

細胞老化の酸化ストレス応答性：Bach1 による指揮

五十嵐 和彦, 土肥 由裕

細胞老化は、DNA 損傷などに応答して誘導され、障害を受けた細胞の増殖を不可逆的に停止させ、がん化を抑制する。一方、幹細胞等の老化は臓器組織の恒常性を破綻させることから、細胞老化は個体レベルでの老化（加齢変化）にも関わる可能性がある。細胞老化は単なる細胞機能不全ではなく、がん抑制因子 p53 や pRb により遺伝子レベルでプログラムされる細胞応答の一形態である。そのプログラム始動のトリガーとして酸化ストレスが注目されつつある。転写抑制因子 Bach1 は Nrf2 の競合因子として酸化ストレス応答を抑制するとともに、p53 やヒストン脱アセチル化酵素 HDAC1 と複合体を形成し、p53 標的遺伝子に結合し、ヒストンの脱アセチル化を促進し p53 標的遺伝子の転写を抑制する。そして、酸化ストレス応答性の細胞老化を抑える。Bach1 自体の活性は酸化ストレスやヘムにより制御されることから、Bach1 は酸化ストレス応答や代謝活動と細胞老化のクロストーク機構を成すとともに、細胞老化プログラムの調節性を規定すると考えられる。

はじめに

酸化ストレス応答は、熱ショック応答などにも広く生物に備わっている遺伝子応答系の一つである。この応答は、活性酸素種 (ROS) を除去する酵素群などの誘導を主軸とするが、ヒトを含む高等生物ではこの基本システムに加え、アポトーシスや細胞老化などの制御機構ともクロストークするネットワークを形成している。ここでは、高等生物に特有の転写因子 Bach1 (BTB and CNC homology 1) に焦点をあて、酸化ストレス応答と細胞老化のクロストーク機構を紹介し、病態研究に向けて問題点などを討論したい。

1. 酸化ストレス応答としての細胞老化

1) 酸化ストレス応答の基本型

ミトコンドリア電子伝達系でのエネルギー補足には、分

子状酸素の 4 電子還元が伴うが、その中間産物として反応性に富むスーパーオキシドが生じる。スーパーオキシドは過酸化水素やヒドロキシラジカルなどにも代謝され、これら活性酸素種は生体の高分子と反応し、その機能喪失などに由来する様々な障害、すなわち、細胞から個体に至る各レベルでの“劣化”をもたらす。このような酸化ストレスは酸素の利用に必然的に伴うものと言える。酸化ストレスに対して細胞は防御的に作用する遺伝子群を誘導することにより、活性酸素種を除去しつつ、生じた障害の復旧にあたる。高等生物で重要な制御系として FoxO 系¹⁾や本特集号でも伊東らにより取り上げられている Keap1-Nrf2 系^{2,3)}がある (図 1)。FoxO (forkhead box O) は DNA 修復因子やスーパーオキシドジスムターゼなどを誘導し、恒常性を保つ¹⁾。Nrf2 は、ラジカルスカベンジャーを生成するヘム分解酵素 (heme oxygenase-1, HO-1)、鉄貯蔵タンパク質フェリチン、グルタチオン合成酵素など実に様々な遺伝子群を誘導し、細胞を酸化ストレスから防護し、細胞をもとの健康な状態に戻す^{2,3)}。また、このような防御が十分に行われず障害が蓄積した場合には、アポトーシスが誘導され障害細胞の除去が行われる。

2) 細胞老化

アポトーシスに加え酸化ストレスに対するもう一つの応

東北大学大学院医学系研究科 (〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1)

Transcriptional regulation of cellular senescence
Kazuhiko Igarashi and Yoshihiro Dohi (Department of Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Medicine, Seiryomachi 2-1, Sendai 980-8575, Japan)

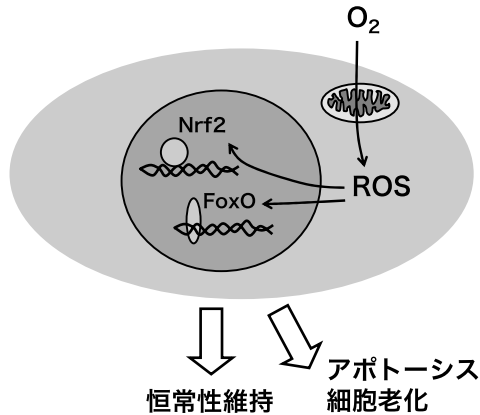


図1 酸化ストレス応答システム

Nrf2とFoxO1などが酸化ストレス応答を制御する。他に、NF- κ BやJunといった転写因子も酸化ストレス応答に関与する。

答として、近年、不可逆的な細胞老化 (cellular senescence) が注目されている。Hayflickらは、ヒト線維芽細胞を用いた実験により、細胞の増殖に限界点があり、一定数の細胞分裂を経ると増殖が停止しそのままの状態生き続ける現象を観察し⁴⁾、これが細胞老化という概念の源流となった。細胞老化は、不可逆的な増殖停止の一種であり、損傷著しい細胞が増殖するのを防ぐ機構と位置づけられている。細胞老化はテロメアの短縮⁵⁾、DNA損傷⁶⁾、活性型がん遺伝子 (特に *Ras*^{V12})⁷⁾ などにより誘導されるが、酸化ストレスも重要な一因であることが判明しつつある⁸⁾。老化した細胞は増殖刺激応答能を失い G_1 あるいは G_2 期に停止しており、扁平で広がった細胞形態、SA β ガラクトシダーゼ (senescence associated β galactosidase) 活性の上昇、DNA修復反応の実行を反映するヒストンH2AXのリン酸化 (γ -H2AX)、ヘテロクロマチン構造の増加 (SAHF, senescence associated heterochromatin foci) などの特徴を示す^{9,10)}。細胞老化は、修復能を超えるような障害を受けた細胞が増殖し、がん化するのを防ぐ機構と考えられる。実際、ヒトがん検体の解析でも増殖能の低い良性腫瘍ではしばしば細胞老化が観察されることから¹¹⁾、細胞老化はがん抑制機構の一つとして位置づけられる。また、細胞老化ががん抑制因子 p53 と pRb に依存していること^{12~14)} も、そのがん抑制機構としての意義を支持する。

