総説

細胞老化の誘導機構とその生体における役割 —腸内細菌代謝物による肝星細胞の細胞老化と肝がん促進—

大谷 直子^{1,2}

¹ 東京理科大学・理工学部・応用生物科学科

² 独立行政法人科学技術振興機構さきがけ

要旨：細胞には異常を感知し、その細胞自身や生体の正常を保とうとする様々な生体防御機構が備わっている。細胞老化もそのような生体防御機構のひとつで、発がんの危険性のある損傷が細胞に加わった際に誘導される不可逆的細胞増殖停止であり、生来細胞に備わった重要な発癌防御機構である。しかし、自ら死滅するアポトーシスとは異なり、細胞老化を起こすと、生体内において長期間生き続ける可能性がある。最近、生き残った老化細胞から、様々な炎症性サイトカインや細胞外マトリクス分解酵素といった多くのタンパクが産生・分泌されることが明らかになり、この現象はSASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれている。今回我々は、肥満にともなう肝臓がんモデルにおいて、肝臓の間質に存在する肝星細胞が細胞老化とSASPを起こし、肝がんを促進的ながん微小環境を形成することを見出した。さらに肝星細胞の細胞老化は肥満により増加した腸内細菌が産生する2次胆汁酸のひとつ、デオキシコール酸により促進されることを示した。

キーワード：細胞老化、SASP、肥満、肝がん、腸内細菌、デオキシコール酸

はじめに

細胞老化はもともとDNA損傷などの発がんの危険性がある異常が細胞に生じると発動されるがん抑制機構である。ところがアポトーシスと違って老化細胞は、すぐには死滅せず長期間生き残ると考えられる。最近、生き残った老化細胞から、様々な炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素といった多くのタンパクが産生・分泌されることが明らかになり、この現象はSASP (細胞老化関連分泌現象、senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれている。今回我々は、肥満にともなって生じる肝がん組織においては、肝臓の間質を構成する肝星細胞と呼ばれる線維芽細胞が、SASPを起こし、肝がんの進展に促進的ながん微小環境を形成することを見出した。本稿では細胞老化による炎症持続機構・SASPについての概説と、腸

内細菌の代謝産物によるSASPを介した肝がん促進について述べる。

細胞老化とは

ヒトの生体から正常な体細胞を取り出して初代培養すると、ある一定の回数分裂増殖を繰り返した後、細胞は増殖を停止し、もはやいかなる増殖刺激を与えても細胞分裂が起らなくなる。この「不可逆的な細胞増殖停止」状態が細胞老化 (cellular senescence) であり、この現象は今から50年ほど前にアメリカのHayflickによって提唱された (Hayflick 1961)。細胞老化は増殖因子の除去や接触阻害等の場合に見られる一時的な増殖停止とは異なり、細胞が本来有する分裂寿命 (Replicative lifespan) が尽きたために起こる不可逆的な増殖停止である。この分裂寿命が生じる原因は、ヒトの体細胞の場

Correspondence: Naoko Ohtani, naoko.ohtani@rs.tus.ac.jp

大谷 直子：〒278-8510 千葉県野田市山崎2641

東京理科大学理工学部応用生物科学科

掲載受理日：2014年12月28日

Figure 1. 細胞老化の誘導

分裂寿命による細胞老化はテロメアの短小化により起こる。ストレス誘導性細胞老化は酸化的ストレスやがん遺伝子の活性化等によりDNAダメージシグナルが誘導され、急速に起こる細胞老化である。

