

## 加齢と呼吸器疾患－細胞老化を中心に－

桑野和善 荒屋潤 原弘道 皆川俊介  
小林賢司 高坂直樹 伊藤三郎 中山勝敏

東京慈恵会医科大学内科学講座呼吸器内科

### AGING AND RESPIRATORY DISEASES － THE CENTRAL ROLE OF CELLULAR SENEESCENCE －

Kazuyoshi KUWANO, Jun ARAYA, Hiromichi HARA, Syunsuke MINAGAWA,  
Kenji KOBAYASHI, Naoki TAKASAKA, Saburo ITO, and Katsutoshi NAKAYAMA

*Division of Respiratory Diseases, Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine*

Respiratory diseases, such as chronic obstructive pulmonary disease, idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer, are closely associated with aging. One of hallmarks of aging is cellular senescence. Due to the organ-specific role of gas exchange, various cell types within the lung are always exposed to various cellular stresses, and growing evidence reveals the crucial involvement of cellular senescence in the pathogenic sequence of respiratory diseases. Cellular stresses such as reactive oxygen species, radiation, drugs, and microbial infection induce cellular senescence. Cellular senescence is also considered to be the process of a variety of cell fate as well as apoptosis and necrosis. Cellular senescence has been suggested to be involved in disease pathogenesis in terms of not only impaired regeneration but also secretion of cytokines and growth factors named senescence associated secretory phenotype, which affect the tissue microenvironment in various ways. Although the molecular mechanisms of cellular senescence are incompletely understood, persistent tissue injury and aging may result in accumulation of senescent cells, chronic inflammation and fibrosis. As well as ubiquitin proteasome pathway, autophagy is a lysosomal self-degradation mechanism and maintains cellular homeostasis of synthesis, degradation and recycling of cellular proteins and organelles. Autophagy not only supplies amino acid in response to energy demand but also responds to various stresses for cellular homeostasis. Therefore, autophagy has been proposed to play a pivotal role in the regulation of inflammation, immune reactions, infection and cancer by modulating cellular senescence and aging. We review recent findings of cellular senescence and autophagy in cellular process and cell fate, especially in COPD pathogenesis, and also novel treatments targeting cellular senescence.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2016;131:33-39)

Key words; cellular senescence, autophagy, aging, chronic obstructive lung disease

#### I. 加齢と細胞老化

加齢ともなう機能低下の過程は、損傷、損傷に対する反応、そして不可逆的な機能不全と考えられる。老化とは、個体に対して用いられる場合、加齢により組織や個体に認められる恒常性維持機能の低下を意味し、‘aging / longevity’が用いられる。その表現型は、genomic instability (遺伝子

の不安定性), telomere erosion (テロメアの浸食), epigenetic changes (エピジェネティクスの変化), loss of proteostasis (タンパク質恒常性の破綻), deregulated nutrient sensing (栄養摂取応答異常), mitochondrial dysfunction (ミトコンドリア機能不全), cellular senescence (細胞老化), stem cell exhaustion (幹細胞の枯渇), altered cellular communication (細胞間伝達の変化) である<sup>1)</sup>。そ

のなかでも細胞老化がその集約といえる。細胞老化は、細胞が安定して増殖を休止した状態であることを意味し、'senescence'が用いられる。Hayflickらは、1961年、培養細胞が最初は細胞分裂を繰り返すが、多数の分裂の後、細胞増殖・分裂が停止し、数週間そのままの状態が続くことを細胞老化(replicative senescence)として最初に報告している<sup>2)</sup>。細胞が分裂するにしたがってテロメアは短縮し、ある程度の長さになると分裂は停止する。テロメア短縮によってDNA損傷が認知され、アポトーシスや細胞老化を誘導する。個体の老化と細胞老化は、必ずしもすべて一致するわけではなく区別して用いられるが、基本的には加齢ともない老化細胞の割合も増加すると考えられている。