細胞老化の誘導因子として酸化ストレスが関わることは、例えば培養細胞を過酸化水素で処理すると急速に細胞老化へ突入することから示唆されていた¹⁵⁾。また、細胞培養を低酸素下で行うという実験からも明確に示された。通常の細胞培養は20%酸素下で行われるが、Campisiらは20%酸素と3%酸素下でマウス線維芽細胞 (MEF, mouse embryonic fibroblast) の老化を比較した⁸⁾。すると20%酸素下では数週間後には細胞老化へと突入するのに対して、3%酸素下では細胞老化は観察されず、細胞が活発に増殖

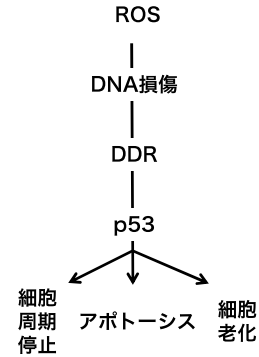


図2 酸化ストレス応答における p53 の作用

活性酸素種 ROS は DNA 損傷の主因の一つとなる。DNA 損傷により DNA 損傷応答 (DDR, DNA damage response) が発動し、ATM により p53 がリン酸化され、安定化する。p53 は DNA 損傷の程度に応じて細胞周期停止、アポトーシス、細胞老化などを誘導する。この仕分け機構については不明な点が多い。

を続けることが明らかになった。20%酸素下ではDNA損傷がより多く蓄積し、それに伴い p53 が活性化していたことから、酸素に由来する酸化ストレス、そしてDNA損傷がMEFの細胞老化の主因であることが提唱された⁸⁾ (図2)。20%酸素という培養条件は生体内と比較すると過酸素状態とも考えられ、最近では造血幹細胞などを3%酸素下で培養し細胞老化を防ぐ試みも進められている¹⁶⁾。

細胞老化を制御するシグナルカスケードとして、DNA損傷応答 (DNA damage response, DDR) からがん抑制因子 p53 へ至る経路がある (図2)。p53 は通常、ユビキチン化 E3 リガーゼ Mdm2 により認識され、ポリユビキチン化を受け分解されている^{17,18)}。DNA 損傷応答ではタンパク質リン酸化酵素 ATM (ataxia teleangiectasia mutated) や CHK1 (checkpoint kinase 1) が活性化され、p53 をリン酸化する^{19~21)}。すると Mdm2 の結合が抑制され、p53 は蓄積し、標的遺伝子に結合してそれらの発現を調節する。p53 は転写活性化にも抑制にも作用するが、多くの場合は活性化因子として機能していると考えられる。酸化ストレスによりDNA損傷が生じ、これがDDRを介してp53を活性化し、細胞老化を誘導すると考えられる⁸⁾。また、酸化ストレスに反応してがん抑制因子 p19^{ARF} の発現が上昇し、これが p53 と競合して Mdm2 に結合し、p53 を安定化するという経路も動くようだ。

2. Bach1 による酸化ストレス応答遺伝子抑制とその解除機構

1) MARE 依存性遺伝子制御

Bach1 は、がん遺伝子産物 Maf ファミリーと結合する因子として同定された²²⁾。進化的には赤血球系転写因子 NF-E2 のサブユニット p45 や先に述べた Nrf2 などと同様に、塩基性ロイシンジッパー (basic-leucine zipper, bZip) 構造を有し、ロイシンジッパーで Maf ファミリー (中でも、

MafK, MafF, MafG といった小 Maf) とヘテロ二量体を形成し, Maf recognition element (MARE) に結合する (図 3). p45 や Nrf2 の Maf ヘテロ二量体は MARE に結合すると転写を活性化するのに対して^{23,24)}, Bach1-Maf ヘテロ二量体は逆に転写を抑制する²²⁾. Bach1 の発現は極めて広汎であり, 赤血球系ではグロビン遺伝子の MARE に結合し, 未分化の状態ではグロビン遺伝子の発現を抑制する²⁵⁾. 分化とともに Bach1 は不活性化され, 代わりに Maf-p45 二量体

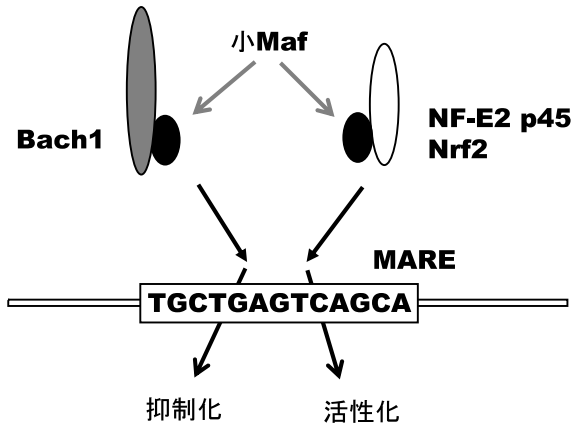


図 3 Maf 二量体による競合的な転写制御

MafF, MafG, MafK などの小 Maf 因子はヘテロ二量体のパートナーに依存して, 抑制にも活性化にも作用する. パートナー分子の量的質的制御のバランスにより, 標的遺伝子群の発現が変動する. Bach1 のような抑制用のパートナー分子が存在する理由としては, クロマチンを準活性化状態に保ち迅速な誘導を可能とすること, 遺伝子ごとの制御を変えること, などが考えられる.