合、テロメラーゼの活性が非常に低いため、細胞分裂ごとに染色体末端に存在するテロメアが短小化し、そのために起こる構造変化がDNAダメージとして認識され、p53-p21^{Waf1/Cip1}経路、p16^{Ink4a}-RB経路といった増殖抑制因子群の活性化を引き起こし、細胞分裂が停止するためであると考えられる (Colado et al. 2007)。しかし近年、分裂寿命をまだ迎えていない細胞においても、活性酸素種の蓄積による酸化的ストレスや、がん遺伝子の活性化による過剰増殖 (過剰複製) のような、DNAダメージシグナルを誘導する刺激により、同様にp53-p21^{Waf1/Cip1}経路、p16^{Ink4a}-RB経路を介して急速に細胞老化様の不可逆的細胞増殖停止が起こることが明らかになってきた (Figure 1) (Serrano et al. 1997)。テロメア長が非常に長く、体細胞でもテロメラーゼ活性を有するマウスの細胞でも、このストレスによる細胞老化が起こることが知られている。このような様々な細胞内外のストレスにより生じる細胞老化は、ストレス誘導性細胞老化 (stress-induced senescence, SIS)、またはがん遺伝子誘導性細胞老化 (oncogene-induced senescence, OIS) と呼ばれている。この種の細胞老化は、培養細胞においてだけでなく、生体においても誘導されることが報告されたことから (Sharpless et al. 2005)、ストレス誘導性細胞老化は、正常細胞が上述のようなDNAダメージをともなう、発がんの危険性のある強いストレス

(発がんストレス) を受けた場合に、速やかに働く生体防御機構 (がん抑制機構) の一つであると考えられる。

細胞老化の誘導・維持機構と生体内イメージング

上述したふたつの細胞老化 (分裂寿命とストレス誘導性細胞老化) の誘導の際に見られる共通の現象として、DNAダメージ応答 (DNA damage response, DDR) が生じることがあげられる。つまり、細胞老化の不可逆的増殖停止は、増殖中の細胞において生じたDNAダメージに反応し、Cyclin-dependent kinase (CDK) インヒビターであるp21^{Waf1/Cip1}やp16^{Ink4a}の発現誘導が起こり、これらのCDKインヒビターによりRBタンパクが恒常的に活性化されることにより、細胞周期のG1期からS期への移行に必要な転写因子であるE2Fの転写活性が阻害され細胞周期の進行が停止するために起こると考えられている (Gil et al. 2006)。すなわち、細胞老化の誘導は細胞周期チェックポイント機構の恒常的な活性化と考えることができる。p21^{Waf1/Cip1}とp16^{Ink4a}は標的とするCDKが異なるため、それぞれ単独ではRBタンパクを完全に活性化することはできないが、2つが同時に働くことで効率よくRBタンパクを活性化することができると考えられる (Gil et al. 2006)。

Figure 2. p16^{INK4a} 遺伝子発現の生体内イメージング

マウスの加齢における p16^{INK4a} 遺伝子発現の上昇を示す発光の増強と p16^{INK4a} の発現が上昇した臓器における DNA ダメージシグナル (γ-H2AX foci) の蓄積。

我々は、生体内における細胞老化の役割を明らかにするため、p21^{Waf1/Cip1} (Ohtani et al. 2007) や p16^{INK4a} の発現を指標 (Yamakoshi et al. 2009) にホタルの発光酵素・ルシフェラーゼをレポーター遺伝子として、マウスの個体で細胞老化反応のイメージングを試みた。その結果、DNA 損傷誘導剤の投与により p21^{Waf1/Cip1} の発現を示す発光が上昇し、またマウスの加齢により、p16^{INK4a} の発現を示す発光の上昇が認められた。p16^{INK4a} の発現が高い臓器では、DNA 損傷マーカーが検出され、加齢にともない DNA 損傷による細胞老化が蓄積することが確認された (Figure 2)。

細胞老化の役割とその副作用 SASP

上述したように、細胞老化は発がんの危険性が生じた細胞（多くは修復不可能な DNA 損傷が生じた場合）の増殖を、不可逆的に停止させることによって、異常な細胞の増殖、すなわちがん化を抑制する重要な機構である (Ohtani et al. 2013)。実際に、細胞老化の誘導因子であり、p21^{Waf1/Cip1} の制御転写因子である p53 や p16^{INK4a} は、非常に多くののがんのガンで失活しており、これらのタンパクは重要ながん抑制因子として知られている (Ohtani et al. 2013)。このことから裏付けられるように、細胞老化を誘導する経路は、がん抑制に働いていることは疑いの余地がない。しかし、もうひとつのがん抑制機構として知られるアポトーシスとは異なり、細胞老化をおこしてもすぐには死滅せず長期間生き続けると考えられている。実は最近この長期間生き続ける細胞老化を起こした細胞が周囲の細胞にさ

