腎臓と加齢現象：腎臓に発現する分子を中心として

久米 真司¹⁾ 古家 大祐²⁾ 前川 聡¹⁾

要 旨

加齢と共に多くの臓器で機能障害が出現する。腎臓も例外ではなく、多くの人で加齢と共に腎機能低下が生じる。加齢の要素単独で末期腎不全へ進行することは稀であるが、加齢に伴う腎機能障害は、生活の質の低下や医療介入の制約を生み出す。現在わが国では、栄養状態の改善ならびに医療技術の発展により寿命が大幅に延長しているが、一方で、このような健康寿命を如何に保証するかという新たな課題に直面している。この課題に対する数多くの研究成果として、加齢に伴う腎機能障害に関わる分子機構が徐々に明らかにされつつある。高血圧や糖尿病などの臨床的要素に加え、近年、angiotensin IIや酸化ストレス、Klotho, Sirt1, オートファジーといった腎局所の分子機構が腎老化と関連するという興味深い知見が得られている。本稿では、これら老化関連分子と腎老化との関わり、その治療標的としての可能性や問題点を概説させていただく。

〔日内会誌 102：2074～2081, 2013〕

Key words angiotensin II, Klotho蛋白, Sirt1, オートファジー

はじめに

進化の過程で獲得した数々の生命維持機構の破綻を疾患と捉えるのであれば、老化も一つの疾患ということになろう。しかし、老化が他の疾患と大きく異なる点は、全ての生物において不可避な生命現象であることにある。ヒトでも加齢と共に臓器障害が生じる。腎臓も例外ではなく、人種、性別、そして併存疾患によってその速度は異なるものの、ほぼ全てのヒトにおいて加齢と共に腎機能の低下が生じる¹⁾(図1)。臨

床の現場において、加齢のみが原因で末期腎不全へ至ることは稀であることから、加齢に伴う腎機能低下を「疾患」という概念で捉えるべきか否かは議論の余地がある。しかし、加齢に伴う腎予備能の低下は、腎疾患の併発時、あるいは、抗がん薬や造影剤などの腎毒性を有する薬剤使用時の大きな腎不全発症進展リスクとなる。その点からは、やはり加齢に伴う腎機能低下は、高齢者における医療上の大きな問題であり、その病態解明や進行予防法の開発は必要不可欠な研究課題である。

健常腎ドナーの腎組織から明らかとされたこ

¹⁾ 滋賀医科大学内科学講座糖尿病腎臓神経内科, ²⁾ 金沢医科大学糖尿病・内分泌内科学

The Cutting-edge of Medicine; New therapeutic targets for renal senescence.

Shinji Kume¹⁾, Daisuke Koya²⁾ and Hiroshi Maegawa¹⁾ : ¹⁾Department of Medicine, Shiga University of Medical Science, Japan and ²⁾Division of Diabetology and Endocrinology, Kanazawa Medical University, Japan.

図 1. 日本人における年齢と腎機能低下速度の関係. 性別を問わず, 加齢と共に糸球体濾過量は低下する. (文献 1 より引用)

とは, 年齢と共に糸球体や間質の線維化が進行するという事実である. また基礎研究から得られた重要な知見は, 線維化速度や腎機能低下速度を変化させうる制御可能な因子が存在するということである. これら因子を人為的に制御することが可能となれば, 腎臓のみならず多くの臓器における老化が抑制され, 高齢者における健康寿命延長の可能性が期待される. これまでの老化研究は, angiotensin II (AII), transforming growth factor β (TGF- β), advanced glycation end products (AGEs), 酸化ストレスの異常亢進が腎老化の病態形成に寄与していることを示してきた. また一方で, 動物モデルでの腎老化防止を目指した研究からは, *Klotho* 遺伝子や, カロリー制限に関連した抗老化分子 mammalian homolog silent information regulator 2 (Sirt1) あるいは細胞内浄化機構であるオートファジーによる腎保護作用が明らかにされつつある. 本稿では, これら腎老化に関わる腎局所の分子機構に焦点を絞り, 腎老化の病態や新たな腎老化予

防法の可能性について概説させていただく.

1. 腎老化促進因子

これまでの動物モデルによる腎老化研究の結果は, 加齢に伴う腎線維化を抑制するための新規介入方法の可能性を提示している. ここ 10 年の知見からは, 種々のホルモンや代謝産物が協調して加齢による腎線維化を促進させることが明らかとされている (図 2).

