

細胞競合を制御する老化細胞分泌因子の同定

公益財団法人がん研究会 がん研究所 細胞老化プロジェクト

高橋 暁子

背景と目的

正常細胞がもつがん抑制機構として、細胞老化と細胞競合はそれぞれ重要な機能を果たしていることが知られている¹⁻³⁾。どちらも細胞に加わるストレスによっておこる Ras や Src などのがん遺伝子の変異が引き金になりうることから、細胞老化と細胞競合は生体内の同一組織で同時におこっている可能性が高い。一方で、老化細胞は生体内で長期間生存し続けることから、加齢とともに体内に老化細胞が蓄積してゆくことも明らかとなっている⁴⁾。老化細胞は持続的な DNA 損傷応答によってクロマチン構造が変化しており、炎症性サイトカイン・ケモカイン・マトリックス分解酵素や増殖因子のような様々な炎症性蛋白質の遺伝子発現が活性化している。そして、老化細胞はそれらの炎症性蛋白質を細胞外へと分泌することが知られており、このような細胞老化の表現型は SASP (Senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれている⁵⁾。老化細胞から分泌された SASP 因子は周囲の組織に慢性的な炎症を引き起こすことから、あらゆる加齢性疾患の要因となっている可能性が示唆されている⁵⁾。我々はこれまでに老化細胞で SASP が起こる分子メカニズムの解析を行い、SASP 因子のエピジェネティックな遺伝子発現制御機構や⁶⁾、細胞質 DNA センサーの活性化による肝がん発症機構を報告してきた⁷⁾。さらに最近では、老化細胞においては炎症性蛋白質だけでなく、細胞外分泌膜小胞の一種であるエクソソームの分泌も顕著に亢進していることを見出し⁸⁾、老化細胞由来のエクソソームはがん細胞の増殖を促進する SASP として機能することを報告してきた⁹⁾。老化細胞が分泌する SASP 因子は細胞競合にも関与する可能性が示唆されているが、細胞競合の分子機構、特に異なる細胞集団が存在する場合にどのような細胞間シグナルで生存の可否や細胞集団間の優劣が決定するのかといった細胞運命決定機構についてはその詳細なメカニズムは殆ど知られていない。がんは加齢に伴いその罹患率が上昇することから老化細胞分泌因子 (SASP 因子) が、もう一つのがん抑制機構である細胞競合に何らかの影響を及ぼすのではないかと考えた。そこで、我々は老化細胞が分泌する SASP 因子の中で細胞競合を制御する分子を特定し、その分子メカニズムを解析することで細胞競合による細胞運命決定機構を明らかにすることを目的として研究を行った。

結果と考察

ヒト胎児由来正常線維芽細胞株 (TIG-3、IMR90) に分裂寿命による細胞老化を誘導し、若い細胞と老化細胞の培養上清を用いて MDCK 細胞 (イヌ腎臓尿細管上皮由来細胞株) を培養した後に、MDCK 親株細胞と MDCK-RasV12-GFP 細胞を 50 対 1 の割合でコラーゲン上にまきテトラサイクリン誘導性に変異型 Ras を活性化し細胞競合アッセイを行った¹⁰⁾。その結果、老化細胞の培養上清を添加した MDCK 細胞では、培養上清無添加もしくは若い細胞の培養上清を添加した細胞に比べて明らかに上皮層から逸脱した Apical Extrusion をおこした細胞の割合が減少していた。さらに、ヒト由来正常線維芽細胞に活性化型 Ras 誘導性の細胞老化や X 線誘導性の細胞老化を誘導した細胞の培養上清を用いた場合にも、分裂寿命により細胞老化の場合と同様に Ras 変異細胞の Apical Extrusion の割合が減少していた。つまり、老化細胞が分泌する SASP 因子は細胞競合を抑制すると考えられた。次に細胞競合抑制に関わる責任因子を同定するために、ヒト正常

線維芽細胞に活性化型 Ras 誘導性の細胞老化や X 線誘導性の細胞老化を誘導した細胞の培養上清を用いて、サイトカインアレイ解析を行った。その結果、2 種類の老化誘導細胞で共通して分泌が増加していたサイトカイン (SASP 因子) を 10 種類同定した。そこで、得られた候補因子のリコンビナント蛋白質を培養液中に添加することで、細胞競合がおこる様子を経時的に観察したところ、10 種類の SASP 因子のうちの 1 種類 (蛋白質 X) が細胞競合を阻害することを見出した。現在はタモキシフェン誘導性に生体内で変異型 Ras を活性化することのできる細胞競合モデルマウス¹¹⁾を用いて *in vivo* で蛋白質 X を阻害することで細胞老化が細胞競合へ与える影響を検証している。

細胞老化や細胞競合の分子機構を明らかにしてそれを深く理解することは、将来的にこれらががん抑制機構を標的とした治療戦略を立てる上で、非常に重要なことである。本研究の結果から、生体に元来備わっている細胞競合という異常細胞除去メカニズムの機能が老化によって低下することで、変異を持ったがん細胞が生き残ってしまう危険性が提唱された。さらに、本研究から老化細胞が分泌する SASP 因子のうちで細胞競合を制御する蛋白質を特定することができたので、今後はその分子メカニズムを明らかにすることで、加齢に伴いがんの罹患率が上昇する理由の一端を明らかにすることを目指したい。

謝辞

本研究は、アステラス病態代謝研究会による助成金支援を受け実施されました。本研究をご支援いただいた公益財団法人アステラス病態代謝研究会に深く感謝申し上げます。

参考文献

1. Takahashi A *et al.*, Mitogenic signalling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence. *Nat Cell Biol.* 2006;8(11):1291-1297.
2. Imai Y *et al.*, Crosstalk between the Rb pathway and AKT signaling forms a quiescence-senescence switch. *Cell Rep.* 2014;7(1):194-207.
3. Kon S *et al.*, Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes. *Nat Cell Biol.* 2017;8(11):1291-1297.
4. Yamakoshi K *et al.*, Real-time *in vivo* imaging of p16Ink4a reveals cross talk with p53. *J Cell Biol.* 2009;186(3):393-407.
5. Childs BG *et al.*, Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;16(10):718-735.
6. Takahashi A *et al.*, DNA damage signaling triggers degradation of histone methyltransferases through APC/C(Cdh1) in senescent cells. *Mol Cell.* 2012;45(1):123-131.
7. Takahashi A *et al.*, Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nat Commun.* 2018;9(1):1249.
8. Takahashi A *et al.*, Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. *Nat Commun.* 2017;8:15287.
9. Takasugi M *et al.*, Small extracellular vesicles secreted from senescent cells promote cancer cell proliferation through EphA2. *Nat Commun.* 2017;8:15729.
10. Hogan *et al.*, Characterization of the interface between normal and transformed epithelial cells. *Nature Cell Biology*, 2009;11(4):460-467.
11. Sasaki *et al.*, Obesity Suppresses Cell-Competition-Mediated Apical Elimination of RasV12-Transformed Cells from Epithelial Tissues. *Cell Rep.* 2018;23(4):974-982.