まごまな影響を及ぼす可能性が示唆されている (Figure 3)。

近年、細胞老化を起こすと、Interleukin-6 (IL-6) や Growth-regulated alpha protein (GROα) 等の炎症性サイトカインやケモカイン、さらには Vascular endothelial growth factor (VEGF) 等の増殖因子や細胞外マトリクス分解酵素 (Matrix metalloproteinases, MMPs) など、炎症や発がんを促進する可能性のある様々な因子を分泌することが明らかになってきた (Rodier et al. 2011)。この細胞老化によるサイトカイン等の分泌現象は Senescence-associated Secretory Phenotype (SASP) と呼ばれ、最近特に注目されている。

SASP の二面性

細胞老化に伴う SASP という現象により分泌される様々な SASP 因子はオートクライン的に自分自身に働き、CXCR2 やそのリガンド因子により自己の細胞老化を強化することが示されている (Acosta et al. 2008)。一方で、TGF-β 等の因子によりパラクライン的に周囲の細胞の細胞老化を促進する報告があるが、IL-6 や GROα、PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)、MMPs など腫瘍発育に促進的に働くことが知られる因子も多く分泌する (Acosta et al. 2013, Coppé et al. 2008) (Figure 4)。SASP は生体にとって、有益なのか有害なのか、またそのスイッチングはどのように制御されているのだろうか。

前述したように SASP は DNA 損傷を受けた細胞で生じることが知られている。その知見に合致する

Figure 3. SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype)

正常細胞が酸化ストレスやがん遺伝子の活性化等による強いDNA損傷を受けると、アポトーシスにより細胞は自ら死滅するか、細胞老化が誘導され不可逆的細胞増殖停止が起こる。これらはDNA損傷を被った異常細胞が増えないようにするための生体防御機構である。しかし、長く生き残った老化細胞から、炎症性サイトカインなど様々な分泌因子が放出されることが最近明らかになり、この現象はSASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype) と呼ばれている。

Figure 4. SASPの役割

酸化ストレスやがん遺伝子の活性化等によるDNA損傷により、不可逆的細胞増殖停止・細胞老化が生じる。これは重要な発がん防御機構であるが、アポトーシスと違って細胞老化を起こすと長期に生存し続け、その細胞からは様々な炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素等が分泌されることが明らかになってきた (SASP)。これらのSASP因子は、オートクライン的に自己細胞に働き、細胞老化を強化したり、バクテラインの働き免疫細胞の遊走に関わる一方で、分泌因子の性質から、周囲の細胞に様々な炎症反応を引き起こし、慢性炎症や発癌を促進するというような有害な面もあると考えられている。

ように、正常な組織レベルでは傷害を受けた組織環境における細胞で細胞老化やSASPが生じることが報告されている。たとえば、皮膚の損傷時において、その治癒過程で皮膚線維芽細胞において一時的に細胞老化が起こり、線維化や瘢痕化を抑制し、同時にSASP因子が治癒を促し、新しい皮膚の再生に役立っていることが示唆された (Jun et al. 2010)。また四塩化炭素を用いた肝臓傷害モデルでも、肝臓の間質に存在する肝星細胞と呼ばれる線維芽細胞において細胞老化が起こり、線維化を抑制していることが示唆された (Krizhanovsky et al. 2008)。さらにこのときSASP因子は免疫細胞の遊走を促し老化細胞のクリアランスに役立っていると報告された (Krizhanovsky et al. 2008)。このように間質に存在する線維芽細胞の細胞老化は組織損傷に対する正常な治癒反応として一時的に生じることが示されている。