1) angiotensin II (AII)

レニン-アンギオテンシン-アルドステロン (RAA) 系は, 生物が陸上での生命維持を可能にする為に獲得したナトリウムならびに体液の恒常性維持機構であるが, 現在, RAA 系の過剰な作用が循環器疾患や腎疾患の主病因になっているという考えに異論はないであろう. その結果, AII シグナルを如何に抑制するかは研究の中心が置かれ, 数多くの RAA 系阻害薬の開発がすすめられた. 興味深いことに, AII シグナルは哺乳類

図2. 加齢に伴う腎機能低下を抑制しうる新規治療法の可能性。食事療法や運動による生活習慣の是正に加え、各種栄養シグナルの是正や抗酸化薬、AGEs阻害薬、RAA系阻害薬が新たな抗腎老化の標的となる可能性がある。

の老化に深く関与している。アンギオテンシンII受容体欠損マウスは野生型に比し長生きする²⁾。また高齢ラットにおいて、アンギオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬は、加齢と共に増加する糸球体内圧の上昇を抑制する結果、尿蛋白排泄の増加を抑制する。さらに、恒常的なACE活性の阻害やアンギオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)は、糸球体ならびに尿細管間質における線維化抑制効果を有しており、加齢に伴う腎線維化の抑制効果も期待されている³⁾。では、RAA系阻害薬は人の健康寿命を延ばすことができるのか？という点に大きな期待が生まれるわけであるが、ヒトを対象とした臨床研究によって加齢に伴う腎機能の低下を含む臓器の加齢現象を抑制したという知見はこれまでに見られない。また、いずれの動物実験も加齢の病態が形成される以前からの薬剤投与や遺伝子改変がなされたものであり、予防効果が示されたに過ぎない。既に臓器障害が形成されているような高齢者の臓器保護に有効であるのか否かは、安全性も含め更に検討を深める必要がある。

2) transforming growth factor β (TGF- β)

線維化は組織の修復過程に不可欠な生理反応であり、TGF- β はこの過程に不可欠なサイトカインの一つである。しかしAIIと同様に、TGF- β 作用の過剰は、腎老化を含む多くの腎疾患における腎線維化を促進させることから、その作用抑制は腎疾患の治療標的と考えられてきた。血液や組織の間質に存在するTGF- β は、細胞膜上の受容体に結合したのち、Smadと呼ばれる細胞内シグナルの活性化を介して細胞外基質蛋白の転写を活性化させる結果、線維化を促進する³⁾。TGF- β 産生を刺激する因子も多く同定されており、前述したAIIをはじめとして、血小板由来増殖因子、低酸素、酸化ストレスやAGEsなど、いずれも加齢に伴い腎局所に生じうる種々の刺激がTGF- β 産生を刺激する。加齢に伴うTGF- β 作用の亢進が、腎線維化を促進していることに疑いの余地はない。しかし、この作用が加齢に伴う腎組織修復過程における正常な反応であるのか、それとも病態としての異常亢進であるのかは未だ解決されていない。TGF- β 作用の減弱による腎線維化の抑制が腎機能の保持に繋がるか否かは今後の検

討課題である。

3) advanced glycation end products (AGEs: 終末糖化産物)

糖は生体の生命維持に不可欠なエネルギー源の一つである。生体内の糖は種々の物質に糖化修飾をもたすが、特に蛋白質のアミノ基に対する糖化修飾（メイラード反応）の結果生じる終末糖化産物（AGEs）は老化と深く関与している。糖の種類の違いによりNε-(carboxymethyl) lysine (CML), ピラリン, イミダゾロン, ペントシジン, クロスリン, ピロピリジンなどがある⁴⁾。糖化反応は糖尿病合併症の発症進展に特に関与するが、老化によっても生じる。AGEsは組織に直接沈着すること、あるいはAGE受容体に結合し、細胞内シグナルを介した線維化や炎症などを惹起させることで臓器障害を引き起こす。AGEsの前駆物質（メチルグリオキサール）の代謝によりAGEsによる細胞毒性を軽減しうるglyoxalase I酵素を過剰発現するラットは、加齢に伴い生じる腎線維化や腎機能の低下を有意に抑制することから、腎老化にAGEsが関与しうることは明らかである⁵⁾。AGEsによる老化促進に対する予防法としては、食事由来のAGEsの過剰摂取を控えること、糖化を抑制するような食事療法（カロリー制限）を行うことが重要であるが、近年の糖尿病合併症研究領域では、AGEsの産生阻害薬や分解促進薬、AGE受容体拮抗薬、血中AGEと結合しその作用を減弱するような核酸（aptamar）の開発などが進められている⁶⁾。これらが同様にanti-agingに応用できるか否か、大変興味深いところである。

