第 23 回日本老年学会総会記録

〈特別講演 Meet the Experts : 日本の長寿科学基礎研究の最前線〉

1. ストレスと老化

磯部 健一

Key words : ストレス, 老化, 生体防御

(日老医誌 2003 ; 40 : 565—568)

はじめに

高齢化社会の到来とともに、ひとはなぜ老いるのか？といった、古くからの難問が、社会的に重要な意味を持ってきた。高齢者の疾患は老化の結果として起こるものが少なくないこと、また、いかに肉体的、精神的老化を予防し、活力ある生活をおくるかといった課題に老化研究が果たす役割は大きい。さて、環境ストレス、それによって発生する、あるいは代謝によって発生するラジカルが老化の原因となるとする説はほぼ確立され¹⁾、現在そのメカニズムが盛んに研究されている。最近、ES 細胞を含めた幹細胞の研究が発達してきた。生体は最終分化した細胞と幹細胞、分化途中の細胞で構成されている。ここでは、老化研究の対照を幹細胞と最終分化後に分けて考えることで、今までの研究成果を整理し、新しい展望を考える。ところで、ひとを含めた高等動物は神経免疫系を発達させてきた。このことが、下等動物の老化に加えて考えるべき大きな要素である。後半このことを述べる。

幹細胞の老化と最終分化後の老化

私達のからだは受精卵が分化し、肝臓、心臓、脳といった臓器がつくられていくのであるが、その共通した発生、分化過程が近年明らかになってきた。生体には異なる発生段階での幹細胞 (stem cell) が存在し、一部の幹細胞は成長後も、臓器の決まった部位で支持細胞 (feeder cells) に支えられ分裂をくり返しているが、最終分化のあと、分裂せずにある期間組織細胞として生存する (図 1)。例えば、血液細胞は骨髄の stroma に支えられて、血液幹細胞として、リンパ球、顆粒球、マクロファージ、赤血球を分化により産生しつづけるとともに、一部は分

図 1 Two types of senescence

化せずに分裂をくりかえしている。この幹細胞の寿命は細胞の分裂寿命 (replicative senescence) として、そのメカニズムが研究されている。ところで、最終分化のあとも、神経細胞は長く生存していると考えられている。最終分化のあとどれくらい生きれるかは細胞の種類によって大きく異なる。その老化のメカニズムは分裂寿命とは異なるメカニズムが存在すると考えられる (postmitotic senescence)。

分裂寿命と細胞のストレス応答系

現在までに細胞老化として比較的詳しく研究されてきたのは線維芽細胞のみである。線維芽細胞に寿命があるといったのはヘイフリックである²⁾。線維芽細胞を培養すると、人では 50 回程で、マウスでは 10 回以内の分裂で寿命が来る。(マウスでは分裂停止後、一部の細胞が変

図2 細胞老化

異し、増殖がはじまる)。分裂寿命時期に癌抑制遺伝子である p53 がリン酸化され、p21/WAF1 といった細胞分裂周期を停止させる蛋白発現が上昇する。細胞に、放射線、紫外線、アルキル化剤を加え、ストレス応答を誘起する時におきるストレス応答系と同じシグナル伝達系を細胞は使用している。線維芽細胞は分裂に従いテロメアが短くなり、これが細胞のストレス応答系を活性化して (p53 のリン酸化も考えられている)、分裂を停止させていると考えられる (図2)。最近、リン酸化 p53 を過剰発現させたマウスの寿命がわずかであるが短縮することが報告された³⁾。老化は筋、肝等一部の組織であるが、重要なことは細胞老化が個体の老化とも関係するということである。幹細胞の分裂寿命が p53 の影響する組織で短縮していると考えることができる。からだのなかにある幹細胞は寿命があるのか? Raff のグループはオリゴデンドロサイトを培養すると分裂寿命がなくなると、分裂しつづけることを報告した⁴⁾。また、消化管の幹細胞は 1,000 回以上分裂することが確かめられている⁵⁾。幹細胞の分裂寿命は組織によって違うと考えられる。ただ、分裂寿命が長くても、幹細胞が老化により機能を持つ細胞に分化できるかどうかは問題である。ごく最近血液幹細胞で老化による変化が調べられた。マウスでは純系といって遺伝的背景が全く同じ系統が多数樹立されている。老化の研究は C57BL/6 (B6) 系が頻用されているが、驚いたことに、このマウスの血液幹細胞は老化すると数が増えるのである。ところが放射線照射マウスに細胞移入して、血液幹細胞の機能を調べてみると、老化により血球への分化能が減弱することがわかった。B6 以外の系統ではこの機能がされに弱まっていること