(NF-E2) が結合し, グロビン遺伝子を誘導する²⁵⁻²⁷⁾. 一方, 赤血球系以外の細胞では, HO-1 やフェリチンなど, 酸化ストレス応答系に属する遺伝子上のエンハンサーに含まれる MARE (この場合, antioxidant responsive element, ARE などとも呼称される) に結合し, それらの転写を抑制する²⁸⁻³¹⁾. 酸化ストレス時には Bach1 が不活性化され, 代わりに Nrf2-Maf 二量体が結合し, これら遺伝子群の転写を活性化する.

2) Bach1 の制御機構

Bach1 の活性は, ヘム結合, およびシステイン残基の酸化還元により制御される. 様々なヘム結合タンパク質で, Cys-Pro を骨格とする CP モチーフがヘムの 5 配位結合に関わるが, Bach1 も CP モチーフを 4 個有し, それぞれがヘムと結合する^{28,32)} (図 4). さらに, Bach1 には, CP モチーフ以外の Cys 残基と窒素性側鎖 (おそらく His) を有する残基とがヘムに結合した 6 配位結合も存在する³²⁾. 試験管内では, 1 分子の Bach1 あたり 5 分子前後のヘムが結合し得る. CP モチーフを介したヘム結合は DNA 結合活性を阻害するとともに²⁸⁾, 近傍の核外排出シグナルを活性化して Exportin 1 依存性の核外移行を促進する³³⁾. また, ヘムは Bach1 のユビキチン化 (E3 リガーゼとして HOIL-1 が関与) とプロテアソーム依存性の分解も促進する³⁴⁾. 一方, 6 配位ヘム結合の制御上の意義は現時点では不明であるが, ヘムの軸配位子の変換に伴う構造変化により活性制御されていることも予想される. Bach1 の細胞内分布は, ヘムだけではなくチオール基の酸化により制御される. 培養細胞をチオール基の酸化剤であるジアミドで処理する

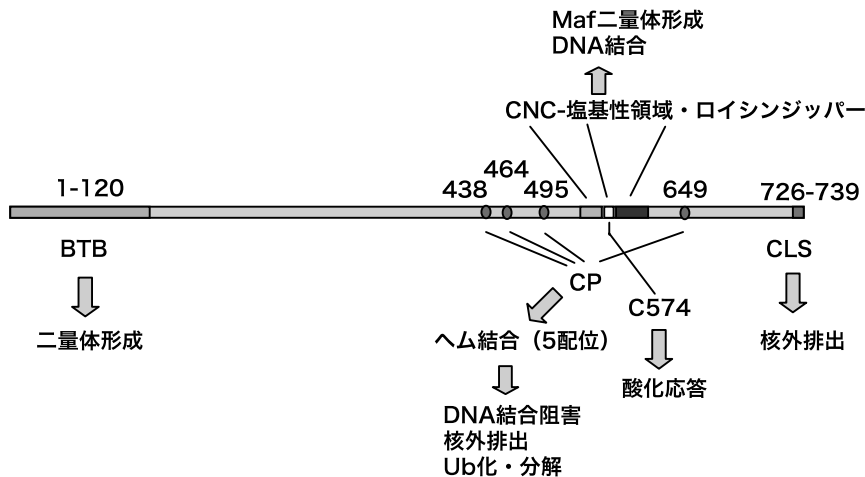


図 4 Bach1 の構造と制御

Bach1 はロイシンジッパーで小 Maf と二量体をつくり, それぞれの塩基性領域で MARE を認識して DNA に結合する. 同時に BTB ドメインを介したホモ二量体形成によりヘテロ四量体を形成し, 複数の MARE を有する標的に協調的に結合したり DNA ループを形成する. 塩基性領域は核移行シグナルとして, CLS は核外排出シグナルとして作用する. 4 個の CP モチーフはそれぞれヘムの 5 配位結合に関わり, ヘム応答性に DNA 結合, 核外排出, 分解を制御する. Cys-574 の酸化も Bach1 の核外排出を促進する.

と、Bach1は核から細胞質へと分布を変える。ところが、Cys-574を変異するとこの応答は減弱することから、Cys-574の酸化により細胞質への移行が誘導されるものと考えられる³⁵⁾。さらに、Bach1のC末端には第二の核外排出シグナルがある³⁶⁾。このシグナル配列の作用はカドミウムなどの重金属で増強されることから、Bach1は細胞内外の環境に対して多重の機構により応答することが考えられる。

以上をまとめると、Bach1は細胞内でヘム濃度が上昇した場合、あるいは酸化状態へ傾いた場合に不活性化され、その結果標的遺伝子の脱抑制、さらにはNrf2などの活性化因子による活性化が起きる。ヘム濃度が変動する代表的な状況としては、赤芽球分化に伴うヘム合成系の亢進があり、ここではBach1がヘム合成とグロビン遺伝子発現を統合することが考えられる。非赤血球系の細胞では、ヘム合成量が日内リズムで変動することが示唆されている³⁷⁾。また、様々な細胞がヘム取り込みトランスポーターを発現していることから³⁸⁾、細胞外からヘムを取り込み、それをシグナル分子としても活用している可能性もある。詳細は不明であり今後の課題である。

3. Bach1による細胞・臓器防御応答の抑制

Bach1ノックアウトマウスは致死的ではないものの、様々な変化を示す。ブレーキが欠けたことにより標的遺伝子の脱抑制が生じ、体中、色々な組織でHO-1などが高発現する²⁹⁾。さらに、Bach1ノックアウトマウスでは、動脈内皮障害³⁹⁾、心臓虚血再灌流⁴⁰⁾、心臓圧負荷⁴¹⁾、リポ多糖による肝臓障害⁴²⁾、脊髄損傷^{43,44)}など多様な病態モデルで細胞死や機能障害が軽減する。HO-1は細胞・臓器を様々なストレスから保護する作用が知られているが⁴⁵⁾、これらBach1ノックアウトマウスを用いた障害モデルでの変化がHO-1の高発現によるのか、あるいはBach1下流の他の遺伝子の高発現によるのか、詳細な分子機構は今後の課題である。いずれにしても、細胞や臓器を障害から保護する遺伝子システムをBach1が抑制していることが考えられる。Bach1は生物の生存に対して、むしろネガティブに作用するようにも見える。酸化ストレス応答の活性化に作用するNrf2の祖先遺伝子は線虫から存在するのに対して、Bach1祖先遺伝子はホヤなどの脊索動物から認められ、Bach1は高等生物に特徴的な転写因子とも言える。進化上、なぜBach1のような転写因子が出現し維持されてきたのか、不思議と言えば不思議である。一方、Bach1ノックアウトマウスの赤血球分化においては明らかな変化は認められない。Bach2が代償している可能性がある。

