3. 加齢による動脈硬化の分子機序

飯島 勝矢

Key words：血管老化，血管壁硬化，血圧変動，血管石灰化，細胞老化，長寿遺伝子 Sirtuins

(日老医誌 2012；49：307-310)

はじめに

William Osler 博士が『ヒトは血管と共に老いる』という言葉を残したように，加齢と共に血管老化が進行し，様々な動脈硬化性疾患の発症につながる。「なぜ歳を重ねると血管は硬くなっていくのか」という疑問に対して，以前から幅広いアプローチでの研究がなされてきた．特に近年では血管石灰化に対する分子機序の解明が進むことによって，従来のなれの果てとしての現象ではなく，確実に治療ターゲットとしての位置づけに入ってきている．その中でも，動脈硬化形成には血管構成細胞の細胞老化形質が背景にあることが示唆されている．本稿では血管壁硬化に注目し，血管石灰化の形成過程に細胞老化形質がどのように関わっているのかを概説する．

加齢と動脈壁硬化：臨床面から

動脈硬化には，血管壁への脂質沈着とそれを貪食したマクロファージの浸潤・蓄積によって粥状動脈硬化巣（プラーク）の形成が進む「atherosis」という側面と，血管壁自体が硬化・変性し stiffness が増加する「arteriosclerosis」という側面がある．図1に示すように，老化血管の病理学的特徴は，エラスチンの脱落・変性，コラーゲン沈着，そして石灰沈着に代表される．特に，血管石灰化は高齢者の不安定な血行動態を惹起し，相対的臓器虚血を背景に脳心血管イベント発症やその予後を規定する大きな因子である．様々な動脈硬化関連危険因子もそのリスクになり得るが，より高齢であること自体で血管壁硬化による血行動態への影響が出やすくなってくる．特に頸動脈狭窄や頭蓋内血管病変を持ち合わせている高

齢者は，無症候性であっても相対的脳虚血に曝されており，また脳微小血管障害の一つとして白質病変の進行にもつながりやすい．

血管石灰化には，①糖尿病・腎不全などによく認められるメンケベルグ型血管中膜石灰化，②粥状動脈硬化巣に起こるアテローム硬化性石灰化，の2つに大別される（図2）．特に高齢者においては，この両者のパターンが混在していることも多い．中でも血管中膜石灰化は血管平滑筋細胞を中心に形成され，高齢者に特徴的な収縮期高血圧を惹起し，血圧変動の増大や起立性低血圧などの誘因にもなり，ひいては心肥大を背景とする拡張不全型心不全や冠動脈疾患，脳卒中などの病態の温床になりやすい¹⁾．

我々は無症候性一般外来患者において，胸部単純X線の正面像で認められる大動脈弓石灰化の程度を4グレードに分類したところ，年齢が上昇するとその石灰化グレードは上昇していたことを報告した（図3）²⁾．追跡調査（平均40±19カ月）において大動脈石灰化の程度に比例して心血管イベント発症が増加した³⁾．以上のことから，通常診療において中等度以上の大動脈弓石灰化を確認した場合，「vulnerable patient」である可能性を想定しながら，幅広い検査におけるスクリーニングが必要であろう．

加齢と動脈壁硬化：血管石灰化の分子機序

血管石灰化の分子機序として，血管平滑筋細胞の骨・軟骨様細胞への形質転換とアポトーシスの関与が数多く報告されており，そこにマクロファージを代表とする炎症細胞の関与も重要とされている．血管平滑筋細胞から由来する粒子がマトリックス小胞（matrix vesicles：MV）と類似してカルシウム沈着の核として働く⁴⁾．その小胞にはアポトーシス促進蛋白が発現しており，血管平滑筋細胞の細胞死も大きく関わっている⁵⁾．我々は高

Molecular mechanism of vascular calcification: Essential role of mammalian sirtuin SIRT1 in cellular senescence
Katsuya Iijima：東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座，東京大学高齢社会総合研究機構

図1 血管老化は血管「壁」硬化に代表される

老化により硬化した血管壁では、石灰沈着，コラーゲン沈着，そして生理的な弾性線維の主成分であるエラスチンの変性・脱落が複雑に起こっている．最終的には，動脈の弾力性を意味するふいご（windkessel）機能が低下し，脈波伝搬速度（pulse wave velocity：PWV）の上昇につながる（文献1から引用改変）．これらの現象は高齢者高血圧の特徴など，様々な臨床病態を惹起する．

図2 血管石灰化を背景とした循環動態の変化と心血管イベント発症との関連

血管石灰化には病理学的にメンケベルグ型血管中膜石灰化とアテローム硬化性石灰化に大別される．血管中膜石灰化は高齢者に特徴的な循環動態の不安定性を惹起し，心臓への後負荷も増大させる．一方，アテローム硬化性石灰化はプラーク破綻による急性冠症候群の発症に関与し，両者とも心血管イベント発症につながりやすい．

図3 胸部X線上的大動脈石灰化グレードはイベント発症予測因子になり得る

(A) 加齢に伴って増加してくる大動脈石灰化は、胸部レントゲン上で容易に確認できる。その石灰化のグレードを4つに分けてみると、やはり高齢者の方が大動脈石灰化のグレードは高い。(B) その大動脈石灰化グレード別に心血管イベント発症を追跡してみると、中等度以上に石灰化の強い集団の方が有意差をもって発症リスクが高かった。(著者らデータ：文献2, 3から引用改変)