しかし、SASPによって分泌される因子は、多くは発がんや炎症など、生体にとって不利益な病態を引き起こす能力を持っている因子である (Coppé et al. 2008)。したがって生体で細胞老化が生じそのまま長期に生体内に生存し蓄積すると、SASPによって炎症性サイトカインや細胞外マトリクス分解酵素等が分泌され、そこは周囲の組織に炎症反応や発がんの促進を引き起こす生体にとっては好ましくない微小環境となる可能性がある。SASPによるがん進展に着目した研究では、細胞老化を起こした線維芽細胞との共存によって、上皮系培養細胞は浸潤能が亢進し (Coppé et al. 2008)、ヌードマウスへのがん細胞の移植実験では、腫瘍の成長が大きく促進されるということが報告された (Liu et al. 2007)。また、卵巣がん周囲の線維芽細胞、いわゆるCAF (Cancer-associated fibroblast) で細胞老化やSASPが起こっており、それが腫瘍の進展に関与するという報告もある (Yang et al. 2006)。

SASP因子が周囲の細胞の細胞老化を促すのか、逆に腫瘍促進的に働くのかというスイッチングは周囲の細胞のp53のステータスにより決まるという報告がなされた (Pribluda et al. 2013)。CKI α (Csnk1a1) のノックアウトマウスを用いた大腸がんの発症モデルでは、細胞老化を起こした細胞の周りの細胞においてp53やp21が正常であれば、細胞老化による分泌因子により細胞老化が誘導され、p53が変異しておれば、発がんを促進することが示された。すなわちSASPによるパラクライン作用において、がん抑制機構である細胞老化誘導か、がん促進かのスイッチングをしているのは、SASP因子が作

用する周囲の細胞のp53の状況によることが示唆された (Pribluda et al. 2013)。

肥満誘導性肝がんの肝星細胞でSASPが生じる

生体において、SASPがどのような役割を担っているのかを証明していくことが重要であるが、我々は、肥満に伴い肝がんが発症するマウスモデルで、肝がん促進機構としてがん微小環境におけるSASPが、がん促進に重要な役割を担っていることを最近見出し報告した (Yoshimoto et al. 2013)。多くのヒトのがんで高頻度に変異が見つかるがん遺伝子のHras遺伝子に活性化型変異を起こすことが知られている化学発がん物質DMBA (7,12-dimethylbenz(α)anthracene) を生後4~5日の乳児期のマウスの背中の皮膚に一回塗布することで、全身性にoncogenicなシグナルを活性化させ、さらにこれらのマウスを高脂肪食摂取群と普通食摂取群に分け、どのようながんが肥満により促進されるのか30週後に調べた。すると、高脂肪食摂取群のすべてのマウスの肝臓には肝がん (hepatocellular carcinoma : HCC) が形成され、一方、DMBA塗布後普通食を与えた肥満していないマウスでは肝がんの発症が同じ時点では全く見られなかった (Figure 5)。このことから、肥満により肝がん形成が促進されることが明らかになった。このとき、我々が以前開発していた細胞老化反応を発光シグナルによりインビボ・イメージングできるマウス (Ohtani et al. 2007) を用いて同様の実験をおこなったところ、肥満にともなう肝がん部に強いシグナルが検出され、がん部で細胞老化反応が起こっていることが明らかになった。

次に、肝臓のどの細胞で細胞老化が誘導されているかを調べるため、免疫組織化学染色法を用いて検討を行ったところ、肥満したマウスの肝臓のがん部では、間質の細胞の一つである肝星細胞において、細胞老化の原因であるDNA損傷の蓄積や、p21^{Waf1/Cip1}やp16^{Ink4a}の発現が認められ、細胞老化が誘導されていることが確認できた。さらに細胞老化を起こした肝星細胞はSASP因子として知られる様々な炎症性サイトカインやケモカインも産生していることが確認された (Figure 6)。

SASP因子は肥満誘導性肝癌形成に促進的に働く

我々は肝星細胞の細胞老化に伴うSASP因子が肝がんの形成に促進的ながん微小環境を形成しているのではないかと考え、次に、肝星細胞から分泌され

Figure 5. 肥満により肝がんが促進される

新生仔マウスにDMBAを1回塗布し、その後高脂肪食を30週間食べさせると、30週後には肝がんの発症が認められた。一方普通食摂取マウスには30週の時点で肝がんの発症は認めなかった。