蛋白質恒常性維持を含めて、栄養、ミトコンドリア恒常性維持、細胞老化が生体の損傷に対する反応と言えるが、オートファジーという機構が、細胞老化の制御を含む生体の恒常性維持に大きな役割を果たしている<sup>3)</sup>。オートファジーは、ユビキチン・プロテアソーム機構とともに、細胞内自己成分の分解処理機構である。リン脂質の2重膜様構造からなるオートファゴソームと呼ばれる小胞によって、タンパク質や小器官を囲い込みリソソームに移送し融解分解する。非選択的な分解機構と、ユビキチン依存性あるいはミトコンドリアを特異的に分解する(マイトファジー)、あるいは細菌を特異的に分解する(ゼノファジー)選択的分解機構がある<sup>4)</sup>。オートファジーは、定常状態におけるアミノ酸の供給だけではなく、種々のストレスにより増加した蛋白凝集体や傷害小器官を分解除去し、細胞内環境を維持する。そのため炎症、免疫、感染、発癌、細胞死、細胞老化に至るまで、多様な細胞機能の制御に関与する<sup>4)</sup>。

細胞老化の本質的な役割は、プログラムされた細胞死であるアポトーシスと同様に、傷害を受けた細胞の除去と組織の再生にあると考えられている<sup>5)</sup>。細胞老化は、テロメア依存性、ストレス誘導性、癌遺伝子誘導性、DNA障害誘導性、クロマチン依存性など、原因により分類される<sup>6)</sup>。機序に関しては、p53-p21を介する経路、p16-pRB経路の大きく分けて2つの経路を介する<sup>7)</sup>。老化細胞のおもな特徴は、1.増殖停止、2.アポトーシス抵抗性、3.遺伝子発現の変化とされる。p21,

p16といった、細胞周期調節にかかわるcyclin-dependent kinase inhibitors (CDKI)の発現が亢進し、細胞周期を促す蛋白の発現は抑制され、増殖停止を引き起こす<sup>8)</sup>。アポトーシスと老化は相補的役割を持つためアポトーシスには抵抗性となる。老化した細胞は、種々の成長因子や、サイトカインの遺伝子発現によって周囲の微小環境に影響を与える。これを細胞老化に関連した分泌現象=senescence-associated secretory phenotype (SASP)と呼び、癌化や変性疾患と関連している<sup>9)</sup>。形態的にはin vitroでは細長い、肥大した細胞となる。ライソゾーム内容物の増加を反映するとされる老化関連βガラクトシダーゼ染色で陽性化や、細胞周期停止に作用する老化関連のサイクリン依存性キナーゼ阻害因子であるp21, p16, p15やp27の発現、細胞増殖に必要な遺伝子の発現の抑制と関連する細胞老化特異的ヘテロクロマチン構造などが細胞老化の指標と考えられている。細胞老化の表現型は細胞の種類や、その誘導刺激の種類、刺激の程度と時間的な要因に影響され、SASPのパターンを含め、多岐にわたる<sup>10)</sup>(図1)。

発生過程での臓器の形成や、損傷した組織の修復の合図によって細胞老化は誘導される。SASPとして老化細胞から分泌されたサイトカインや成長因子はマクロファージなど処理する細胞を遊走させる。適切に処理された場合には正常に回復するが、一方慢性的な細胞傷害の存在や加齢は、老

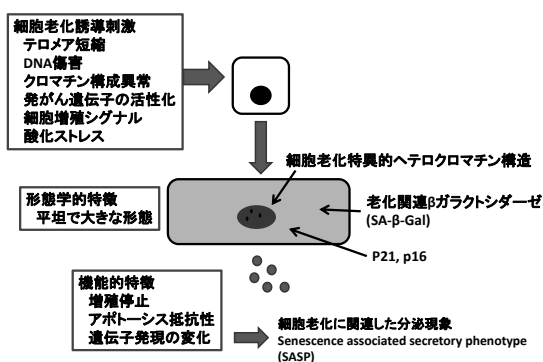


図1. 細胞老化の誘導因子と形態および機能的特徴

細胞老化とは、テロメア短縮をはじめとして、DNA傷害、クロマチン構成異常、発がん遺伝子の活性化、細胞増殖シグナル、酸化ストレスといった刺激によって誘導される。形態的には平たんで大きな細胞となり、SA-beta-galactosidase染色、p21,p16に対する免疫染色が陽性となる。機能的には、増殖が停止し、遺伝子発現が変化し、様々なサイトカインやケモカインを産生するSASPを特徴とする。

