

- 1781.
48. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shiraishi K, Shimasaki T, Matsuoka K, Ando H, Fujiwara K, Fukunaga N, Aoki K, Nawata T, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Yoshimatsu H. Obesity-related chronic kidney disease is associated with spleen-derived IL-10. *Nephrol Dial Transplant* 2013 ; 28 : 1120-1130.
 49. Qu X, Zhang X, Yao J, Song J, Nikolic-Paterson DJ, Li J. Resolvins E1 and D1 inhibit interstitial fibrosis in the obstructed kidney via inhibition of local fibroblast proliferation. *J Pathol* 2012 May 18[Epub ahead of print].
 50. Ezequiel DG, Costa MB, Chaoubah A, de Paula RB. Weight loss improves renal hemodynamics in patients with metabolic syndrome. *J Bras Nefrol* 2012 ; 34 : 36-42.
 51. MacLaughlin HL, Sarafidis PA, Greenwood SA, Campbell KL, Hall WL, Macdougall IC. Compliance with a structured weight loss program is associated with reduced systolic blood pressure in obese patients with chronic kidney disease. *Am J Hypertens* 2012 ; 25 : 1024-1029.
 52. Mohan S, Tan J, Gorantla S, Ahmed L, Park CM. Early improvement in albuminuria in non-diabetic patients after Roux-en-Y bariatric surgery. *Obes Surg* 2012 ; 22 : 375-380.
 53. MacLaughlin HL, Hall WL, Patel AG, Macdougall IC. Laparoscopic sleeve gastrectomy is a novel and effective treatment for obesity in patients with chronic kidney disease. *Obes Surg* 2012 ; 22 : 119-123.
 54. Turgeon NA, Perez S, Mondestin M, Davis SS, Lin E, Tata S, Kirk AD, Larsen CP, Pearson TC, Sweeney JF. The impact of renal function on outcomes of bariatric surgery. *J Am Soc Nephrol* 2012 ; 23 : 885-894.
 55. Bolognani D, Zoccali C. Effects of weight loss on renal function in obese CKD patients : a systematic review. *Nephrol Dial Transplant* 2013 ; 28(Suppl 4) : iv82-iv98.

【腎臓と老化】

Renal aging

脇野 修・長谷川 一宏・藤村 慶子・伊藤 裕

Shu Wakino

Kazuhiro Hasegawa

Keiko Fujimura

Hiroshi Itoh

Key words

ミトコンドリア, mTOR, Sirtuin,
Parietal epithelial cell

要 約

腎臓はエネルギー消費の盛んな老化しやすい臓器である。腎臓内で重要な老化のシグナルとしてミトコンドリアよりの活性酸素過剰産生, mTOR経路の活性化, NAD⁺依存性脱アセチル化酵素 Sirtuin の不活性化, レニン・アンジオテンシン系の活性化などがあげられる。我々は消化管ホルモン Ghrelin がミトコンドリアの脱共役蛋白 UCP2 の発現上昇を介し活性酸素の産生を抑制し抗老化作用を有することを報告した。また糖尿病性腎症では老化の一形態である podocyte の欠落に対する parietal epithelial cell の補充の異常認められるが Sirtuin の過剰発現でこの異常が改善されることを示した。

はじめに

腎臓には心拍出量の 20% が流入し, 糸球体において一日約 150L の原尿が濾過され, その 99% が再吸収されるとともに一部の電解質, 老廃物は逆に分泌されている。この働きは ATP を必要とするエネルギー要求性の担体輸送により担われているものが多い。その意味では腎臓はエネルギーを常に消費する臓器であり, 疲弊しやすい臓器だと考えられる。そしてさまざまなシグナルが腎臓を構成する細胞, Podocyte や尿細管細胞の老化にかかわる。本稿では腎臓の老化にかかわる因子を述べるとともに, 腎構成細胞の老化と腎機能について概説する。