が判明した。B6 と DBA/2 の HSC をまぜて放射線照射マウスに移入すると B6 のみから赤血球が産生される。B6 が他の系統に比べ長生きなのは HSC の再生能の差、さらには免疫能の差と考えることもできる⁶⁾。血液幹細胞の老化に 2 つの可能性が考えられる。1 つは細胞そのものの成分がストレスにより老化 (遺伝子変異、蛋白変異等) した可能性、もう 1 つは支持組織が老化し、そこから分泌されるファクターが血液幹細胞の機能をささえられなくなった可能性である。

最終分化した細胞の老化と生体防御

神経細胞は個体内で多くが一生涯、すなわち 100 年も生存可能である。私たちは、分化した神経細胞の老化モデルとして、脳青斑核ニューロンを選んだ。脳のストレス応答器官である青斑核はノルアドレナリン含有ニューロンの集まった小さな組織である。ここから全脳に軸索を投射しているが、とりわけ海馬・大脳皮質といった高次機能に関連した部位に密に投射している。青斑核ニューロンは生体にとって、生存を脅かす危機的ストレスに反応し、スパイクの数を増加させ、脳をいわば覚醒状態に保つ働きがある。事実、我々は痛み、血圧低下といった刺激でスパイク数の増加を観察している。私達は約 3 年の寿命であるラットを使い、老化に伴い青斑核ニューロン活動の変化、その神経軸索の数の変化をそれぞれ、電気生理学的、組織学的に検索した。その結果、海馬・前頭葉への投射は加齢に伴い減少するが、驚いたことに、15 月齢を境に投射部位に残った軸索終末で発芽がおこることが明らかになった⁷⁾。このことは、加齢に伴う、軸索の減少を防御する生体防御系が存在することを意味する (図3)。この神経細胞の老化には主として ROS が関与すると考えられている。酸化ストレスと老化の関係はすぐれた総説があるため、ここでは省く⁸⁾。ROS が老化に重要な役割を持つことは線虫の研究でも明らかにされた。ミトコンドリア内にある遺伝子の変異体は短寿命になることが報告されている⁹⁾。人の脳では老化に伴い、神経変性疾患が増加してくる。アルツハイマー病では、異常蛋白 (ペプタイド) が脳の細胞外に蓄積し、老人斑を形成する。また、神経細胞内に Tau 蛋白が認められるようになる。アルツハイマー病では遺伝子変異が関与する例 (PS1, APP 変異) が報告されているが、その発症に異常蛋白凝集により引き起こされるストレス応答 (unfolded protein response; UPR) の関与が示唆される。最近 UPR に関与する蛋白 (GCN2, PKR, PERK, HRI) が endoplasmic reticulum (ER) ストレスにより誘起され、細胞の蛋白合成を遮断することが明らかにされた。私達

図3 神経細胞の老化と防御

はDNA傷害性ストレス、酸化ストレスで発現が上昇することが知られているGADD34がERストレスで強く誘導され、蛋白合成遮断からの回避に働くことを遺伝子欠損マウスで明らかにした¹⁰⁾。

精神的ストレスと老化

私達の体は精神的ストレスに反応し、様々な応答をしている。この精神的ストレスはなかなか科学的に解明されるまででしかないが、それでも、事実として存在する。一般的には、脳を介して、交感神経が反応し、また、副腎からホルモンが産生され、いわゆる攻撃的反応(心臓の拍動の亢進、血管収縮等)、それに続く副交感神経による安静期の反応を行うことにより、生体の恒常性が保たれている。マウス、ラットに精神的ストレスを加える実験に拘束ストレスの実験がある。私達は、マウスを1晩拘束すると免疫系、とりわけ胸腺細胞の減少によるT細胞機能異常がおこることを観察している。ところが、このマウスの血液を調べたところ強い血液凝固系の機能亢進がみられた。PAI-1(plasminogen activator-1)の血液中、あるいは組織での発現上昇がみられ、腎臓に血栓が観察された。老化にともなって、血栓傾向は増加した。このことは、高齢者の脳血栓、心筋梗塞を考える上に重要である¹¹⁾。