化細胞の集積，慢性炎症，さらには線維化など構  
造変化と機能障害へと進展する可能性がある。老  
化細胞の少ない若者では，傷害を受けた細胞への  
老化誘導は癌抑制的に働き，線維芽細胞の老化や  
SASPは創傷治癒促進作用の役割を果たしている  
と考えられる。一方老人では，絶対数の増加と不  
十分な除去により老化細胞は多く存在し，過剰な  
SASPは，異常な組織再生や腫瘍細胞の増殖，さ  
らには個体の老化につながると考えられる<sup>11)</sup> (図2)。  
様々な呼吸器疾患の病態に細胞老化は関連して  
おり，細胞老化の制御を介した治療戦略は，い  
ずれの疾患においても他の治療戦略と組み合わ  
せることによって有効であることが期待される。

## II. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) における細胞老化

ガス交換のため常に外界からのさまざまなス  
トレスにさらされている呼吸器では，細胞老化が日  
常的に誘導され，各種病態に関与する可能性があ  
る。実際さまざまな呼吸器疾患で，加齢により頻  
度が増加したり，重症難治化したりすることが報  
告されている。COPDや特発性肺線維症において，  
細胞老化の病態への関与が重要と考えられてい  
る。また，肺癌における制癌作用と同時に癌化の  
促進，感染症における易感染性や重症化，気管支

喘息における難治化や重症化が，加齢にともなう  
細胞老化と関連している (図3)。

加齢とCOPD発症は密接に関連している。COPD  
患者では，末梢白血球のテロメア長が短縮し，  
肺上皮細胞，肺血管内皮細胞や線維芽細胞に細胞  
老化が認められる<sup>12) 13)</sup>。In vitroにおいても，タ  
バコ抽出液による刺激によって肺上皮細胞や肺線  
維芽細胞に細胞老化が誘導される<sup>14) 15)</sup>。また，  
COPD患者の血管内皮前駆細胞は，細胞老化と  
DNA損傷が健常者と比較して亢進していること  
は，再生に必要な前駆細胞や幹細胞の枯渇につな

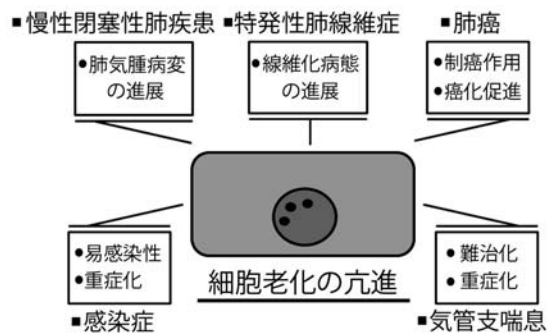


図3. 呼吸器疾患と細胞老化

細胞老化が病態に影響すると考えられている代表的な疾  
患。COPDでは，細胞老化が病態に深く関わっている。特  
発性肺線維症でも細胞老化の病態への関与が重要と考え  
られている。またそれ以外にも肺癌における制癌作用と同時  
に癌化の促進，感染症における易感染性や重症化，気管支  
喘息における難治化や重症化が，加齢に伴う細胞老化との  
関連性が報告されている。

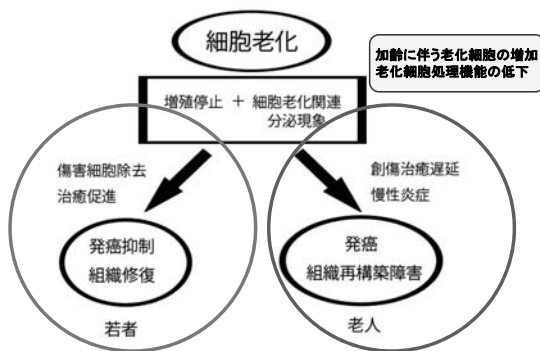


図2. 細胞老化の役割

細胞老化の本質的な役割は，傷害を受けた細胞の除去と  
組織の再生復元にある。おそらく老化細胞の少ない若者  
では，傷害を受けた細胞への老化誘導は癌抑制的に働き，  
線維芽細胞の老化やSASPは創傷治癒促進作用の役割を果  
たしていると考えられる。一方老人では，絶対数の増加と不  
十分な除去により老化細胞は多く存在し，過剰なSASPは，  
慢性炎症，異常な組織修復や発癌，さらには個体の老化に  
つながると考えられる。