Figure 6. 肝星細胞における細胞老化とSASP

肥満により誘導された肝がんの腫瘍部には脂質の蓄積と、細胞老化、SASPを起こした肝星細胞が認められた。

るSASP因子の産生を抑制することを試みた。しかし、多くの種類のSASP因子が老化した肝星細胞から分泌されており、その因子をひとつずつ解析するのは困難である。そこで我々はSASP因子のなかでも発現が有意に高まっており、かつ、他の様々なSASP因子の発現を制御する上流因子として働く炎

症性サイトカイン、IL-1 β に着目した。IL-1 β をコードする遺伝子を欠損したノックアウトマウスを用いて検討したところ、IL-1 β 欠損マウスでは、野生型マウスと比較して肥満による肝星細胞の細胞老化は同程度誘導されているものの、SASP因子の産生が起こっておらず、肝がんの発症率も著しく低下する

ことがわかった (Yoshimoto et al. 2013)。

肥満による増加した腸内細菌の代謝物、 デオキシコール酸が肝星細胞の細胞老化の 誘導と肝がんの発症を促進する

肥満によりどのようなメカニズムで肝星細胞が細胞老化を起こすのであろうか？我々の実験系では前述したように、IL-1 β 欠損マウスでは肝がんの発症が抑制されたが、IL-1 β 欠損マウスにおいても、脂肪肝の程度や肝炎の指標となる血中ALTやASTの値は野生型マウスとほとんど変わらなかった。つまり、肥満に伴う脂肪肝以外のファクターが肝癌を促進した可能性があると考えられた。そこで、我々は腸内細菌叢の変化に注目した。ヒトにおいては肥満に伴って腸内細菌叢が大きく変化することが報告されている (Ley et al. 2006)。そこで、4種類の抗生物質を混合した抗生剤を肥満マウスに投与してグラム陰性菌とグラム陽性菌の両方の腸内細菌を除去したところ、肥満による肝がんの発症率が著しく低下し、同時に細胞老化とSASPを起こした肝星細胞の割合も著しく低下していた。この実験結果は腸内細菌が肥満による肝がん形成に重要な役割を担っていることを強く示唆している。次に、肥満マウスの腸内細菌叢の変化を明らかにするため、次世代シーケンサーを用いて、マウスの糞便に含まれる細菌の16S rRNA遺伝子の配列を解析した。その結果、普通食を摂取したマウスの腸内細菌では、グラム陽性菌とグラム陰性菌の割合はそれぞれ50%程度とほぼ等しかったのに対し、高脂肪食を摂取して肥満したマウスではグラム陽性菌が90%以上を占めるほど増加していることが明らかになった。特に、普通食摂取マウスではほとんど検出されなかったクロストリジウムクラスター XIやX IVaに分類される菌（グラム陽性菌）が高脂肪食摂取マウスで増加していることが明らかになった。そこで、グラム陽性菌のみを特異的に除去する抗生剤のバンコマイシンを肥満マウスに投与したところ、4剤の抗生剤投与の時と同等に、肥満による肝がんの形成や、肝星細胞の細胞老化及びSASPの誘導が著しく低下していた。これらの結果から、肥満により増加する腸内細菌のうちグラム陽性菌の代謝産物、または毒素が腸肝循環を介して肝臓に作用し、肝星細胞の細胞老化を誘導して肝がん形成を促進するのではないかと考えた。

そこで、肥満による肝がん促進物質を同定するため、普通食マウスと高脂肪食マウスの血清を用いて

メタボローム解析を行った結果、2次胆汁酸の一つであるデオキシコール酸 (Deoxycholic acid : DCA) が肥満マウスの血中で数倍増加していることを見出した。生体内でコレステロールから産生される1次胆汁酸は脂肪の消化に重要であるが、1次胆汁酸は一部の腸内細菌が有する7 α -dehydroxylation活性によって2次胆汁酸に代謝されることが知られている。さらに、培養細胞を用いた研究ではデオキシコール酸はROSを介して細胞にDNAダメージを誘導し (Payne et al. 2007)、発がんを促進する可能性があることが報告されている。これらのことから、肥満による肝がんの形成においてデオキシコール酸が重要な役割を担っている可能性が高いと考えた。また、腫瘍形成が抑制されたバンコマイシン投与マウスでは、興味深いことに、血中のデオキシコール酸濃度が著しく低下しており、やはり、肥満で増加したグラム陽性菌がデオキシコール酸を主に産生していると考えられた。そこで次にデオキシコール酸産生を阻害するDFAIII (difructose anhydride III) や、胆汁酸の体外への排出を促進するUDCA (ursodeoxycholic acid) を投与して体内のデオキシコール酸濃度を低下させた肥満マウスでは、肝がんの発症率及び肝星細胞の細胞老化が著しく低下していた。逆に、肥満マウスに抗生物質を投

