血管老化研究の最前線

池上 龍太郎, 清水 逸平, 吉田 陽子, 南野 徹

要 旨

血管は、加齢に伴って構造的・機能的変化を来し「老化」する。加齢に伴い、高血圧や糖尿病などが合併することで、血管老化はさらに加速し、心血管疾患が発症するリスクは大きく上昇する。老化のプロセスには未解明な点が多く存在するが、一定の制御機構を伴う生命現象であることが広く認識されるようになってきている。最近の研究報告により、「細胞レベルの老化」が「個体や臓器の老化」、「老化疾患の発症」に深く関連することがわかってきた。本稿では、血管老化のメカニズムについて細胞老化を中心に概説し、老化そのものを治療標的とした次世代の治療戦略について考えてみたいと思う。

〔日内会誌 106 : 1652~1658, 2017〕

Key words 加齢, 血管機能低下, 細胞老化

はじめに

「人は血管とともに老いる」という言葉を、内科医であったWilliam Oslerが残したのは19世紀であるが、その考えが正しいことが今日明らかとなってきた。

公衆衛生の改善および医学の発展に伴い、平均寿命が大きく延びたことで、老化そのものや、老化に伴って増加する疾患（老化関連疾患）に向き合う機会はますます多くなっている。狭心症や心筋梗塞などの心血管疾患は代表的な老化関連疾患であるが、血管自体の加齢性変化に加え、高血圧や糖尿病、脂質異常症などの様々な動脈硬化促進因子を合併することで病態が進行する。本稿では、血管老化のメカニズムに関する最新の知見を概説し、老化のプロセス自体

を治療標的とした、全く新しい心血管疾患治療の可能性について考えてみたいと思う。

1. 血管の加齢性変化

ヒトの血管は加齢に伴い、構造的・機能的変化を来す（図1）。大動脈のような弾性型動脈では、加齢により血管が構造的リモデリングを起こし、内膜が肥厚して血管壁が厚くなることで、血管コンプライアンス（血管の伸展性を示す指標）の低下を招く。また、血管老化の指標として用いられる脈波速度は、血管壁厚の増大に加え、血管細胞外マトリックスの変化や動脈壁石灰化などの構造的変化に由来する血管の硬さを反映し、加齢に伴って脈波速度は上昇する。老化した血管は、構造的変化に加え、様々な

新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器内科学

The Cutting-edge of Medicine ; Cutting edge research on vascular aging.

Ryutaro Ikegami, Ippei Shimizu, Yoko Yoshida and Tohru Minamino : Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Japan.

図1 老化に伴う血管機能障害

機能的変化も来す。血管内皮を介した血管拡張は加齢とともに低下する。アセチルコリンを冠動脈に注入すると内皮を介した血管拡張反応が誘導されるが、高齢者ではこの反応が有意に低下する。また、高齢者では易血栓性が亢進し、血栓塞栓症が増加するが、これには血管内皮細胞に由来する抗血栓因子の低下が関与することがわかっている。これらの事実は、血管内皮が構造的バリアーとしての役割を持つことに加え、血管の拡張や収縮ならびに凝固に関与することで血管の恒常性を多面的に制御することを示している。加齢に伴う血管の機能的リモデリングには、様々な生理活性物質が深く関与しており、次項でその詳細について概説する。

2. 血管の構造的・機能的変化に関与する分子

血管内膜の肥厚は、活性化した血管平滑筋細胞が中膜から遊走し、内膜で増殖することで引き起こされる。血管平滑筋の遊走は、IL (interleukin)-1, MCP (monocyte chemoattractant protein)-1, TGF (transforming growth factor)- β などの炎症性サイトカインや、血小板由来成長

因子などの増殖因子の発現が増加することで誘導される。また、細胞外基質の変化として、平滑筋細胞に由来するコラーゲン分泌が増加し、エラスチンの産生が低下することで、コラーゲン/エラスチン比の増大が起こり、血管の伸展性が低下する。

加齢による血管の機能的変化のメカニズムとして重要なのが、血管内皮細胞における一酸化窒素 (nitric oxide : NO) の産生低下である。NOは血管拡張物質として重要なだけでなく、炎症性細胞の接着や平滑筋細胞の遊走・増殖反応の抑制、抗酸化ストレス作用など、抗炎症・抗老化物質としての側面も有する多面的分子である。