4. Bach1による細胞老化の抑制

1) Bach1ノックアウト細胞の老化亢進

Bach1ノックアウト線維芽細胞(MEF)をマウスより単

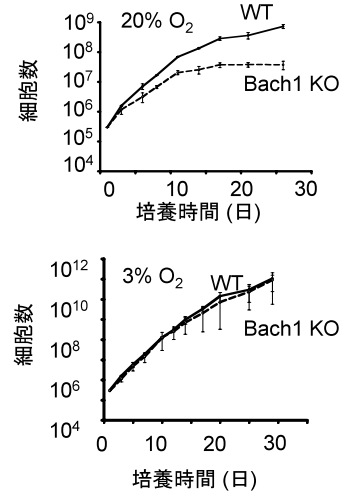


図5 Bach1ノックアウト細胞の酸素感受性
野生型(WT)あるいはBach1ノックアウトマウス(Bach1 KO)由来のMEFを通常条件(20%酸素)あるいは3%酸素下で培養した際の増殖を示す。

離して20%酸素下で培養すると、急速に細胞老化(早期細胞老化)へと突入する(図5)。この早期細胞老化は酸素濃度に依存しており、20%酸素下で観察されるが、3%酸素下では起きない⁴⁶⁾。上に述べたように、MEFは20%酸素下でDNA損傷を蓄積し、その結果、細胞老化に突入する。Bach1ノックアウトMEFでは、DNA損傷の量は野生型MEFと同程度である。したがって、Bach1は酸化ストレスやDNA損傷に対する細胞老化応答の閾値を規定すると考えられる。実際、Bach1を野生型MEFで過剰発現すると細胞老化は起きにくくなる。

酸化ストレスによる細胞老化にはp53が関与していることが報告されている⁸⁾。Bach1ノックアウトマウスで認められる早期細胞老化はp53とのダブルノックアウト(DKO)マウスより単離したMEFやBach1ノックダウン(KD)を行ったp53ノックアウトMEFでは認められない⁴⁶⁾。また、Rasにより誘導されるp53依存性細胞老化⁷⁾はBach1の過剰発現にて抑制される。つまりBach1が規定しているのはp53を介した細胞老化応答であると考えられる。注目すべき点として、p53の活性化の程度(タンパク質蓄積量やDNA結合能)は、野生型細胞とノックアウト細胞の間で大きな変化はないことがあげられる。むしろ、p53に対する下流の応答が増強している。マイクロアレイ解析においても、Bach1ノックアウトMEFでは一部のp53標的遺伝子群(*perp*や*p21*など)の発現上昇を認められており⁴⁶⁾、Bach1が一部のp53標的遺伝子の発現を抑制することを示している。

2) Bach1によるp53標的遺伝子の抑制機構

Bach1ノックアウトMEFで発現が上昇したp53標的遺伝子群では、HO-1と異なりエンハンサー領域にMAREが

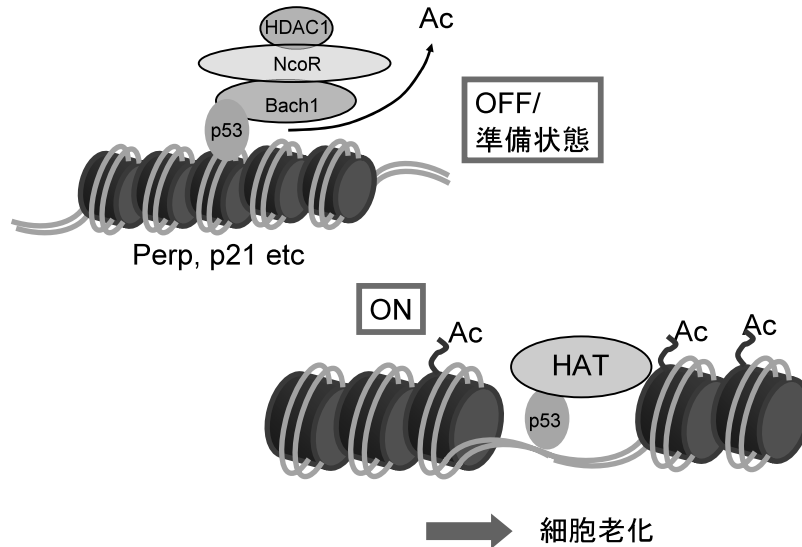


図6 Bach1による細胞老化抑制機構のモデル

Bach1はp53と複合体を形成することにより、MAREに依存しない機構でも転写を抑制し細胞老化を抑制する。細胞老化の際にはBach1が阻害され、HDAC1の代わりにヒストンアセチル化酵素等が動員されると考えられる。Ac, アセチル基; HAT, ヒストンアセチル化酵素。