Figure 7. デオキシコール酸が肥満による肝がんを促進する

抗生剤 (Ampicillin, Neomycin, Vancomycin, Metronidazole の4剤) を投与し腸内細菌を除去した状態に、2次胆汁酸であるデオキシコール酸を経口投与すると、肝がんの形成が促進される。このことからデオキシコール酸には肝がん促進作用があることが明らかになった。

Figure 8. 肥満によって変化する腸内細菌の代謝産物が肝がんを促進する

肥満により腸内細菌叢が変化し、2次胆汁酸産生菌が増加する。それにより一次胆汁酸のコール酸が代謝され、2次胆汁酸のデオキシコール酸の濃度が上昇する。腸内のデオキシコール酸は約90%以上が吸収され、門脈を介して肝臓に達し、肝臓の間質に存在する肝星細胞の細胞老化を誘発し、それによって分泌されたSASP因子が肝がんを促進する。

与し腸内細菌を除去すると同時に、デオキシコール酸を経口投与してみたところ、抗生剤投与により低下した肝がん発症率が、デオキシコール酸投与により著しく回復し (Figure 7)、同時に腫瘍部では肝星細胞の細胞老化とSASPも誘導されていた。これらの結果から、肥満により増加した腸内細菌が産生する2次胆汁酸のひとつデオキシコール酸が、腸管循環を介して肝臓に運ばれ肝星細胞に細胞老化及びSASPを誘導することで肝がんの形成を促進していることが明らかになった (Figure 8)。また同様の結果が、普通食を過剰に摂取して肥満する遺伝的肥満マウス (ob/obマウス) を用いた実験でも確認されたことから、今回我々が明らかにしたメカニズムは単に、高脂肪食による影響ではなく肥満という病態による影響であると考えられる。

ヒトのNASH肝臓症例でも同様のメカニズムが働いている

前述してきた肝星細胞の細胞老化とSASPによる肝がん促進機構が、マウスだけでなくヒトにおいても起こりうるメカニズムかどうかを調べるため、肥満に伴うNASH (non-alcoholic steatohepatitis) を素地とする肝がん患者の組織を用いて検討した。NASH肝臓症例のうち、肝硬変による線維化があ

まり見られず、肝がん細胞内に著明な脂肪蓄積を伴うNASH肝臓 (NASH肝臓症例の約3割程度) 組織において、我々のマウスモデルと同様、肝星細胞に細胞老化の誘導と、SASPを介した炎症性サイトカインの産生が生じていた。また、デオキシコール酸についても、ヒトでも高脂肪性の食事を摂取したり、動物性の食事をとると、数日後には糞便中のデオキシコール酸濃度が上昇することが報告されている (Rafter et al. 1987, David et al. 2014)。これらのことから、ヒトにおいても脂肪肝を素地とする一部のNASH肝がんの形成に腸内細菌によるデオキシコール酸産生増加と肝星細胞のSASPの誘導が働いている可能性が強く示唆された。

おわりに

以上述べてきたように、肥満によって腸内細菌が産生する2次胆汁酸のひとつであるデオキシコール酸の量が増え、門脈を経由して肝臓の肝星細胞に作用し、SASPを誘導することで周囲の肝実質細胞のがん化を促進するという、肥満による肝がんの発症機構の一端が明らかになった。しかし、DMBA処理した普通食マウスにデオキシコール酸を単独で投与しても少なくとも、30週では肝がんは形成されなかったことから、デオキシコール酸に加え肥満と