1. 老化にかかわる因子

1) ミトコンドリアと ROS

加齢のメカニズムに関する仮説のひとつである free-radical 説においてはミトコンドリア (Mit) の存在が重要である¹⁾。細胞においてはエネルギーすなわち ATP 産生は主に Mit での酸化リン酸化 (Oxidative phosphorylation, Oxphos) でまかなわれる。Oxphos では Mit 内の電子伝達系 (Electron Transport Chain, ETC) の複合体が電子を伝達し, その過程で ATP が産生される。その一方で ETC の complex I および III において電子伝達の過程で活性酸素が生じてしまう (図1)。Mit 内には MnSOD などの活性酸素 (Reactive Oxygen Species, ROS) を消去する radical scavenger が発現しているが, Scavenger の活性や発現が低下するか ROS が過剰産生されると過剰な ROS が Mit DNA や Mit タンパクに傷害を与える。その傷害により Mit の DNA の変異, ETC 蛋白の構造機能の変化が生じその結果, 活性酸素の産生がさらに亢進するという悪循環が生じる。この悪循環が長い年月積み重なり加齢に伴う組織の機能異常すなわち老化を引き起こされる。腎臓において加齢に伴いこの活性酸素による蛋白傷害が亢進していることが報告されている²⁾。我々はマウスにアンジオテンシン II を持続注入させると近位尿細管を中心に酸化ストレスの亢進とともに老化反応の促進が認められた。この老化の促進を消化管ホルモンであるグレリン (Ghrelin) がミトコンドリアでの活性酸素の過剰な産生を抑える分子である UCP-2 (Uncoupling

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科

Division of Endocrinology, Metabolism and Nephrology Department of Internal Medicine,
Keio University School of Medicine

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 TEL: 03-5363-3795

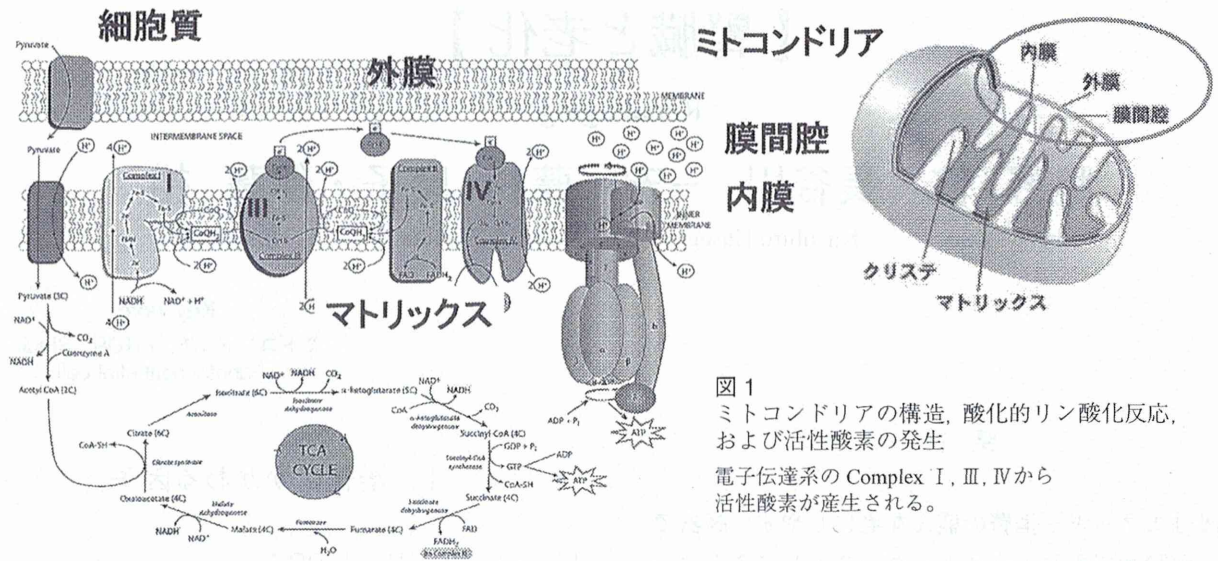


図1
ミトコンドリアの構造, 酸化的リン酸化反応,
および活性酸素の発生
電子伝達系の Complex I, III, IVから
活性酸素が産生される。

protein-2) の発現を上昇させることにより抑制することを明らかとした³⁾。さらにグレリン受容体欠損マウスでは腎組織の老化と活性酸素の産生の亢進とミトコンドリアの形態異常が認められ, 内因性のグレリンの Mit を標的とした抗酸化, 抗老化作用が示唆された(図2)。