存在しない。Bach1はp53, HDAC1 (histone deacetylase 1), NCoR (nuclear receptor co-repressor 1) といった因子とタンパク質複合体を形成してp53結合領域に動員される(図6)。クロマチン免疫沈降での解析から、p53標的遺伝子(*perp*, *p21*)のプロモーター上に存在するp53結合配列には、p53とともにBach1が動員されていることが明らかとされている⁴⁶⁾。このBach1の結合は、p53に依存しており、逆にp53の結合はBach1には依存しない。したがって、Bach1はp53のDNA結合を介してp53標的遺伝子に作用すると言える。HDAC1もBach1と共にp53標的遺伝子に動員されるが、これは完全にBach1に依存している。ヒストンH4のアセチル化レベルもBach1ノックアウトMEFで上昇している。ヒストン脱アセチル化酵素をトリコスタチンAで阻害すると、Bach1で抑制されているp53標的遺伝子の発現が上昇することから、Bach1はp53に対してHDAC1を動員することにより、その転写活性化能を抑制していることが考えられる(図6)。

p53は、DNA二重鎖切断などの強いゲノム障害の際、リン酸化¹⁹⁻²¹⁾、アセチル化⁴⁷⁾などの修飾を受けて細胞内に蓄積し、標的遺伝子発現を活性化することが知られている。その活性制御因子として、ATMやp19ARF, CBP/p300などが知られているが^{19-21, 48, 49)}、これらは全てDNA損傷に反応してp53の安定化およびDNA結合能上昇に作用する。一方、p53は通常条件下でも一部の標的遺伝子群には既に結合しており、微弱なストレスにより活性化して細胞防御作用を持つことも知られている⁵⁰⁾。Bach1はp53標的遺伝子群の中でも後者のカテゴリーに入るものに対し

て特異的に作用する可能性がある。この「特異性」はp53の多彩な生理機能を理解する上でも重要であり、今後の課題である。

5. Bach1が仲介するストレス応答系のクロストーク

p53を介したBach1による転写抑制システムが解明されたことにより、Bach1の作用機構が、MARE依存性、MARE非依存性/p53依存性の大きく二つの経路に大別できることが見えてきた(図7)。いずれも酸化ストレス応答に関わるが、その可逆性・不可逆性という点では大きく異なる。すなわち、MARE依存性応答はストレスにより誘導されるが、その後細胞内環境が補正されれば再び抑制される。これに対してp53依存性応答は、ストレスにより誘導された後に細胞老化という不可逆性の状態を作り出す。この二つの応答にBach1が関与する意義は何か? 現時点では推測の域を出ないが、いくつかの可能性を検討してみる。

1) 非線形応答としての細胞老化

先に述べたように、酸化ストレスはDNA損傷を引き起こし、DNA損傷応答(DNA damage response, DDR)を介してp53を活性化し、細胞老化を誘導する。この経路では、DDRの程度に応じて一過性の細胞周期停止か細胞老化に突入するかが選択されるものと考えられる。この時、Bach1がp53の転写活性化能を抑制することにより、この選択機構が作り出されているのではないかと。すなわち、Bach1活性が十分にある場合には、下流遺伝子の中でもBach1非感受性のp53標的遺伝子が選択的に発現する可能

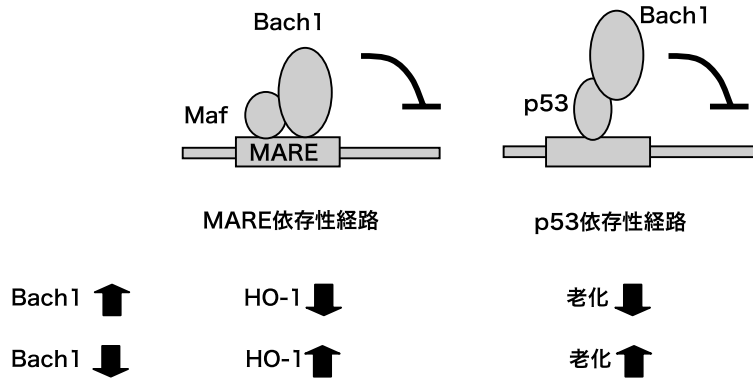


図7 Bach1による転写抑制の二経路
Bach1の活性に応じてMARE依存性経路とp53依存性経路の遺伝子発現が統合的に調節されるモデルを示す。

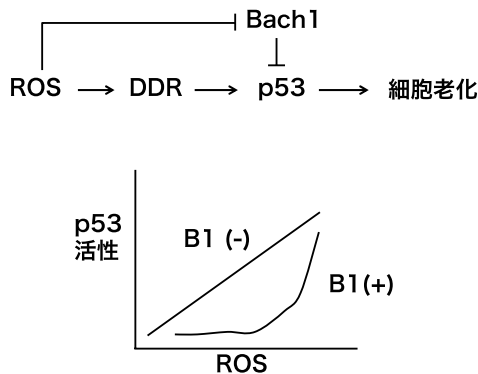


図8 Bach1が形成するROS応答性遺伝子回路
上に回路図, 下にこの回路から予想されるp53標的遺伝子の誘導パターンを示す。

性がある。Bach1感受性のp53標的遺伝子は、Bach1が不活性化されて初めて誘導可能となるであろう。Bach1自体が酸化ストレスによって制御されるので、図8に示すようなフィードフォワードネットワークが形成される。このネットワーク構造は、酸化ストレスに対する応答を非線形的、すなわち、ある一定レベルを超えてはじめて細胞老化が発動する、といった応答を可能にする。

2) 酸化ストレス応答と細胞老化の共役

老化した細胞は増殖しないものの死ぬこともない。このような状態は、持続する強いストレスに対する適応状態とも考えられる。Bach1の不活性化によるp53依存性経路の脱抑制により細胞老化が誘導されるとともに、同時にMARE依存性経路の脱抑制によって抗酸化遺伝子群が誘導されることにより、酸化ストレスなどにより強い状態が老化細胞に付与される可能性がある。ここにBach1を介して二つの経路が統合的に制御される意義があるのかもしれない。