いう病態そのものにも肝がんの発症を促進する別の要因が存在していることが予想される。そこで、今後は肝臓に蓄積した脂質の機能にも着目していきたいと考えている。また、この研究から腸内細菌叢の変化の重要性が示された。ヒトの腸には500種類以上、 10^{14} 個程度の腸内細菌が存在するといわれている。腸内細菌は宿主が代謝できない物質を代謝したり、宿主の免疫システムを調節して共生している。近年、腸内細菌を単離できなくても、そのゲノム配列から腸内細菌の機能を予測するメタゲノム研究が進んでいる。特に肝臓は腸肝循環を介して腸内細菌の影響を受けやすい臓器であると考えられることから、今後も腸内細菌の代謝物による宿主の病態にも着目していきたいと考えている。

参考文献

- Acosta JC, O'Loughlen A, Banito A, Guijarro MV, Augert A, Raguz S, Fumagalli M, Da Costa M, Brown C, Popov N, Takatsu Y, Melamed J, d'Adda di Fagagna F, Bernard D, Hernando E, Gil J (2008) Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133, 1006–1018.
- Acosta JC, Banito A, Wuestefeld T, Georgilis A, Janich P, Morton JP, Athineos D, Kang TW, Lasitschka F, Andrulis M, Pascual G, Morris KJ, Khan S, Jin H, Dharmalingam G, Snijders AP, Carroll T, Capper D, Pritchard C, Inman GJ, Longerich T, Sansom OJ, Benitah SA, Zender L, Gil J (2013) A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat. Cell Biol.* 15: 978–990.
- Collado M, Blasco MA, Serrano M (2007) Cellular senescence in cancer and aging. *Cell* 130: 223–233.
- Coppé JP, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, Nelson PS, Desprez PY and Campisi J (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 6, 2853–2868.
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, Turnbaugh PJ (2014) Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505, 559–563.
- Gil J and Peters G (2006) Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: all for one or one for all. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 667–677.
- Hayflick L and Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 25: 585–621.
- Jun JI and Lau LF (2010) The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nat. Cell Biol.* 12, 676–685.
- Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J, Miething C, Yee H, Zender L and Lowe SW (2008) Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* 134, 657–667.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S and Gordon JI (2006) Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444, 1022–1023.
- Liu D and Hornsby PJ (2007) Senescent human fibroblasts increase the early growth of xenograft tumors via matrix metalloproteinase secretion. *Cancer Res.* 67: 3117–3126.
- Ohtani N, Imamura Y, Yamakoshi K, Hirota F, Nakayama R, Kubo Y, Ishimaru N, Takahashi A, Hirao A, Shimizu T, Mann DJ, Saya H, Hayashi Y, Arase S, Matsumoto M, Kazuki N, Hara E (2007) Visualizing the dynamics of p21 (Waf1/Cip1) cyclin-dependent kinase inhibitor expression in living animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 15034–15039.
- Ohtani N and Hara E (2013) Roles and mechanisms of cellular senescence in regulation of tissue homeostasis. *Cancer Sci.* 104: 525–530.
- Payne CM, Weber C, Crowley-Skillicorn C, Dvorak K, Bernstein H, Bernstein C, Holubec H, Dvorakova B, Garewal H (2007) Deoxycholate induces mitochondrial oxidative stress and activates NF-kappaB through multiple mechanisms in HCT-116 colon epithelial cells. *Carcinogenesis*, 28: 215–222.
- Pribluda A, Elyada E, Wiener Z, Hamza H, Goldstein RE, Biton M, Burstain I, Morgenstern Y, Brachya G, Billauer H, Biton S, Snir-Alkalay I, Vucic D, Schlereth K, Mernberger M, Stiewe T, Oren M, Alitalo K, Pikarsky E and Ben-Neriah Y (2013) A senescence-inflammatory switch from cancer-inhibitory to cancer-promoting mechanism. *Cancer Cell* 24: 242–256.
- Rafter JJ, Child P, Anderson AM, Alder R, Eng V and Bruce WR (1987) Cellular toxicity of fecal water depends on diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 559–563.
- Rodier F and Campisi J (2011) Four faces of cellular senescence. *J. Cell Biol.* 192: 547–556.
- Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D and Lowe SW. (1997) Oncogenic ras provokes premature cell

senescence associated with accumulation of p53 and p16^{INK4a}. Cell 88: 593–602.

