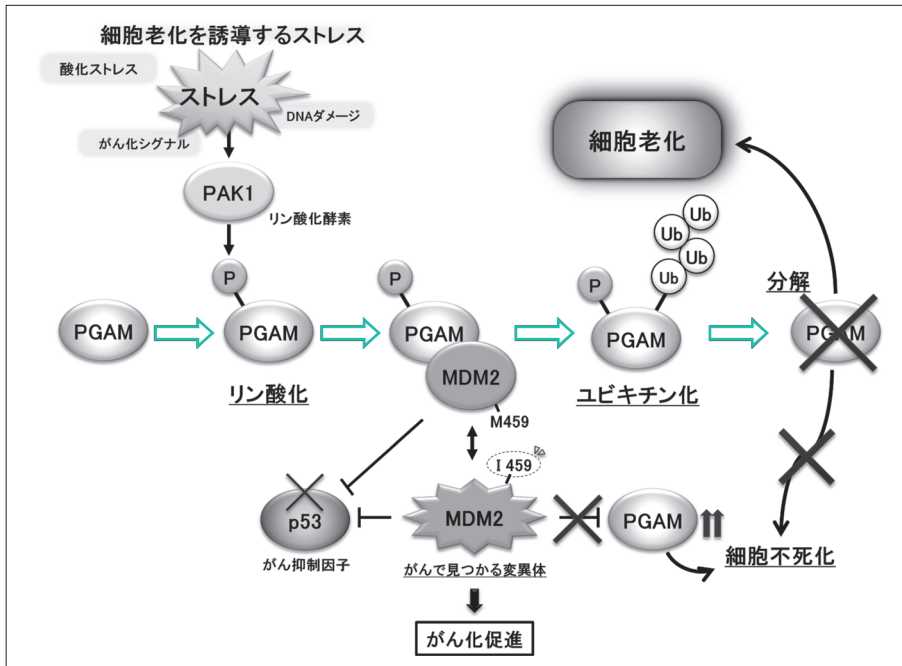


図3 ■細胞老化を誘導するストレスが解糖系を制御する機構、および、がんでのその機構の破綻

細胞老化を誘導するようなストレスは、Pak1を活性化させる。活性化したPak1はPGAMをリン酸化し、リン酸化されたPGAMはMDM2によるポリユビキチン化修飾を受け、プロテアソーム（図には示していない）により急速に分解される。PGAMの分解を引き金に、細胞老化が誘導される。また、がんで見つかる変異体であるMDM2 I459（459番目のアミノ酸がイソロイシン）は、重要ながん抑制遺伝子であるp53を抑える一方、PGAMをポリユビキチン化修飾できずPGAMを分解に導くことができないため、結果として細胞をがん化に導く。P：リン酸化修飾，Ub：ユビキチン化修飾。

老化においてリン酸化-ユビキチン化修飾による厳密に制御されており、解糖系低下をもたらす細胞老化を誘起する重要な因子であることを示唆している。また、細胞老化の過程でPGAMの分解が端緒となり、ダイナミックな（解糖系）代謝変化が生じることを示唆している。このように、細胞老化と解糖系代謝との関係の分子メカニズムが明確になってきた。

前述のように、細胞老化はがん抑制機構としての役割があることが知られている。また、がんで解糖系代謝が亢進していることが知られており、Warburg効果という。これらのことから、筆者らのグループは、がん細胞は解糖系代謝を亢進させることで細胞老化を乗り越え、不死化というがんの形質の一つを獲得しているのではないかと考え、がんにおけるPGAM制御機構の破綻について検討した。その結果、ヒトがんサンプルで見つかるM459I（459番目のメチオニンがイソロイシンに置換の意味）の変異をもつMDM2は、重要ながん抑制遺伝子であるp53を抑制する一方でPGAMをユビキチン化できず（つまり、分解できず）、結果としてがん化を促進することを見いだした。したがって、細胞老化時のPGAM分解機構が破綻すると、解糖系の低下（すなわち代謝シフト）を引き起こさず、細胞の不死化をもたらす、がん化につながるというメカニズムが考えられた。つまり、細胞老化と代謝、そして“がん”とのリンクが

明らかとなってきた。

本稿で紹介したように、“がん抑制機構”としての細胞老化におけるダイナミックな解糖系代謝の変化とその重要性が明らかとなってきた。一方で、“個体老化の原因”としての細胞老化における代謝変化はベールに包まれたままである。カロリー制限やSirtuinの研究を鑑みると、老化と代謝は密接にかかわっていることはもはや疑いようもない。今後、“個体老化の原因”としての細胞老化における代謝が老化研究の新たな世界を開くのでは、と期待したい。

- 1) 今井眞一郎, L. P. Guarente: “代謝と老化・寿命を結ぶ—サーチュイン研究の最前線”, 羊土社, 2010, pp.3058-3067.
- 2) L. Hayflick & P. S. Moorhead: *Exp. Cell Res.*, **25**, 585 (1961).
- 3) M. Serrano, A. W. Lin, M. E. McCurrach, D. Beach & S. W. Lowe: *Cell*, **88**, 593 (1997).
- 4) D. J. Baker, T. Wijshake, T. Tchkonina, N. K. LeBrasseur, B. G. Childs, B. van de Sluis, J. L. Kirkland & J. M. van Deursen: *Nature*, **479**, 232 (2011).
- 5) H. Kondoh, M. E. Lleonart, J. Gil, J. Wang, P. Degan, G. Peters, D. Martinez, A. Carnero & D. Beach: *Cancer Res.*, **65**, 177 (2005).
- 6) T. Mikawa, T. Maruyama, K. Okamoto, H. Nakagama, M. E. Lleonart, T. Tsusaka, K. Hori, I. Murakami, T. Izumi, A. Takaori-Kondo *et al.*: *J. Cell Biol.*, **204**, 729 (2014).

(津坂剛史, 近藤祥司, 京都大学大学院医学研究科)



プロフィール



津坂 剛史 (Takeshi TSUSAKA)
 <略歴> 2012年名古屋市立大学薬学部生命薬科学科卒業／同年4月京都大学大学院医学研究科(加齢医学講座)修士課程入学／2014年同博士課程在学中<研究テーマと抱負> 将来は、「老化とは何か」真理探究していきたい<趣味> スポーツ(特に野球とテニス), 読書



近藤 祥司 (Hiroshi KONDOH)
 <略歴> 1992年京都大学医学部医学科卒業／同年同大学医学部附属病院老年内科入局／2001年同大学理学部生物物理(柳田充弘教授)で細胞周期研究後学位／2001～2005年イギリスロンドン大学(David Beach教授)で細胞老化研究／2006年帰国. 同上助手／2010年同上院内講師<研究テーマと抱負> 単なる寿命研究ではなくて, 老化による生体恒常性破綻とその再獲得が, 生命に何をもたらすのか, という少し哲学的疑問に対して, 分子生物学的アプローチによる解明を目指したい<趣味> 読書, 映画鑑賞, サッカー観戦, 麻雀

Copyright © 2014 公益社団法人日本農芸化学会