3) 代謝活性と細胞老化の共役

エネルギー代謝の亢進が、酵母から多細胞生物に至るまで、細胞老化や個体老化の誘因となることが知られてい

る。線虫などでは、エネルギー代謝亢進に伴ったNAD⁺の低下とNAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素SIRT1発現低下により、脱アセチル化活性が低下し、その結果、SIRT1によるヒストンやFoxO1など転写因子の脱アセチル化が低下する⁵¹⁾(図9)。例えばFoxO1のアセチル化はその不活性化をもたらすので、FoxO1により制御されるDNA損傷修復系や酸化ストレス応答系の遺伝子発現が低下し、細胞老化や個体の老化が促進する^{1,52,53)}。SIRT1は、代謝情報をNAD⁺を介して遺伝子発現へと変換するシステムとも言える。ヘムも代謝系で重要な低分子であることを考えれば、ヘム-Bach1経路も代謝状態をモニターするシステムになっている可能性がある。ヘム産生は代謝亢進とともに上昇することから、図9に示すようなBach1経路も細胞老化や個体の老化を制御する可能性も浮かぶ。多細胞生物におけるヘム結合転写因子はBach1が最初の例として報告されたが、その後、他にもヘム結合性転写因子が報告されている。なかでもNPAS2 (neuronal PAS domain protein 2) や Rev-Erb (nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1/2) は概日リズムを制御することから^{54,55)}、ヘムは代謝活動と様々な生命現象を結ぶキー分子として再評価されるべきであろう。

4) サイトカイン分泌応答を介した細胞間シグナルネットワークの共役

細胞老化を来した細胞は単に増殖を止めるだけではなく、様々な液性因子(サイトカイン、ケモカインなど)を分泌することが最近報告された⁵⁶⁾。この形質は“senescence-associated secretory phenotype (SASP)”と呼ばれる。その生理的あるいは病理的な意義はまだ不明であるが、個体レベルで考えると老化細胞が分泌細胞として炎症応答などを制御する可能性もある。Bach1はSASPを制御することにより、細胞レベルでの酸化ストレス応答と細胞間シグナルネットワークを統合する可能性も考えられる。例えばがん細胞の転移においても、間質側で誘導されるSASPが転移

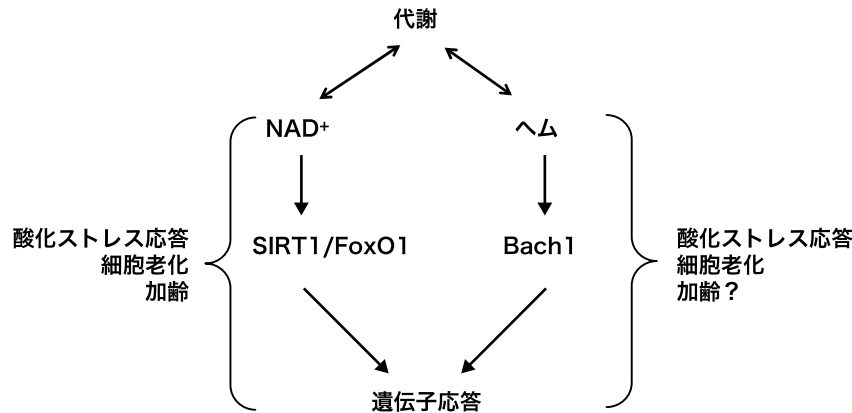


図9 Bach1による代謝-遺伝子応答の共役系
左にNAD, 右にH₂O₂による遺伝子制御系を示す. 詳細は本文参照.

等の微小環境を整える可能性が示唆されており, 今後の展開が注目される.

6. 今後の課題

試験管内における細胞老化はあくまでもモデルシステムであり, 今後は生体における細胞老化の意義やBach1の機能を検討する必要がある. 細胞老化はがん防御機構の一つと考えられる. がんは老化に伴って生じることを考えれば, 細胞老化は個体レベルでは老化に伴う発がんを防ぐ機構とも言える. 実際, 生体においても前がん病変において細胞老化様の状態が認められ, アポトーシスなどとならんで重要ながん抑制機構の一つと考えられている¹¹⁾. 一方, 細胞老化が組織幹細胞に生じると組織の再生能力が低下し, その結果, 臓器・組織の機能低下が招来される⁵⁷⁾. したがって, 細胞老化は個体の老化に対して防御的に作用しつつ, 個体の老化を促進する方向にも作用するという二面性を有することが考えられる. 実際, p53を大過剰に発現するトランスジェニックマウスは早期に老化するという報告がある⁵⁸⁾. がん防御と個体老化における細胞老化, そしてBach1の高等生物における機能を理解する上でいくつか重要な課題がある.

1) Bach1-p53の標的遺伝子(細胞老化の実行遺伝子)

p53自体を老化MEF細胞でノックダウンすると細胞老化はバイパスされるが, p53標的遺伝子の中で単独のノックダウンで老化がバイパスされるものは今のところ見つかっていない. このような細胞老化の実行遺伝子はがん抑制や個体老化に関わる可能性があり, ぜひ同定すべきである. このようなp53標的遺伝子はBach1ノックアウトMEFでは高発現しているはずなので, 緻密な発現解析などにより候補を絞り込めるはずである. また, 老化実行遺伝子を特定できれば, その遺伝子座へのマーカー挿入などにより個体レベルで老化細胞を特定することも可能となり, 細胞老化と個体老化の関係を追求する上でも興味深い

ツールとなるであろう.

2) がんとBach1, そして治療

Bach1ノックアウト細胞が急速に老化することから, 新しいがん治療戦略が考えられる. p53変異がないがんは, Bach1が過剰に発現してp53を阻害している可能性もある. また, Bach1自体には変化がなくとも, このようながんではBach1経路に対する依存度が増している可能性, いわゆる「非がん遺伝子依存症」(non-oncogene addiction)⁵⁹⁾もあるかもしれない. さらには, Bach1を阻害することにより老化を誘導して増殖を阻止することが可能かもしれない. ヒトがん細胞株でのBach1ノックダウン実験などでこの治療概念を検証する必要がある.