NOの産生には、血管内皮細胞に存在する内皮型NO合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase : eNOS) が重要であるが、老化に伴い、その発現は低下する。また、糖尿病や喫煙などの動脈硬化危険因子の存在下では、活性酸素種の増大を認めるが、NOは活性酸素と容易に結合して強い細胞毒性を示すペルオキシナイトレートに変換されることで、血管内皮障害を加速する。NOと同様に、プロスタサイクリンも血管内皮細胞から産生される血管拡張分子の1つであり、炎症性細胞の接着抑制や血小板活性化抑制

図2 血管内皮細胞の老化に伴う形態変化
およそ50～80回の分裂後、ヒト血管細胞は老化し、分裂を停止する。老化した細胞では、図のような形態変化が認められる。

作用も有するが、その産生も加齢とともに低下する。一方で、アンジオテンシンII (Ang II) やエンドセリン、トロンボキサンA2といった血管収縮分子の産生は加齢とともに増加する。特にAng IIは、増殖シグナルとして細胞老化や平滑筋の増殖、炎症性サイトカインの増加などに関与し、老化に伴う血管リモデリングの進行に中心的役割を担う。また、プラスミノゲン活性化抑制因子の発現は老化に伴い低下し、線溶系が抑制されることで易血栓傾向となり、様々な動脈硬化関連疾患の病態が形成・促進される。

3. 血管細胞老化のメカニズム

血管の加齢性変化には、上記の様々な機能的分子の発現レベルの変容に加え、細胞レベルの老化が関与していることが近年明らかとなってきた。細胞老化に陥った細胞は分裂を停止し、形態的变化に加え、遺伝子発現プロファイルの変容が生じる。通常、ヒト正常体細胞の分裂は有限であり、一定期間の増殖後に細胞の分裂は停止するが、細胞老化は細胞が不可逆的に分裂停止した状態と定義される (図2)。老化細胞で

は、IL-6, MCP-1, TNF (tumor necrosis factor, 腫瘍壊死因子)- α などの炎症関連分子の発現・分泌が亢進し、マクロファージをはじめとする炎症細胞浸潤が誘導されることで慢性炎症が惹起され、組織リモデリングが進行する。老化細胞が示すこの形質は、SASP (Senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれている。細胞老化に陥った細胞が生体内に蓄積していくことが個体老化のメカニズムの1つであり、様々な老化関連疾患の病態基盤を形成すると考えられている (細胞老化仮説)。実際、急性冠症候群症例の冠動脈を老化細胞染色 (SA- β -gal染色) で観察すると、病変部位である冠動脈では老化した血管内皮細胞 (SA- β -gal陽性細胞) が認められるのに対し、非動脈硬化巣である内胸動脈では老化細胞の蓄積が認められなかった (図3)¹⁾。老化細胞は、ヒトの血管壁において、加齢そのものにより増加することも報告されている²⁾。

細胞老化は、様々なストレスに応じて細胞が自らの増殖を停止させ、DNA (deoxyribonucleic acid) 修復や細胞死に向かわせることで癌抑制機能を果たすことが本来の役割と考えられる。細胞を老化させるシグナルは、癌抑制蛋白p53

図3 血管組織における老化細胞 (文献1より改変)

冠動脈疾患患者から得られた冠動脈と内胸動脈を用いてSA-β-gal染色を行った。写真は血管の内腔を示している。濃染している部分(青色)は老化した細胞領域を表している。

もしくはp16/pRBを介する2つのシグナル経路が重要である。p53はDNA損傷に対する細胞応答のメディエーターであり、サイクリン依存性キナーゼ抑制因子p21を誘導する。p16/pRB経路は、染色体の再構成を促し、細胞周期調節因子の発現を制御する。これらの細胞老化シグナルは、DNA損傷、酸化ストレス、過剰な増殖シグナル、栄養感知シグナルなどの様々な刺激により誘導されることがわかっている。また、p53シグナルを介した血管細胞老化は、心不全や糖尿病の病態をさらに増悪させ、負のスパイラルを形成することも最近明らかになった。心不全に伴う過剰な交感神経シグナルは、活性酸素種のレベルの増加を介して血管内皮細胞におけるp53の発現を上昇させるが、これにより細胞接着因子の発現が上昇し、心臓への炎症細胞浸潤が促進されることで、心臓リモデリングが進行することがわかった³⁾。また、肥満ストレスに伴い、血管内皮細胞でp53のレベルが上昇すると、骨格筋代謝の低下を招き、全身の糖代謝障害が増悪することも明らかとなった⁴⁾。このようにして、血管細胞老化は老化関連疾患の発症と進行に深く関与する。以下に、実際に血管細胞の老化が誘導されるメカニズムとそれに関わる細胞内シグナルについて概説する(図4)。