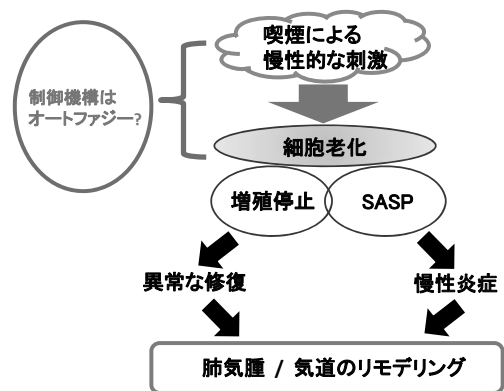


図4. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) における細胞老化

喫煙による慢性的な刺激と加齢の要素により肺気道上皮  
細胞の細胞老化が亢進し，再生傷害による気腫化，SASP  
による炎症というサイクルがCOPDの発症及び進行の原  
因と考えることが出来る。この慢性刺激に対するストレス  
反応が，個体により多様性があり，それがCOPDを発症  
するかどうかを左右する可能性がある。

ることが予想される<sup>16)</sup>。喫煙による慢性的な刺激と加齢の要素により細胞老化が亢進し、再生傷害による気腫化、SASPによる炎症と気道壁の肥厚がCOPDの発症及び進行の原因と考えることができる。この慢性刺激に対するストレス反応が、個体により多様性があり、それがCOPDを発症するか否かを左右する(図4)。

喫煙によって、細胞内エネルギー代謝に働くクレアチンキナーゼBが低下し、気道上皮細胞の細胞老化に関与する<sup>17)</sup>。In vitroにおいて気道上皮細胞にタバコ抽出液(CSE)を曝露すると一過性にオートファジーは亢進するが次第に減弱する<sup>18)</sup>。ユビキチン化蛋白とp62が同時に蓄積することは、オートファジーによる分解が不十分である指標となる。COPDの肺組織においては正常肺と比較してLC3IIの発現亢進が認められるため、オートファジーが亢進していると考えられるが、p62, ubiquitinの発現も増加しており、相対的にオートファジーが不十分であると考えられる<sup>18)</sup>。低濃度のCSEを培養気道上皮細胞に曝露すると、細胞内にp62, ubiquitinの蓄積と、細胞老化を認める。オートファジー機能を抑制すると細胞老化がさらに亢進し、逆に誘導すると細胞老化が抑制される<sup>18)</sup>。

class IIIのhistone deacetylases (HDAC)であるSirtuin familyは、飢餓時における寿命延長効果などから抗老化蛋白として注目されている<sup>19)</sup>。COPD肺では喫煙刺激や酸化ストレスによって、SIRT1の発現量が低下しているが、SIRT1の低下は、NF $\kappa$ B活性化に伴う炎症性サイトカインの産生増加、FOXO3を介するオートファジー機能低下、酸化作用の低下、PGC-1抑制によるミトファジー機能低下、Ku70発現抑制による再生能の低下などによって細胞老化に至る<sup>20)</sup>。SIRT1のtransgenic mouseでは、喫煙刺激による細胞老化と気腫化が抑制され、SIRT1欠損マウスでは肺の細胞老化および気腫化が亢進する。またSIRT1 activatorであるSRT1720はエラスターゼによる気腫化を抑制する<sup>21)</sup>。

我々は、SIRT1と同様に抗老化作用を持つSIRT6について検討した。COPD患者由来の肺組織のホモジネートでは、SIRT6発現が正常と比べ低下しており、細胞老化の指標であるp21、オートファジー機能低下を示すp62の発現が亢進していた。またCSE刺激は気道上皮細胞でのSIRT6蛋