3) 細胞老化応答と疾患

がん以外の疾患でもBach1や細胞老化が関与する可能性がある. 本稿で述べたように, Bach1ノックアウトマウスでは様々な疾患モデルで障害が軽減する. この時, 酸化ストレス応答遺伝子のみならず, 細胞老化やSASPも病態の変化に関与する可能性がある. このような視点から疾患モデルを検証した例は少なく, 今後の課題である. ヒト疾患でもBach1やその周辺因子, あるいは下流遺伝子・因子の量的質的变化により, 発症や程度が違う可能性は十分に予想される. また, Bach1や周辺因子は治療標的分子となることも予想される. ヒト病理検体を用いた検討が望まれる.

文 献

- 1) Daitoku, H. & Fukamizu, A. (2007) *J. Biochem.*, 141, 769–774.
- 2) Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J.D., & Yamamoto, M. (1999) *Genes Dev.*, 13, 76–86.
- 3) Motohashi, H. & Yamamoto, M. (2007) *Cancer Sci.*, 98, 135–139.
- 4) Hayflick, L. (1965) *Exp. Cell Res.*, 37, 614–636.

- 5) Harley, C.B., Futcher, A.B., & Greider, C.W. (1990) *Nature*, **345**, 458–460.
- 6) Di Micco, R., Cicalese, A., Fumagalli, M., Dobрева, M., Verrecchia, A., Pelicci, P.G., & di Fagagna, F. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 3601–3606.
- 7) Serrano, M., Lin, A.W., McCurrach, M.E., Beach, D., & Lowe, S.W. (1997) *Cell*, **88**, 593–602.
- 8) Parrinello, S., Samper, E., Krtolica, A., Goldstein, J., Melov, S., & Campisi, J. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 741–747.
- 9) Dimri, G.P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E.E., Linskens, M., Rubelj, I., Pereira-Smith, O., Peacocke, M., & Campisi, J. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 9363–9367.
- 10) Narita, M., Nunez, S., Heard, E., Narita, M., Lin, A.W., Hearn, S.A., Spector, D.L., Hannon, G.J., & Lowe, S.W. (2003) *Cell*, **113**, 703–716.
- 11) Michaloglou, C., Vredeveld, L.C., Soengas, M.S., Denoyelle, C., Kuilman, T., van der Horst, C.M., Majoor, D.M., Shay, J. W., Mooi, W.J., & Peeper, D.S. (2005) *Nature*, **436**, 720–724.
- 12) Ben-Porath, I. & Weinberg, R.A. (2005) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **37**, 961–976.
- 13) Dirac, A.M. & Bernards, R. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 11731–11734.
- 14) Sage, J., Miller, A.L., Perez-Mancera, P.A., Wysocki, J.M., & Jacks, T. (2003) *Nature*, **424**, 223–228.
- 15) Chen, Q.M., Bartholomew, J.C., Campisi, J., Acosta, M., Reagan, J.D., & Ames, B.N., (1998) *Biochem. J.*, **332**, 43–50.
- 16) Ivanovic, Z., Hermitte, F., Brunet de la Grange, P., Dazey, B., Belloc, F., Lacombe, F., Vezon, G., & Praloran, V. (2004) *Stem Cells*, **22**, 716–724.
- 17) Kubbutat, M.H., Jones, S.N., & Vousden, K.H. (1997) *Nature*, **387**, 299–303.
- 18) Honda, R., Tanaka, H., & Yasuda, H. (1997) *FEBS Lett.*, **420**, 25–27.
- 19) Shieh, S.Y., Ikeda, M., Taya, Y., & Prives, C. (1997) *Cell*, **91**, 325–334.
- 20) Banin, S., Moyal, L., Shieh, S., Taya, Y., Anderson, C.W., Chessa, L., Smorodinsky, N.I., Prives, C., Reiss, Y., Shiloh, Y., & Ziv, Y. (1998) *Science*, **281**, 1674–1677.
- 21) Shieh, S.Y., Ahn, J., Tamai, K., Taya, Y., & Prives, C. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 289–300.
- 22) Oyake, T., Itoh, K., Motohashi, H., Hayashi, N., Hoshino, H., Nishizawa, M., Yamamoto, M., & Igarashi, K. (1996) *Mol. Cell. Biol.*, **16**, 6083–6095.
- 23) Igarashi, K., Kataoka, K., Itoh, K., Hayashi, N., Nishizawa, M., & Yamamoto, M. (1994) *Nature*, **367**, 568–572.
- 24) Motohashi, H., Katsuoka, F., Engel, J.D., & Yamamoto, M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 6379–6384.
- 25) Brand, M., Ranish, J.A., Kummer, N.T., Hamilton, J., Igarashi, K., Francastel, C., Chi, T.H., Crabtree, G.R., Aebersold, R., & Groudine, M. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **1**, 73–80.
- 26) Sun, J., Brand, M., Zenke, Y., Tashiro, S., Groudine, M., & Igarashi, K. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 1461–1466.
- 27) Tahara, T., Sun, J., Nakanishi, K., Yamamoto, M., Mori, H., Saito, T., Fujita, H., Igarashi, K., & Taketani, S. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 5480–5487.
- 28) Ogawa, K., Sun, J., Taketani, S., Nakajima, O., Nishitani, C., Sassa, S., Hayashi, N., Yamamoto, M., Shibahara, S., Fujita, H., & Igarashi, K. (2001) *EMBO J.*, **20**, 2835–2843.
- 29) Sun, J., Hoshino, H., Takaku, K., Nakajima, O., Muto, A., Suzuki, H., Tashiro, S., Takahashi, S., Shibahara, S., Alam, J., Taketo, M.M., Yamamoto, M., & Igarashi, K. (2002) *EMBO J.*, **21**, 5216–5224.
- 30) Dohi, Y., Alam, J., Yoshizumi, M., Sun, J., & Igarashi, K. (2006) *Antioxid. Redox. Signal.*, **8**, 60–67.
- 31) Hintze, K.J., Katoh, Y., Igarashi, K., & Theil, E.C. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 34365–34371.
- 32) Hira, S., Tomita, T., Matsui, T., Igarashi, K., & Ikeda-Saito, M. (2007) *IUBMB Life*, **59**, 542–551.
- 33) Suzuki, H., Tashiro, S., Hira, S., Sun, J., Yamazaki, C., Zenke, Y., Ikeda-Saito, M., Yoshida, M., & Igarashi, K. (2004) *EMBO J.*, **23**, 2544–2553.
- 34) Zenke-Kawasaki, Y., Dohi, Y., Katoh, Y., Ikura, T., Ikura, M., Asahara, T., Tokunaga, F., Iwai, K., & Igarashi, K. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 6962–6971.
- 35) Ishikawa, M., Numazawa, S., Yoshida, T. (2005) *Free Radic. Biol. Med.*, **38**, 1344–1352.
- 36) Suzuki, H., Tashiro, S., Sun, J., Doi, H., Satomi, S., & Igarashi, K. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 49246–49253.
- 37) Yin, L., Wu, N., Curtin, J.C., Qatanani, M., Szwegold, N.R., Reid, R.A., Waitt, G.M., Parks, D.J., Pearce, K.H., Wisely, G. B., & Lazar, M.A. (2007) *Science*, **318**, 1786–1789.
- 38) Rajagopal, A., Rao, A.U., Amigo, J., Tian, M., Upadhyay, S. K., Hall, C., Uhm, S., Mathew, M.K., Fleming, M.D., Paw, B. H., Krause, M., & Hamza, I. (2008) *Nature*, **453**, 1127–1131.
- 39) Omura, S., Suzuki, H., Toyofuku, M., Ozono, R., Kohno, N., & Igarashi, K. (2005) *Genes Cells*, **10**, 277–285.
- 40) Yano, Y., Ozono, R., Oishi, Y., Kambe, M., Yoshizumi, M., Ishida, T., Omura, S., Oshima, T., & Igarashi, K. (2006) *Genes Cells*, **11**, 791–803.
- 41) Mito, S., Ozono, R., Oshima, T., Yano, Y., Watari, Y., Yamamoto, Y., Brydun, A., Igarashi, K., & Yoshizumi, M. (2008) *Hypertension*, **51**, 1570–1577.
- 42) Iida, A., Inagaki, K., Miyazaki, A., Yonemori, F., Ito, E., & Igarashi, K. (2009) *Tohoku J. Exp. Med.*, **217**, 223–229.
- 43) Yamada, K., Tanaka, N., Nakanishi, K., Kamei, N., Ishikawa, M., Mizuno, T., Igarashi, K., & Ochi, M. (2008) *J. Neurosurg. Spine.*, **9**, 611–620.
- 44) Kanno, H., Ozawa, H., Dohi, Y., Sekiguchi, A., Igarashi, K., & Itoi, E. (2009) *J. Neurotrauma*, in press.
- 45) Takahashi, T., Morita, K., Akagi, R., & Sassa, S. (2004) *Curr. Med. Chem.*, **11**, 1545–1561.
- 46) Dohi, Y., Ikura, T., Hoshikawa, Y., Katoh, Y., Ota, K., Nakanome, A., Muto, A., Omura, S., Ohta, T., Ito, A., Yoshida, M., Noda, T., & Igarashi, K. (2008) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **15**, 1246–1254.
- 47) Gu, W. & Roeder, R.G. (1997) *Cell*, **90**, 595–606.
- 48) Kamijo, T., Weber, J.D., Zambetti, G., Zindy, F., Roussel, M. F., & Sherr, C.J. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 8292–8297.
- 49) Ito, A., Lai, C.H., Zhao, X., Saito, S., Hamilton, M.H., Appella, E., & Yao, T.P. (2001) *EMBO J.*, **20**, 1331–1340.
- 50) Sablina, A.A., Budanov, A.V., Ilyinskaya, G.V., Agapova, L.S., Kravchenko, J.E., & Chumakov, P.M. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1306–1313.
- 51) Saunders, L.R. & Verdin, E. (2007) *Oncogene*, **26**, 5489–5504.
- 52) Daitoku, H., Hatta, M., Matsuzaki, H., Aratani, S., Ohshima, T., Miyagishi, M., Nakajima, T., & Fukamizu, A. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10042–10047.
- 53) Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Aoyama, H., Yoshimochi, K., & Fukamizu, A. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 11278–11283.