1) テロメア短縮およびDNA損傷

テロメアは染色体の両端に存在するリピート構造で、染色体の保護や複製に重要な役割を果たす。テロメアは細胞の分裂に伴い徐々に短縮し、一定の長さまで短縮するとDNA損傷として認識され、主にp53シグナルを介して細胞老化が誘導される。実際、老化に伴いテロメア長が短縮すること、テロメアの短縮しているヒトの集団では寿命が短いことは人で報告されている。また、テロメアの伸長反応酵素であるテロメラーゼを欠失したマウスでは、テロメアの短縮に伴いp53のレベルが上昇し、加齢性変化と寿命の短縮を認めた⁵⁾。それとは反対に、テロメア長の短縮を抑制すると老化のプロセスが抑制されることも明らかとなっている。これらの事実により、テロメアの短縮が老化のプロセスに最も重要な要素の1つであると広く認識されるに至った(テロメア仮説)。

ヒト血管内皮細胞を用いた検討では、テロメア障害モデルで細胞老化と細胞死が誘導され、eNOSの発現低下や炎症性サイトカインの発現亢進が生じた⁶⁾。一方で、テロメラーゼを導入してテロメア長が保持されたモデルの血管では細胞老化は抑制され、血管機能障害は生じなかつ

図4 血管細胞老化シグナルと治療戦略

た。ヒトの血管においても、テロメアの短縮が加齢や動脈硬化と関連することが示されている。例えば、ヒト大血管の内膜では、加齢とともにテロメアの短縮がみられることや、虚血性心疾患患者の冠動脈内皮細胞や血管平滑筋細胞のテロメアは有意に短縮していることが報告されている。また、末梢血白血球を用いた検討でも、肥満、インスリン抵抗性、糖尿病患者ではテロメアの短縮が進行することが明らかとなっている。酸化ストレスはテロメア短縮を促進する因子であることから、これらの病態では、酸化ストレスによるテロメア短縮の進行が細胞老化を促進させているものと考えられる。

2) アンジオテンシンII (Ang II)

細胞老化の誘導は、テロメアに依存しない機序も存在する。Ang IIを血管平滑筋細胞に作用させると細胞老化が誘導されるが、テロメア短縮は伴わない。動脈硬化モデルとして知られるアポリポ蛋白E欠損マウスにAng IIを長期投与すると、動脈硬化が進行し、動脈瘤の形

成および破裂により死亡する⁷⁾。これらの血管壁では老化細胞が増加し、p53/p21シグナルの増加を認める。一方で、これらのマウスからp21を欠損させ、老化シグナルを抑制すると、老化細胞数の減少と炎症性サイトカインの著明な低下を認めた。その結果、動脈瘤の形成が抑制され、破裂による死亡もほとんど生じなくなった。Ang IIは下流において細胞増殖シグナルであるRas/MAPKシグナルを活性化することから、過剰な増殖シグナルを介して細胞老化を誘導していると考えられる。以上のことから、ACE (angiotensin-converting enzyme) 阻害薬やアンジオテンシンII受容体拮抗薬 (angiotensin II receptor blocker : ARB) によるAng IIの抑制は、細胞老化シグナルの抑制という観点からも重要と考えられる。

3) 栄養感知シグナル

細胞老化には、エネルギー代謝が深く関与している。食餌制限 (カロリー制限) には、種を越えて老化抑制・寿命延長効果があることは広

く知られているが、細胞のエネルギー代謝に関与する遺伝子や、栄養感知シグナルが老化のプロセスと深く関連することも明らかとなってきた。

(1) インスリンシグナル

適度なインスリンシグナルの活性化は生体の恒常性維持に不可欠である一方で、持続的かつ過剰なインスリンシグナルの活性化は老化を促進する可能性がある。高インスリン血症を伴う2型糖尿病マウスの動脈やヒト動脈硬化巣では、インスリンシグナルの下流に存在するAktの活性が上昇することが報告されている。血管内皮細胞にAktを過剰発現させるとp53/p21シグナルが上昇し、炎症関連分子の発現が亢進すること、それとは反対にAkt活性を阻害すると細胞老化が抑制されることもわかっている⁸⁾。2型糖尿病やメタボリックシンドロームなどの高インスリン血症を呈する病態では、インスリンシグナルが過剰に亢進しており、これによる血管細胞老化が、血管機能低下と動脈硬化巣の形成に中心的役割を担うと考えられる。