2) mTOR シグナルと老化

カロリー制限により生体の寿命が延長することより, 栄養を感受する系が寿命を制御する可能性が示唆される。TOR (Target of Rapamycin) を中心とする細胞内シグナルがそのひとつである⁴⁾。哺乳類における TOR, mTOR はブドウ糖, 脂質, アミノ酸といった栄養素, さらにインスリンを始めとした成長因子により活性化するシグナル伝達分子である(図3)。mTOR の標的分子として S6 キナーゼ 1 (S6K1) および 4E-BP1 が同定されている。両者は細胞内の蛋白合成を亢進させ, 細胞増殖, 肥大に関与する。栄養過多の状態では mTOR は活性化し, 蛋白合成, 増殖, 肥大が進むが寿命は短縮する。mTOR の活性化で認められる老化にかかわる現象としては autophagy の抑制が想定されている⁵⁾。Autophagy は蛋白や細胞内小器官を分解して細胞内のエネルギーレベルやアミノ酸レベルを一定に保とうとする現象である。そして加齢現象の一つとして過剰な蛋白や, 傷害された DNA, 細胞内小器官の細胞内の蓄積が認められるが, これを処理する autophagy 作用の低下が想定されている。mTOR の過剰な活性化は蛋白合成が過剰になる一方で autophagy は低下し, 細胞内の過剰な蛋白や細胞内小器官の処理

が追いつかなくなる。その結果細胞のアポトーシスが誘導される(図3)。加齢に伴い腎臓における mTOR の活性化が認められ⁶⁾ 加齢に伴う腎機能低下にも mTOR の経路の活性化の関与が予想される。さらにその下流の autophagy の低下が腎機能低下に関与する報告も認められる⁷⁾。

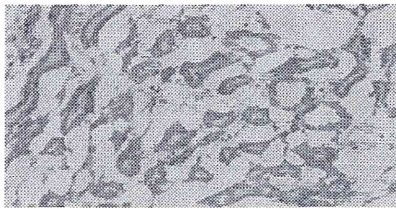
3) Sirtuin と寿命

カロリー制限 (CR) による寿命延長の原因遺伝子として Sir2 (Silent information regulator 2) が同定されている。その哺乳類のホモログである Sirtuin (Sirt) は NAD⁺ 依存性脱アセチル化酵素であり様々な組織においてエネルギーセンサーとして働き, エネルギーの有効利用を通し寿命の延長に貢献する。腎臓における Sirtuin 遺伝子の臓器保護的な働きが報告されている。Sirt1 遺伝子欠損マウスの解析では腎臓の片側尿管閉塞モデルにおいて髄質の酸化ストレスの増加と線維化の増悪が認められた⁸⁾。Sirt1 遺伝子欠損マウスではオーファジーの機能不全が認められ, 低酸素による障害ミトコンドリアの蓄積が認められた⁹⁾。我々の研究室の近位尿管細胞を用いた検討では Sirt1 は腎障害, 特にその発症初期に重要とされる尿管アポトーシスを抑制するとともに, FoxO3a の活性化と catalase の活性化を介し, 尿管の定常状態における酸化ストレスレベルを調節することを報告している¹⁰⁾。さらに近位尿管管特異的な Sirt1 過剰発現マウスを作製し, Sirt1 が虚血再灌流およびシスプラチンによる急性腎障害を抑制することを証明した¹¹⁾。近年近位尿管 Sirt1 が糸球体の tight junction 蛋白である claudin-1 の発現を epigenetic に調

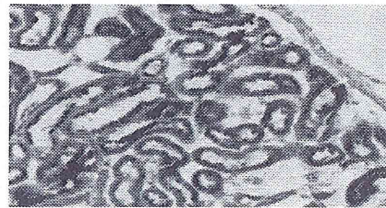
A. グレリン投与はアンジオテンシン II 持続投与による腎尿管老化, および酸化ストレス亢進を抑制する

SA-β Gal 染色 (老化細胞の染色)

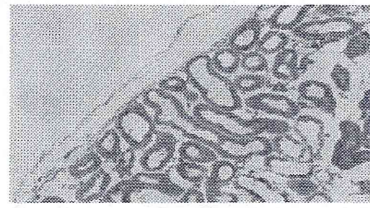
生理食塩水投与



アンジオテンシンII持続投与

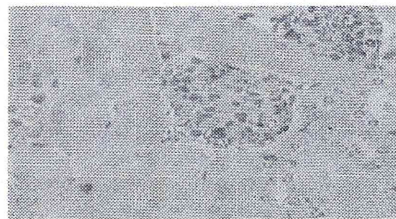


アンジオテンシンII持続投与 +Ghrelin

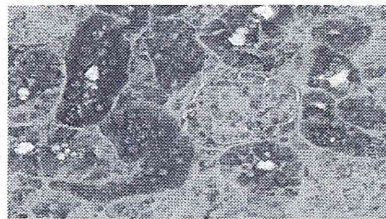


4HNE染色 (酸化ストレスの染色)