Sharpless NE and DePinho RA (2005) Cancer: crime and punishment. Nature 436: 636–637.

Yamakoshi K, Takahashi A, Hirota F, Nakayama R, Ishimaru N, Kubo Y, Mann DJ, Ohmura M, Hirao A, Saya H, Arase S, Hayashi Y, Nakao K, Matsumoto M, Ohtani N and Hara E (2009) Real-time in vivo imaging of p16Ink4a reveals cross talk with p53. J. Cell Biol. 186:393–407.

Yang G, Rosen DG, Zhang Z, Bast RC Jr, Mills GB, Colacino JA, Mercado-Urbe I, Liu J (2006) The chemokine growth-regulated oncogene 1 (Gro-1) links RAS signaling to the senescence of stromal fibroblasts and ovarian tumorigenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103: 16472–16477.

Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E and Ohtani N (2013) Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. Nature 499: 97–101.

PROFILE

大谷直子 東京理科大学・理工学部・応用生物科学科、独立行政法人科学技術振興機構さきがけ

〔経歴〕

- 1988年3月 京都府立医科大学 医学部医学科 卒業
- 1988年6月 JR大阪鉄道病院 内科臨床研修（消化器内科医員）
- 1995年3月 京都府立医科大学大学院 医学研究科 博士課程修了 医学博士
- 1995年4月 京都府立医科大学 医学部医学科 公衆衛生学教室助手
- 1998年12月 英国 University of Manchester, Paterson Institute for Cancer Research Cell cycle group, Post-doctoral fellow
- 2003年8月 徳島大学ゲノム機能研究センター 講師（2005年2月より助教授）
- 2008年1月 公益財団法人がん研究会 がん研究所がん生物部 主任研究員
- 2011年4月～独立行政法人 科学技術振興機構 さきがけ研究者 兼任
- 2014年4月～ 東京理科大学 理工学部 応用生物科学科 教授（現在に至る）

〔専門〕

専門は分子腫瘍学。特にイギリスに留学以降、がん抑制機構としての「細胞老化」に着目した研究を行い、最近では個体における細胞老化と細胞老化による炎症の分子メカニズムの解明に取り組んでいる。

〔E-mail〕 naoko.ohtani@rs.tus.ac.jp

**The Roles and Mechanisms of Cellular Senescence:
Obesity-induced Gut Microbial Metabolite Promotes
Liver Cancer through Senescence Secretome**

Naoko Ohtani

Department of Applied Biological Science, Faculty of Science
and Technology, Tokyo University of Science,
2641 Yamazakik Noda-shi, Chiba Japan

Abstract: Cellular senescence is known to be the state of permanent cell cycle arrest. It is induced by a variety of potentially oncogenic stimuli and has therefore long been believed to suppress tumorigenesis, acting as a guardian of tissue homeostasis. However, recent evidences revealed that senescent cells also promote the secretion of inflammatory cytokines, chemokines, growth factors and matrix remodelling factors. These factors can alter the local tissue environment and contribute to some beneficial effects, such as tissue repair, but also to deleterious effects, such as chronic inflammation and cancer development, depending on the biological context. This newly identified senescence phenotype, termed the senescence-associated secretory phenotype (SASP), can be induced by DNA damage that promotes the senescence cell cycle arrest. These senescence-associated secreted factors are involved in homeostatic disorders, such as cancer. Our recent study focused on obesity-associated pathological conditions, and particularly on the link between obesity and liver cancer. We found that the obesity-induced gut microbial metabolite triggered the senescence and SASP of hepatic stellate cells through enterohepatic circulation that contribute to the formation of tumor-promoting microenvironments. These results suggest the role of the senescence-associated secretome in cancer-associated microenvironments in obesity-associated liver cancer.

Key words: *Cellular senescence, senescence-associated secretory phenotype (SASP), obesity, Liver cancer, intestinal microbiota, deoxycholic acid*