4) 酸化ストレス

生体は糖と脂肪酸を材料として細胞内でATP (adenosine triphosphate) 産生を行い、細胞生命活動を維持している。このATP産生は主にミトコンドリアで行われており、大量の酸素を使用することから、この過程で大量の酸化ストレスを生み出すこととなる。この酸化ストレスは細

胞に強い毒性を示す為、細胞内には酸化ストレスを除去する為の高度な抗酸化システムが備えられている。しかし、加齢に伴う酸化ストレス除去能力の低下は、細胞内の酸化ストレスの増大を生み出し、更にミトコンドリア機能異常を引き起こすことで、酸化ストレス-ミトコンドリア異常のvicious circleを形成する⁷⁾。ビタミン製剤をはじめ、抗酸化ストレス薬による抗老化の可能性が期待されているが、実際の有効性は未だ不明である。既に酸化ストレスのvicious circleが出来上がった状況に、抗酸化ストレス薬という対処療法では老化に太刀打ちすることは困難なのかもしれない。

2. 腎老化抑制因子

腎老化促進に関わる因子の同定のみならず、腎老化抑制に関わる因子の同定も同時に進められてきた。近年新たに明らかとされた抗腎老化作用をもつ分子機構について概説させていただく（図2）。

1) Klotho

1997年にKlotho遺伝子を欠損したマウスが早老の表現系を示すことが明らかとされ⁸⁾、その後、Klotho蛋白を過剰発現するマウスが長寿となることが報告された⁹⁾。このように、Klotho蛋白を過剰に発現させることで、健康に悪影響を与えることなく長寿をもたらすという事実は、健康寿命の延長を目指す我々にとって特筆すべき知見である。このように、Klotho遺伝子が最も臨床応用可能な抗老化分子の一つとして着目されるようになり、多くのKlotho研究が進められた結果、腎臓（特に遠位尿細管細胞）、副甲状腺、脳脈絡叢上皮細胞で強く発現するKlotho蛋白の多彩な抗老化メカニズムが明らかとされた。興味深いことに、腎疾患とKlotho発現には密接な関連が存在している。前述のKlotho欠損マウスは、早老の表現系と共に末期腎不全を呈する。一方で、腎疾

図 3. 自由摂取に比し 40%のカロリー制限は、マウスにおける加齢に伴う腎糸球体ならびに間質の線維化を有意に改善し、細胞内の酸化ストレス (8-OHdG) の蓄積を減少させる。3 カ月齢の若年マウスの腎臓では線維化、酸化ストレスを認めないが、24 カ月齢の高齢マウスでは線維化 (上段: 青色)、酸化ストレス (下段: 茶色) が増加する。一方、この病変は 1 年間のカロリー制限により改善される。(文献 11 より引用)

患における腎内のKlotho発現は有意に低下する。これらの事実は、Klotho発現と腎臓病の発症進展の間にはvicious circleが存在すること、更には腎老化が全身の老化制御に関わるという可能性をも示唆している。分子基盤は明快でないが、Klotho発現の低下は腎線維化を促進し、Klotho発現の回復は各種腎疾患モデルの腎病変を改善し得る。Klotho蛋白の補充投与が可能となれば、腎老化の予防ひいては健康寿命の延長が期待できるかもしれない。

2) mammalian homolog silent information regulator 2 (Sirt1)

カロリー制限は下等生物を含む種々の生物において寿命延長をもたらす。哺乳類においては老化関連疾患の発症を予防しうる可能性が示されてきた。この 20 年間、カロリー制限を模倣し、抗老化をもたらす分子機構の解明を目指した挑戦が世界中で続けられてきた結果、NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素 (Sirt1) や細胞内浄化機構の一つであるオートファジーが、そ