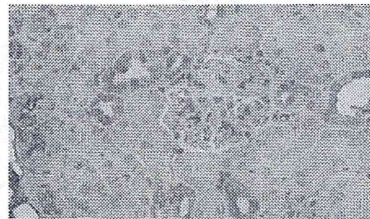
生理食塩水投与



アンジオテンシンII持続投与



アンジオテンシンII持続投与 +Ghrelin



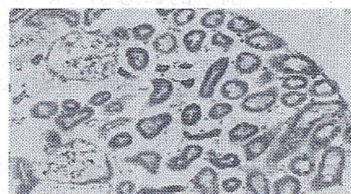
B. グレリン受容体欠損マウスでは腎尿管老化, 酸化ストレス亢進, ミトコンドリア形態異常を認める

SA-β Gal 染色 (老化細胞の染色)

野生型マウス

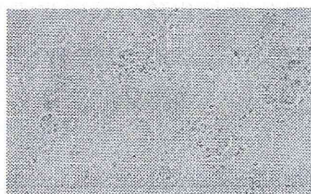


グレリン受容体欠損マウス



4HNE染色 (酸化ストレスの染色)

野生型マウス

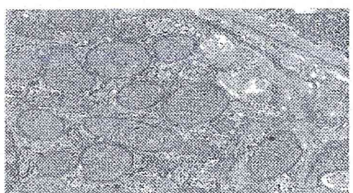


グレリン受容体欠損マウス



電子顕微鏡所見 (ミトコンドリアの変形)

野生型マウス



グレリン受容体欠損マウス



図2 グレリンの抗老化作用

グレリン投与はアンジオテンシンII持続投与による腎尿管老化および酸化ストレス亢進を抑制する(A) さらにグレリン受容体欠損マウスでは腎尿管老化, 酸化ストレス亢進, ミトコンドリア形態異常を認める(B) (文献3参照)

4) レニン・アンジオテンシン系 (RAS)

RASはアンジオテンシノーゲンを基質に, レニン, アンジオテンシン変換酵素(ACE)などアンジオテンシン産生酵素群およびそのレセプターよりなるホルモンシステムである。RAS活性化が寿命短縮にかかわることが報告された¹¹⁾。アンジオテンシンII(AngII) type I受容体欠損マウス(Agtr1a^{-/-}マウス)と野生型マウスではAgtr1a^{-/-}マウスの方が平均寿命で7ヶ月長寿であった。そしてAgtr1a^{-/-}マウスの方が血管, 心臓, 腎臓といったAngIIの標的臓器の障害が軽度であった。そのメカニズムとしてAgtr1a^{-/-}マウスにおいてAngIIにより産生される活性酸素が低下している点, 腎臓においてSirt3遺伝子が誘導されて

いる点, Sirtの活性化物質であるNAD⁺の組織レベルを上昇させるNicotinamide phosphoribosyltransferase(Nampt)の発現が上昇している点, Sirt3の活性化に伴い腎尿管細胞におけるミトコンドリアの数が増加している点などが示されている。

節し, 糸球体基底膜のスリット膜蛋白の異常を正常化し糖尿病性腎症の発症を抑制することも明らかにした¹²⁾。このような酸化ストレス調節機能やepigeneticな遺伝子発現調節機能は加齢に関連する疾患の発症抑制に働く可能性が示唆される。

いる点, Sirtの活性化物質であるNAD⁺の組織レベルを上昇させるNicotinamide phosphoribosyltransferase(Nampt)の発現が上昇している点, Sirt3の活性化に伴い腎尿管細胞におけるミトコンドリアの数が増加している点などが示されている。