(2) Sirt1

老化を抑制する効果が明らかとなってきた栄養関連蛋白に長寿遺伝子として知られるSirt1がある。Sirt1はNAD (nicotinamide adenine dinucleotide) 依存性脱アセチル化酵素であり、p53, Foxo (Forkhead転写因子), NF- κ Bなど様々な核内転写因子を反応基質とすることで、細胞周期や老化シグナル、エネルギー代謝からストレス応答まで広範な生体反応に関与する。血管内皮細胞においてSirt1を阻害すると、寿命の短縮やeNOSの発現低下を認める一方、過剰発現することで酸化ストレスに対する抵抗性を獲得し、細胞老化は抑制される⁹⁾。Sirt1は、eNOSに直接結合し活性化することでNOの産生を増加させる作用も有する。抗血小板薬として用いられるシロスタゾールには、血管拡張作用や血管保護作用があることが知られているが、これにはeNOS-Sirt1シグナルを介した老化抑制が関与している可能性が示唆される。また、ポリフェノー

ルの一種であるレスベラトロールには、Sirt1の活性を上昇させる作用があることが知られており、動脈硬化抑制や降圧効果が期待されている。創薬という観点でSirt1を活性化させる化合物の開発も進められており、今後の臨床応用も期待される。

(3) AMPK

AMP活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase: AMPK) は、カロリー制限や運動など細胞内のATP (adenosine triphosphate) が枯渇するような状況で活性化され、ATPのレベルを回復させるように代謝を調節する。AMPKの活性化は、老化促進シグナルであるmTOR (mechanistic target of rapamycin, 哺乳類ラパマイシン標的蛋白) シグナルを抑制することで抗老化作用を有することがわかっている。また、血管内皮細胞におけるAMPKの活性はeNOSの活性を上昇させることも報告されている。糖尿病薬の1つであるメトホルミンは、間接的にAMPKを活性化させることが知られており、抗老化作用を介した血管機能改善効果も期待される。

4. 老化細胞除去による治療戦略

老化研究において、老化分子やシグナルを標的とした抗老化治療の可能性が模索されている一方で、近年全く異なる視点に基づいたアプローチが注目されている。生体内から老化細胞だけを特異的に除去することで、老化細胞の蓄積に伴う臓器機能の低下や老化関連疾患の発症、さらに個体老化そのものが抑制されることが最近明らかとなった。抗アポトーシス蛋白であるBCL-2およびBCL-xLの特異的阻害薬を経口投与すると老化細胞特異的に細胞死を誘導できることが報告されている¹⁰⁾。また、老化細胞を特異的に除去することができる遺伝子改変モデルマウスに動脈硬化を誘導したところ、動脈硬化巣が有意に抑制されることも明らかとなっ

た¹¹⁾。老化細胞除去というアプローチは、老化疾患の次世代の治療法となる可能性があり、さらなる研究の発展が期待される。

おわりに

老化のメカニズムについてはいまだ不明な点が多いものの、一定の制御機構を伴う生命現象であることがわかってきた。細胞老化が動脈硬化性疾患をはじめとする老化疾患の病態基盤を

形成する一方で、老化細胞を選択的に除去すれば老化プロセスが抑制されることが明らかとなっている。

細胞老化をターゲットとした抗老化アプローチは、血管のみならず、臓器横断的に適応可能な共通の治療法となる可能性を秘めており、今後の研究から臨床応用への道が開かれることが大いに期待される。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：清水逸平；寄附講座（ブルボン）、吉田陽子；寄附講座（ブルボン）

文献

- 1) Minamino T, et al : Endothelial cell senescence in human atherosclerosis : role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation* 105 : 1541-1544, 2002.
- 2) Marchand A, et al : The Wnt/beta-catenin pathway is activated during advanced arterial aging in humans. *Aging Cell* 10 : 220-232, 2011.
- 3) Yoshida Y, et al : p53-Induced inflammation exacerbates cardiac dysfunction during pressure overload. *J Mol Cell Cardiol* 85 : 183-198, 2015.
- 4) Yokoyama M, et al : Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity. *Cell Rep* 7 : 1691-1703, 2014.
- 5) Rudolph KL, et al : Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell* 96 : 701-712, 1999.
- 6) Minamino T, et al : Hypoxia extends the life span of vascular smooth muscle cells through telomerase activation. *Mol Cell Biol* 21 : 3336-3342, 2001.
- 7) Kunieda 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* 114 : 953-960, 2006.
- 8) Miyauchi H, et al : Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *EMBO J* 23 : 212-220, 2004.
- 9) Ota H, et al : Sirt1 modulates premature senescence-like phenotype in human endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 43 : 571-579, 2007.
- 10) Chang J, et al : Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22 : 78-83, 2016.
- 11) Childs BG, et al : Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354 : 472-477, 2016.