白発現を低下させた。さらにSIRT6の発現低下は1秒率低下と相関していた<sup>22)</sup>。CSE刺激による細胞老化誘導は、SIRT6の強発現により抑制され、SIRT6ノックダウンや、HDAC活性のない変異型SIRT6発現によって、細胞老化はさらに亢進した。SIRT6はIGF-Akt-mTORシグナルを抑制することによってオートファジーを亢進させ、細胞老化を抑制した。したがって、長期間の喫煙曝露によってSIRT6が低下し、mTORが活性化したことによってオートファジー機能が低下し、細胞老化が亢進することがCOPDの進行につながると考えられた<sup>22)</sup>。

オートファジー機能低下によって細胞老化が促進されるのは、どの細胞成分の分解が不十分なのか検討した。ミトコンドリアは、融合と分裂を繰り返すダイナミックな形態変化を常に繰り返しており、ストレス下において傷害を受けたミトコンドリアは分裂し、マイトファジーで分解除去される。マイトファジーによる分解が不十分であれば、傷害ミトコンドリアからの活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)が増加し、細胞老化につながると考えられている<sup>23)</sup>。ミトコンドリアはATPを産生する細胞内小器官であるが、アポトーシス制御の中心的役割を果たし、ROSの最大の発生源であり、damage associated molecular pattern (DAMP)の一つであるミトコンドリアDNAを放出するなど、細胞内恒常性維持のためには、マイトファジーによるミトコンドリアの恒常性維持が重要である<sup>24)</sup>。COPDの気道上皮細胞の電顕による検討では、クリステの消失、異常な分枝、膨化、断片化したミトコンドリアの増加などミトコンドリア傷害を示す所見がみとめられる<sup>25)</sup>。また、CSE刺激によって老化した気道上皮細胞では、断片化したミトコンドリアが有意に増加する<sup>26)</sup>。長期間の喫煙刺激によってマイトファジー機能低下が生じ、傷害ミトコンドリアの蓄積と過剰な活性酸素産生が細胞老化を惹起すると考えられる。培養気道上皮細胞において、CSE刺激によって、膨化したミトコンドリアを含むオートファゴゾームの増加と、断片化したミトコンドリアを多数認めるが、Torin1によってオートファジーを亢進させると、オートファゴゾーム内の傷害ミトコンドリアの分解が亢進し、細胞質における正常なミトコ

ンドリアは増加した<sup>27)</sup>。

ミトコンドリア膜蛋白であるPINK1とE3ユビキチンリガーゼであるParkinは、CSE刺激時のマイトファジーに必須である<sup>28)</sup>。PINK1又はParkinのノックダウンはマイトファジーを抑制し、ROS産生と細胞老化を誘導した。COPD患者では非COPD喫煙者に比べParkinの発現が有意に低下しており、Parkinの発現低下は1秒率と相関していた。免疫組織染色においても気道上皮細胞においてCOPD肺組織ではNon-smoker, non-COPD smokerに比べてParkinの発現の程度が有意に低下していた<sup>27)</sup>。以上の検討によりParkin発現の低下がCOPD病態におけるマイトファジー機能低下と細胞老化に関与すると考えられた。我々の検討結果をまとめると、軽度のストレスによるミトコンドリア傷害はマイトファジーによる分解処理で回復するが、軽度から中等度の刺激でも、Parkinが低下してマイトファジーが不十分な場合には細胞老化が誘導されると考えられる。一方、特殊な非常に強い刺激ではマイトファジーで分解されないミトコンドリアからのミトコンドリアタンパク放出や、マイトファジー自体が細胞死を誘導するという報告もあるが<sup>29)</sup>、通常の状態では、マイトファジーが制御する細胞老化と細胞死がCOPD病態において重要と考えられる。

### III. 細胞老化を標的とする治療戦略

高齢化社会と共に加齢に伴う疾患が問題となっている。その中でも、呼吸器疾患、とくにCOPD、肺炎、肺癌が2020年には世界の死亡原因として3,4,5位を占めることが予想されている。加齢ともっとも関連しているのは細胞老化であり、細胞老化を制御する治療は、重要な治療戦略となることが期待される。細胞老化は、生理的な恒常性維持調節機構の低下に起因する。以前より提唱されているフリーラジカル仮説では、ROSが細胞老化の原因と考えられている。COPD患者の気道上皮細胞や、IPF患者の上皮細胞、線維芽細胞のオートファジー機能は不十分であるが、とくにミトコンドリア特異的なオートファジー（マイトファジー）低下による傷害ミトコンドリアの蓄積は、過剰な活性酸素産生を誘導し、DNA傷害、細胞