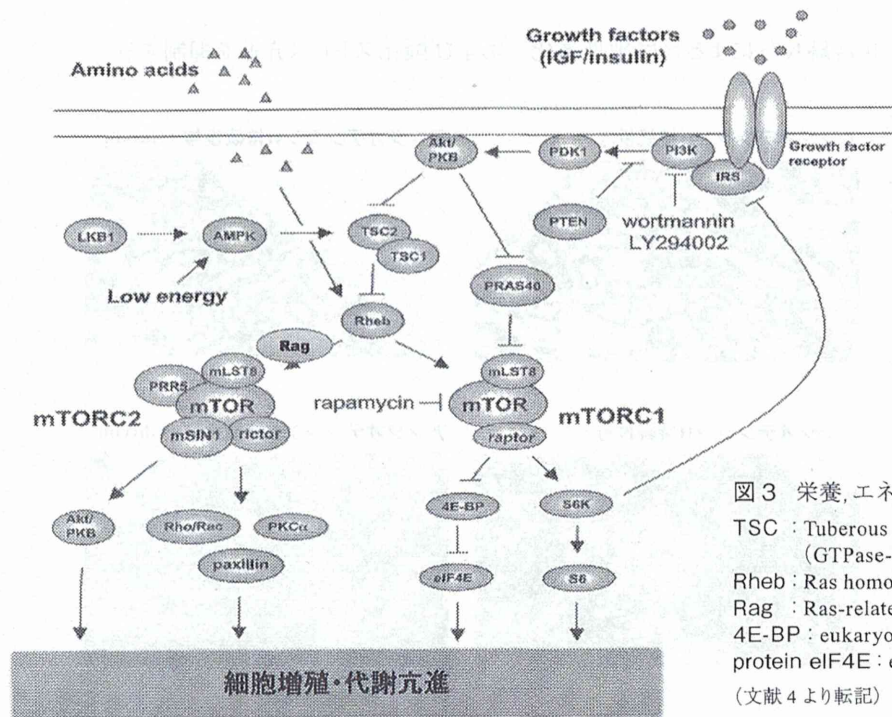


図3 栄養, エネルギーにより活性化する mTOR System
 TSC : Tuberous Sclerosis Complex, Rheb の GAP (GTPase-activating protein)
 Rheb : Ras homolog enriched in brain, small G protein
 Rag : Ras-related GTPase, small G protein
 4E-BP : eukaryotic translation initiation factor-4E binding protein eIF4E : eukaryotic translation initiation factor 4E
 (文献 4 より転記)

2. 腎構成細胞の老化

腎臓を構成する細胞のなかで近位尿細管細胞は尿細管での再吸収の 60-70% を占めており、エネルギー代謝が活発である。したがって活性酸素の発生しやすく、老化に陥りやすい細胞である。糖尿病では通常の telomere 短縮による老化 (Replicative senescence) に加え活性酸素亢進に伴う老化反応の加速 (stress-induced premature senescence) が認められる¹⁴⁾。老化細胞は p53, p21 といった細胞周期抑制因子の発現上昇による細胞周期停止と、TGFβ や PAI-1 といったサイトカインの分泌が亢進する。近位尿細管細胞におけるサイトカインの分泌亢進は間質の線維化を引き起こし、糖尿病性腎症や老化腎に特徴的な腎の線維化の原因となる。老化し細胞死となり欠落した近位尿細管細胞を補充する分裂能の強い細胞群は近位尿細管の S3 セグメント¹⁵⁾ もしくは腎乳頭部¹⁶⁾ にあると想定されている。老齢ラットではその分裂能が若年ラットの 10% 程度であることが証明されている¹⁵⁾。

糸球体のバリア機能、ろ過機能を司る podocyte は最終分化段階の細胞であり分裂能はない。したがって加齢に従い podocyte の欠落 (podocyte loss) が顕著となるとろ過機能の低下が明らかとなる¹⁷⁾。特に糖尿病では podocyte loss が亢進し、糖尿病性腎症の一つの病態となっている。近年この欠落 podocyte の補充の細胞としてのボーマン嚢壁側上皮細胞 (Parietal

Epithelial Cell, PEC) の意義が重要視されている。解剖学的にも明らかのようにボーマン嚢上皮から糸球体上皮は糸球体毛細血管の内皮細胞に接し始める糸球体血管極 (glomerular vascular pole) を通して連続している (図4)。すなわちこの PEC から podocyte の部分はいわば 2 つの細胞の移行帯 'transitional zone' である。PEC は増殖能や遊走能を有することは半月体形成の組織学的検討で明らかであり podocyte とは異なる性質を持つ。そして Möller らは片腎摘出後の残腎に遺伝的にラベルした PEC が糸球体の podocyte 領域に出現していることを証明し、podocyte の前駆細胞としての PEC の意義を報告した¹⁸⁾。