感染ストレスと老化

高齢者は感染症でなくなることがきわめて多い。全身状態が悪くなると敗血症になる可能性がある。LPSは細菌外膜の成分であり、血中に入ると敗血症の原因となる。LPSによりROS、NO産生が起こりミトコンドリアのDNA欠損がおこる。その結果呼吸鎖をコードするNADH dehydrogenase subunit 1.2あるいはcytochrome C oxidase subunit 1の活性が低下する¹²⁾。私達はLPSがPAI-1の発現を上昇させ、血栓傾向が増加することを見出した。若いマウスに比べ老化マウス程この傾向が強いことが判明した¹³⁾。生体はROSに対してはSOD、Catalase、Glutathione peroxidaseといったROS消去酵素を発達させてきた。私達はLPSあるいはLPSにより産生されるサイトカインTNF- α やIL-1がミトコンドリアに存在するMn-SODを強く発現することを報告した¹⁴⁾。生体は活性酸素を放出することで外敵をやっつけているのであるが、それが、老化を進行させてしまう。細胞はROSから身をまもるため、Mn-SODをはじめとした防御系を発達させた。この防御系はまた老化の防御にもなっている。

まとめ

老化の研究は生物学、医学の進歩によって、より深くなっていくように思える。今までに、酸化ストレス、Hayflick Limit、カロリー制限の理論が広く行き渡っているが、今後の発展により、これらの説も、変更を余儀無くされる可能性を秘めている。私達は老化を研究するにあたって生物科学一般の研究成果を取り入れることが重要であると考えている。また、老化によって表れる病気の理解に、老化の研究が役立つことを確信している。本研究は老化機構研究部；城川哲也、石田佳幸、小島英嗣、名古屋大学医学部；山本晃司らとの共同研究による。また、厚生労働省、長寿科学総合研究事業を中心に1部文部科学省の特定研究に援助を受けた。

文 献

- 1) Harman D: Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1957; 2: 298—300.
- 2) Hayflick L: The biology of human aging. *Am J Med Sci* 1973; 265: 432—445.
- 3) Tyner SD, et al.: Mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 2002; 415: 45—53.
- 4) Tang DG, Tokumoto YM, Apperly JA, Lloyd AC, Raff MC: Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cells. *Science* 2001; 291 (5505):

- 868—871.
- 5) Marshman E, Booth C, Potten CS: The intestinal epithelial stem cell. *Bioessays* 2002; 24: 91—98.
 - 6) Geiger H, Van Zant G: The aging of lymphohematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2002; 329—333.
 - 7) Ishida Y, Shirokawa T, Miyaishi O, Komatsu Y, Isobe K: Age-dependent changes in projections from locus coeruleus to hippocampus dentate gyrus and frontal cortex. *Eur J Neurosci* 2000; 12 (4): 1263—1270.
 - 8) Finkel T, Holbrook NJ: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408 (6809): 239—247.
 - 9) Ishii N, Fujii M, Hartman PS, Tsuda M, Yasuda K, Senoo-Matsuda N, et al: A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. 1998; 13; 394 (6694): 694—697.
 - 10) Kojima E, Takeuchi A, Haneda M, Yagi F, Hasegawa T, Yamaki K, et al: The function of GADD34 is recovery from a shutoff of protein synthesis induced by ER stress; elucidation by GADD34-deficient mice. *FASEB J* Exp in press.
 - 11) Yamamoto K, Takeshita K, Shimokawa T, Yi H, Isobe K, Loskutoff DJ, et al: Plasminogen activator inhibitor-1 is a major stress-regulated gene: implications for stress-induced thrombosis in aged individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (2): 890—895.
 - 12) Suliman HB, Carraway MS, Piantadosi CA: Postlipopolysaccharide oxidative damage of mitochondrial DNA. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 570—579.
 - 13) Yamamoto K, Shimokawa T, Yi H, Isobe K, Kojima T, Loskutoff DJ: Aging accelerates endotoxin-induced thrombosis: Increased responses of plasminogen activator inhibitor-1 and lipopolysaccharide signaling with aging. *Am J Pathol* 2002; 161 (5): 1805—1814.
 - 14) Maehara K, Hasegawa T, Xiaa H, Takeucia A, Abo R, Isobe K: Cooperative interaction of NF- κ B and C/EBP binding sites is necessary for manganese superoxide dismutase gene transcription mediated by lipopolysaccharide and interferon- γ . *FEBBS Letter* 1999; 449: 115—119.
-