老化やPI3K-Akt経路活性化による線維芽細胞における筋線維芽細胞分化を惹起する。Class IIIのHDACで老化との関連性が報告されているSIRT6はIGF-Akt-mTORシグナルの制御により、オートファジーを亢進させる。オートファジー（マイトファジー）促進による細胞老化抑制を標的とする創薬は、肺疾患のみならず生活習慣病をはじめとする全身の併存症にも良い効果が期待される。

ROSの主要な産生源であるミトコンドリアの品質管理が不十分であることがROS増加を介し、細胞老化と関連している観点より、さまざまな新規治療が考えられる。ROS-PI3K-AKT-mTORは細胞老化の主要な伝達経路である。ROSに対するantioxidantとしてSOD, NADPH oxidase inhibitor, Nrf2 activator, PI3Kを阻害するテオフィリン, mTORを抑制するAMPKを活性化するカロリー制限やmetformin, mTOR阻害薬, オートファジーを直接活性化するspermidine, SIRT1を活性化するresveratrolやSRT-2171などのsirtuin activatorなどである<sup>30)</sup>。

Exosomesやmicrovesiclesなど細胞外小胞Extracellular vesicles (EVs)は、リン脂質の二重膜につつまれた小胞であるが、さまざまな病態における新たな細胞間情報伝達手段として注目されている<sup>31)</sup>。小胞内には、DNAs, 蛋白, mRNAsやmicroRNAsが含まれる。これらの小胞の構成成分や分泌される物質は、標的となる細胞に情報を伝達する。我々は、エクソソームの中に線維化に関連する因子を同定することを試みた。まず、培養気道上皮細胞に喫煙刺激を加えて、細胞を老化させ、その培養上清中よりエクソソームを抽出した。そのエクソソームを培養線維芽細胞に投与するとエクソソームは細胞内に取り込まれ、線維芽細胞は筋線維芽細胞へ分化した。我々は、このエクソソーム内のmicroRNAのマイクロアレイを行い、その中で、オートファジーに関与するmicroRNA, miR-210を同定した。miR-210はオートファジーに重要なATG7を抑制し、線維芽細胞の筋線維芽細胞分化を促進した<sup>32)</sup>。miR-210に抑制効果を示すmicroRNA, antagomirを用いればCOPDにおける気道の線維化や肺線維症における線維化抑制治療薬となりうることが期待される。これらの治療法以外にも、ミトコンドリアの恒常性維持、

microRNAをはじめとするエピジェネティック製剤, 損傷を受けた細胞や老化細胞の除去, 幹細胞を用いた治療など加齢にともなう機能低下を標的とする治療法の開発が期待される<sup>1)</sup>.

**著者の利益相反 (conflict of interest : COI) 開示 :**

桑野和善 : 研究費・助成金 (グラクソ・スミスクライン), 講演料 (日本ベーリンガーインゲルハイム), 奨学寄附金 (小野薬品)