の候補として脚光を浴びている。

細胞は細胞内外のエネルギー状態の変化を瞬時に把握し、生命活動の変化に直結させる必要がある。細胞内には細胞内のエネルギー状態を把握するセンサーが備えられている。その一つがSirt1である。Sirt1は細胞内のエネルギー欠乏状態で活性化される脱アセチル化酵素であり、細胞内NAD(nicotinamide adenine dinucleotide)濃度の変化を感知するエネルギーセンサーである¹⁰⁾。線虫や酵母などの高等生物からマウスなどの哺乳類まで、Sirt1発現を欠損させると、カロリー制限による寿命延長、抗老化効果が減弱消失する。哺乳類におけるSirt1には種々の機能が備わっており、抗酸化ストレス、ミトコンドリア機能の是正、ミトコンドリアの増生、オートファジーによる異常ミトコンドリアの排除、糖新生など生体のカロリー制限時に見られる現象の多くを調節している。腎老化とSirt1との関わりも明らかとされている。カロリー制限により、マウスの加齢に伴う腎線維化や酸化ストレスの

図4. オートファジー活性化制御機構：飢餓状態，異常オルガネラの蓄積が生じると，細胞質内オートファジー関連蛋白のカスケード経路の活性化が生じ，オートファゴソームが形成される．分解物質，オルガネラを含むオートファゴソームはリソソームと融合し（オートリソファゴソーム），リソソーム酵素で分解される．オートファジーの活性は細胞内エネルギー感知シグナル（AMPK/mTOR/Sirt1）により制御されており，食事制限（カロリー制限・飢餓・アミノ酸制限）により活性化される．

増大が抑制されること（図3），そして，その改善にはSirt1の活性化が必要であることが報告されている¹¹⁾．また，Sirt1ヘテロ欠損マウスでは腎老化が早期に進行するだけでなく，カロリー制限による抗腎老化作用が消失してしまうことも明らかとなっている¹¹⁾．その分子機構の検討からは，Sirt1活性の低下は細胞内の浄化機構の一つであるオートファジー活性の低下を介して腎内の異常ミトコンドリアや酸化ストレスといった老廃物の蓄積増加をもたらし，腎老化を促進させていることが示されている¹¹⁾．加齢とともに低下するSirt1活性を維持することが可能となれば，腎老化の新たな抑制手段となるかもしれない．今後，Sirt1活性化薬の臨床応用が期待される．

Sirt1に加え，腎臓にはmammalian target of rapamycin (mTOR)ならびにAMP (adenosine monophosphate)-activated protein kinase (AMPK)と呼ばれる細胞内栄養感知シグナルが存在する¹²⁾．何れもリン酸化酵素（キナーゼ）として働き，種々の蛋白のリン酸化を介して細胞の生命活動の制御に寄与している．前者は過栄養（インスリンなどの成長因子や糖，アミノ酸）によって活性化され，後者は細胞内飢餓による細胞内AMP濃度の上昇により活性化される．腎

老化における両シグナルの役割はいまだ明らかとはなっていないが，前者の活性化は糖尿病性腎症などの腎病変形成に関わることで，またmTORの選択的阻害薬はマウスの寿命延長をもたらすことから，mTORの過剰亢進が腎老化に関わる可能性も十分に考えられる．一方，Sirt1同様に飢餓時に活性化されるAMPKの活性化は各種腎障害モデルの改善をもたらすことが報告されており，カロリー制限による腎保護の一端を担っている可能性があり，その活性化薬は一つの抗老化薬として期待される．

3) オートファジー

前述したオートファジーは，近年種々の老化関連疾患の発症に関連する分子機構として着目されている．オートファジーとは日本語にすると「自食作用」と訳される．このオートファジーは飢餓時や異常たんぱく質，異常オルガネラの蓄積時に最も強く活性化される．オートファジーの活性化時には，細胞質内にオートファゴソームという新たな隔離膜が形成され，細胞質ごと標的分子やオルガネラが隔離され，リソソームへと運搬されたのち，リソソーム酵素により分解される¹³⁾（図4）．このようにオートファジーは大規模な細胞内分解系であり，細胞の恒常性維持に不可欠な役割を果たしている．近年，この