- 54) Dioum, E.M., Rutter, J., Tuckerman, J.R., Gonzalez, G., Gilles-Gonzalez, M.A., & McKnight, S.L. (2002) *Science*, **298**, 2385–2387.
- 55) Raghuram, S., Stayrook, K.R., Huang, P., Rogers, P.M., Nosie, A.K., McClure, D.B., Burris, L.L., Khorasanizadeh, S., Burris, T.P., & Rastinejad, F. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 1207–1213.
- 56) Coppé, J.P., Patil, C.K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D.P., Goldstein, J., Nelson, P.S., Desprez, P.Y., & Campisi, J. (2008) *PLoS. Biol.*, **6**, 2853–2868.
- 57) Sharpless, N.E. & DePinho, R.A. (2004) *J. Clin. Invest.*, **113**, 160–168.
- 58) Tyner, S.D., Venkatachalam, S., Choi, J., Jones, S., Ghebrani-ous, N., Igelmann, H., Lu, X., Soron, G., Cooper, B., Brayton, C., Hee, P.S., Thompson, T., Karsenty, G., Bradley, A., & Donehower, L.A. (2002) *Nature*, **415**, 45–53.
- 59) Luo, J., Solimini, N.L., & Elledge, S.J. (2009) *Cell*, **136**, 823–837.
-