**文 献**

- 1) López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153: 1194-217.
- 2) Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1965; 37: 614-36.
- 3) Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011; 146: 682-95.
- 4) Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*. 2011; 147: 728-41.
- 5) Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014; 15: 482-96.
- 6) Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8: 729-40.
- 7) Herbig U, Jobling WA, Chen BP, Chen DJ, Sedivy JM. Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21(CIP1), but not p16(INK4a). *Mol Cell*. 2004; 14: 501-13.
- 8) Stein GH, Drullinger LF, Robetorye RS, Pereira-Smith OM, Smith JR. Senescent cells fail to express cdc2, cycA, and cycB in response to mitogen stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88: 11012-26.
- 9) van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature*. 2014; 509: 439-46.
- 10) Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol*. 2011; 192: 547-56.
- 11) Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014; 15: 482-96.
- 12) Tsuji T, Aoshiba K, Nagai A. Alveolar cell senescence in patients with pulmonary emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 174: 886-93.
- 13) Müller KC, Welker L, Paasch K, Feindt B, Erpenbeck VJ, Hohlfeld JM, et al. Lung fibroblasts from patients with emphysema show markers of senescence in vitro. *Respir Res*. 2006; 7: 32.
- 14) Tsuji T, Aoshiba K, Nagai A. Cigarette smoke induces senescence in alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004; 31: 643-9.
- 15) Nyunoya T, Monick MM, Klingelutz A, Yarovinsky TO, Cagley JR, Hunninghake GW. Cigarette smoke induces cellular senescence. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006; 35: 681-8.
- 16) Paschalaki KE, Starke RD, Hu Y, Mercado N, Margariti A, Gorgoulis VG, et al. Dysfunction of endothelial progenitor cells from smokers and chronic obstructive pulmonary disease patients due to increased DNA damage and senescence. *Stem Cells*. 2013; 31: 2813-26.
- 17) Hara H, Araya J, Takasaka N, Fujii S, Kojima J, Yumino Y, et al. Involvement of creatine kinase B in cigarette smoke-induced bronchial epithelial cell senescence. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012; 46: 306-12.
- 18) Fujii S, Hara H, Araya J, Takasaka N, Kojima J, Ito S, et al. Insufficient autophagy promotes bronchial epithelial cell senescence in chronic obstructive pulmonary disease. *Oncoimmunology*. 2012; 1: 630-41.
- 19) Sack MN, Finkel T. Mitochondrial metabolism, sirtuins, and aging. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012; 4: pii: a013102.
- 20) Ito K, Colley T, Mercado N. Geroprotectors as a novel therapeutic strategy for COPD, an accelerating aging disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2012; 7: 641-52.
- 21) Yao H, Chung S, Hwang JW, Rajendrasozhan S, Sundar IK, Dean DA, et al. SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122: 2032-45.
- 22) Takasaka N, Araya J, Hara H, Ito S, Kobayashi K, Kurita Y, et al. Autophagy induction by SIRT6 through attenuation of insulin-like growth factor signaling is involved in the regulation of human bronchial epithelial cell senescence. *J Immunol*. 2014; 192: 958-68.
- 23) Okamoto K, Kondo-Okamoto N. Mitochondria and autophagy: critical interplay between the two homeostats. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1820: 595-600.
- 24) Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*. 2011; 333: 1109-12.
- 25) Hoffmann RF, Zarrintan S, Brandenburg SM, Kol A, de Bruin HG, Jafari S, et al. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells. *Respir Res*. 2013; 14: 97.
- 26) Hara H, Araya J, Ito S, Kobayashi K, Takasaka N, Yoshii Y, et al. Mitochondrial fragmentation in cigarette smoke induced-bronchial epithelial cell senescence. *Am J Physiol*

- Lung Cell Mol Physiol. 2013; 305: L737-46.
- 27) Ito S, Araya J, Kurita Y, Kobayashi K, Takasaka N, Yoshida M, et al. PARK2-mediated mitophagy is involved in regulation of HBEC senescence in COPD pathogenesis. *Autophagy*. 2015; 11: 547-59.
- 28) Jin SM, Youle RJ. PINK1- and Parkin-mediated mitophagy at a glance. *J Cell Sci*. 2012; 125: 795-9.
- 29) Mizumura K, Cloonan SM, Nakahira K, Bhashyam AR, Cervo M, Kitada T, et al. Mitophagy-dependent necroptosis contributes to the pathogenesis of COPD. *J Clin Invest*. 2014; 124: 3987-4003.
- 30) Barnes PJ. Mechanisms of development of multimorbidity in the elderly. *Eur Respir J*. 2015; 45: 790-806.
- 31) Fujita Y, Kosaka N, Araya J, Kuwano K, Ochiya T. Extracellular vesicles in lung microenvironment and pathogenesis. *Trends Mol Med*. 2015; 21: 533-42.
- 32) Fujita Y, Araya J, Ito S, Kobayashi K, Kosaka N, Yoshioka Y, et al. Suppression of autophagy by extracellular vesicles promotes myofibroblast differentiation in COPD pathogenesis. *J Extracell Vesicles*. 2015; 4: 28388.