オートファジー機能の破綻と種々の疾患とのかわりが報告されている。腎臓でも、糸球体上皮細胞ならびに近位尿細管細胞でオートファジー活性を消失するマウスを作製すると、それぞれ加齢に伴う糸球体障害、尿細管細胞障害の増悪をもたらす^{14, 15)}。この結果は、腎老化においてもオートファジーが腎保護的に働いていたことを示している。興味深いことに、オートファジーの活性は、前述した3つの栄養感知シグナルにより調節されている。栄養感知シグナルの老化への関わりはオートファジー活性によって説明できるのかもしれない。全ての人にオートファジーを活性化することが有益なのか否かなど、未だ多くの議論すべき点は残されているが、オートファジー活性が低下している状態での再活性化が治療標的の一つとなり得る事を期待したい。

このように、栄養と健康寿命は切っても切れない関係にあるようである。もちろん、飢餓や低栄養の時代に戻る方が良いわけではない。「過ぎたるは猶及ばざるが如し」とあるように、過剰な栄養摂取が問題なわけである。生体は長らく飢餓に晒され、飢餓を克服する為の機能を進化させてきたが、栄養状態の改善が寿命延長をもたらした半面、過剰な栄養摂取は飢餓時に発揮しうる細胞内のストレス応答機能を抑制する結果となり、生活習慣病や老化の促進に寄与するという皮肉な結果を生み出している。どれくらいのカロリーが適切なのか？残念ながら、ヒトの寿命や健康寿命を標的とした、何十年もの臨床研究を行うことは困難であり、人の健康寿命の延長をもたらすための適切な食事介入方法を規定するのは現時点では難しい。カロリー制限が有する健康に有用な機能を特異的に引き出す「カロリー制限模倣薬」が健康寿命の延長をもたらす一つの特効薬として登場することを期待したい。カロリー制限や飢餓時に発揮される生体の適応反応には、我々の知らない未知の能力が隠されている気がしてならない。

3. 結 論

老化現象は単一の原因で生じるものではなく、老化を抑制するには個々の臨床的背景に応じた対応が必要である。本稿では、加齢に関わる代表的な分子、特に近年明らかとされた分子に焦点を絞り概説させていただいた。勿論、これらの因子以外に多くの分子が複雑に絡み合い老化は進行する。生物が進化と共に発達させてきた生命維持機構を正確に把握し、その機構の破綻と老化との関係の一つ一つ紐解いていくことが健康寿命の延長を目指した研究には必要と思われる。ここで紹介した知見を背景に、新たに多くの研究者が老化研究に携わって頂き、老化に関わる新しい発見が生まれる事を祈念している。本稿が今後の抗老化研究の発展、successful aging達成の一助となれば幸いである。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Imai E, et al: Slower decline of glomerular filtration rate in the Japanese general population: a longitudinal 10-year follow-up study. *Hypertens Res* 31: 433-441, 2008.
- 2) Benigni A, et al: Disruption of the Ang II type 1 receptor promotes longevity in mice. *J Clin Invest* 119: 524-530, 2009.
- 3) Heldin CH, et al: TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 390: 465-471, 1997.
- 4) Goldin A, et al: Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 114: 597-605, 2006.
- 5) Ikeda Y, et al: Glyoxalase I retards renal senescence. *Am J Pathol* 179: 2810-2821, 2011.
- 6) Kaida Y, et al: DNA aptamer raised against AGEs blocks the progression of experimental diabetic nephropathy. *Diabetes* 2013, in press.
- 7) Finkel T, Holbrook NJ: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239-247, 2000.
- 8) Kuro-o M, et al: Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 390: 45-51,

- 1997.
- 9) Kurosu H, et al : Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science* 309 : 1829–1833, 2005.
- 10) Liang F, et al : SIRT1 and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 5 : 367–373, 2009.
- 11) Kume S, et al : Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. *J Clin Invest* 120: 1043–1055, 2010.
- 12) Inoki K, et al : AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 52 : 381–400, 2012.
- 13) Mizushima N, Komatsu M : Autophagy : renovation of cells and tissues. *Cell* 147 : 728–741, 2011.
- 14) Hartleben B, et al : Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice. *J Clin Invest* 120 : 1084–1096, 2010.
- 15) Kimura T, et al : Autophagy protects the proximal tubule from degeneration and acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* 22 : 902–913, 2011.