図4 細胞老化から見る血管平滑筋細胞の石灰化現象

(A) 高リン刺激により血管平滑筋細胞に石灰化が誘導されるが、形成過程の初期に細胞老化形質(SAβ-gal 陽性)が先行する。そして、高リンにより SIRT1 発現低下と p21 発現の上昇が誘導される。Ac-H3 はアセチル化されたヒストンを表し、SIRT1 活性の低下を間接的に示す。(B) 分裂寿命の老化である Replicative senescence において、継代数を重ねた血管平滑筋細胞の方が高リン刺激による石灰化誘導に対して過剰反応を示し、SIRT1 発現低下と p21 発現上昇と大きく関与している (*: $p < 0.05$)。 (著者らデータ：文献8より引用改変)

リン状態における血管平滑筋細胞の石灰化現象には抗アポトーシス作用を持ち合わせている Growth arrest specific gene 6 (Gas6) とその受容体である Axl 系が抑制されることが重要であることをすでに報告している⁶⁾。

前述したように、老化血管には石灰化所見を多数認めることから、今回、我々は血管石灰化と細胞老化に関して検討を行った。老化を評価する一つの方法として senescence-associated β galactosidase (SA β -gal) 活性の亢進があり、幅広く用いられている。細胞老化を考える上で、分裂増殖を繰り返した後に一定のレベルで増殖を停止する（ヘイフリック限界）という、いわゆる細胞分裂寿命（replicative senescence）と、ストレス刺激を受け老化形質をとる stress-induced premature senescence の2種類が報告されている。そこに、テロメア短縮も大きく関わるが、もう一つの主役として細胞周期調節因子 Cyclin-dependent kinases (CDKs) であり、その CDK を抑制する因子（CDK inhibitor）として p21 が大きな役割を担う⁷⁾。

そこで我々は、血管平滑筋細胞石灰化において、細胞老化研究の中でも長寿遺伝子としてヒストン脱アセチル化酵素である Sir2 (silent information regulator-2) の一つ SIRT1 の役割について注目した。これは寿命の延長する酵母株から同定され、下等生物から哺乳類まで高度に保存されており、哺乳類ホモログとして7種類の Sirtuin ファミリー (SIRT1 から SIRT7) が存在している。筆者らは細胞外リン刺激によるヒト大動脈平滑筋細胞における石灰化誘導モデルを用いて、細胞老化との関連の視点から検討した。高リン刺激により血管平滑筋細胞の石灰沈着が上昇する訳だが、それに先行して細胞老化 (SA β -gal 活性陽性細胞の増加) が誘導され、それに平行して SIRT1 発現の減少と p21 発現の上昇も認められた (図 4A)⁸⁾。それらはアデニン投与によるラット腎不全モデルでの大動脈石灰化においても、大動脈中膜に老化形質を取った細胞が著明な石灰沈着の前から確認された。そして血管平滑筋細胞の石灰化に対して、SIRT1 活性の activator であるレズベラトロールを添加することで、老化形質細胞の数を現象させるだけではなく石灰沈着までも抑制できた。逆に、siRNA により SIRT1 をノックダウンすると、高リン刺激による老化形質を背景とした石灰化現象が著明に助長された。また、分裂寿命の老化である Replicative senescence において、継代数を重ねた血管平滑筋細胞の方が高リン刺激による石灰化誘導に対して過剰反応を示し、SIRT1 発現低下と p21

発現上昇に大きく起因していた (図 4B)⁸⁾。我々の得た結果は、SIRT1 の活性化が血管石灰化を抑制する一つのアプローチになり得る可能性を示唆している。

さいごに

細胞老化の観点から血管壁硬化を作り出す血管石灰化について概説した。近年の研究により血管石灰化の分子機序が徐々に明らかになりつつあるが、細胞老化を背景としての詳細なメカニズムはまだ解明が不十分である。今回、我々の新たな知見から、血管平滑筋細胞の老化形質転換が石灰化の発生・進展に大きく関与していることは間違いなさであろう。そして、血管石灰化に対する今後の治療戦略の一つとして、SIRT1 調節が大きなターゲットになり得る可能性がある。血管石灰化を抑制・予防することが可能な時代に入っていくために、今後のさらなる研究が必要である。

参考文献

- 1) O'Rourke MF, Hashimoto J: Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1-13.
- 2) Hashimoto H, Iijima K, Hashimoto M, Son BK, Ota H, Ogawa S, et al: Validity and usefulness of aortic arch calcification in chest X-ray. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16: 256-264.
- 3) Iijima K, Hashimoto H, Hashimoto M, Son BK, Ota H, Ogawa S, et al: Aortic arch calcification detectable on chest X-ray is a strong independent predictor of cardiovascular events beyond traditional risk factors. *Atherosclerosis* 2010; 210: 137-144.
- 4) Hsu HH, Camacho NP: Isolation of calcifiable vesicles from human atherosclerotic aortas. *Atherosclerosis* 1999; 143: 353-362.
- 5) Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, et al: Apoptosis and Related Proteins in Different Stages of Human Atherosclerotic Plaques. *Circulation* 1998; 97: 2307-2315.
- 6) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Nakano T, Akishita M, et al: Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a central role in the effect of statins on inorganic phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2007; 556: 1-8.
- 7) Kunieda T, Minamino T, Nishi J, Tateno K, Oyama T, Katsuno T, et al: Angiotensin II induces premature senescence of vascular smooth muscle cells and accelerates the development of atherosclerosis via a p21-dependent pathway. *Circulation* 2006; 114: 953-960.
- 8) Takemura A, Iijima K, Ota H, Son BK, Ito Y, Ogawa S, et al: Sirtuin 1 Retards Hyperphosphatemia-Induced Calcification of Vascular Smooth Muscle Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 2054-2062.