また PEC が加齢ラット (Fisher344 ラット) では podocyte 特異的なタンパクを発現していることも示されている¹⁹⁾。我々は糖尿病性腎症マウスにおいて PEC 特異的なマーカーである tight junction 蛋白 Claudin-1 がアルブミン尿出現期にボーマン嚢上皮のみならず糸球体にも発現していることを見出している¹²⁾。Podocyte においては nephrin, podocin といった slit 膜タンパクによりルースな細胞間結合が保たれるろ過機能が保たれており、Claudin-1 のような tight junction 蛋白は分化の過程で消失している。この異所性の Claudin-1 タンパクは既存の podocyte が発現しているのか、それとも PEC が podocyte に分化しないで入り込んでいるのか、また podocyte の補充の異常が糖尿病性腎症では生じているのかなどの問題を提起しておりこの現象は興味深いと思われる。

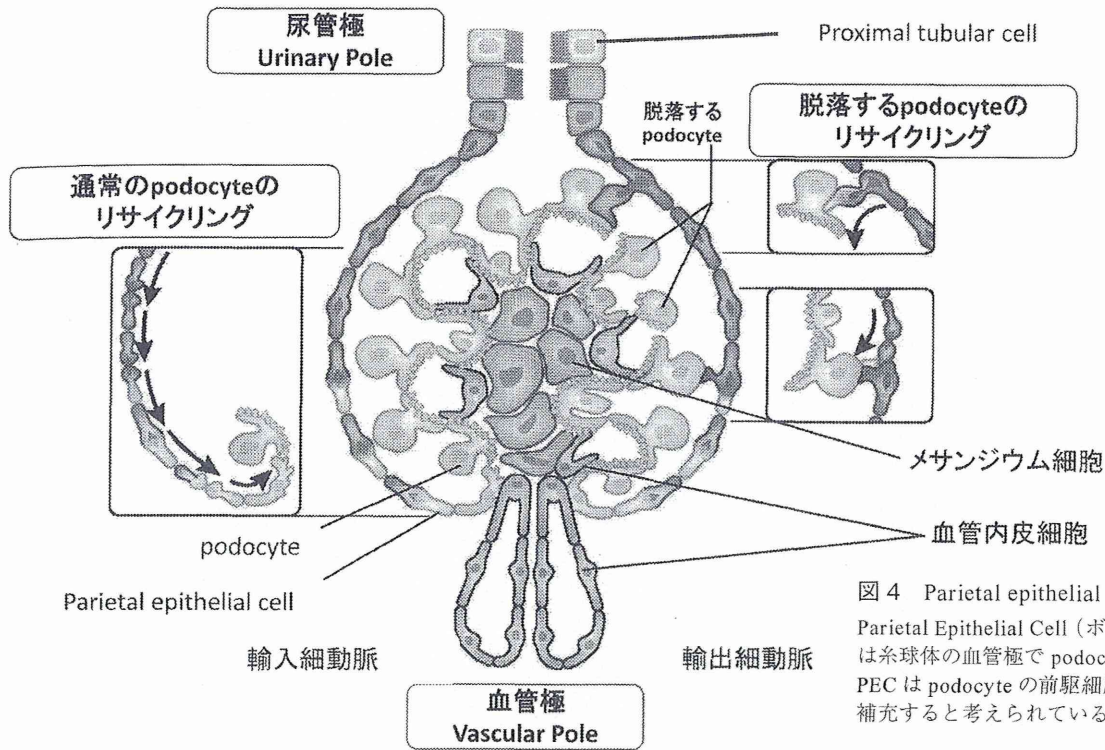


図4 Parietal epithelial cell と podocyte
 Parietal Epithelial Cell (ボーマン嚢壁側上皮, PEC) は糸球体の血管極で podocyte へ移行している。PEC は podocyte の前駆細胞で podocyte の欠落を補充すると考えられている。(文献 20 より改変して転記)

おわりに

腎臓と老化に関し、分子変化と細胞変化の両面から概説した。腎臓は加齢に影響を最も強く影響を受ける臓器であり、その逆に全身の内部環境を整える機能を有することより個体の加齢進行に影響を与える。したがって腎臓の機能低下は個体の加齢と関連し悪循環を形成する可能性が指摘される。腎臓の老化の研究は臨床的にも透析遅延、移植腎の寿命等の分野で重要な意義を持つとともに個体の寿命の延長につながる重要な研究と思われる。

文献

- 1) Seo AY, Joseph AM, Dutta D, *et al.* New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci.* 2010; 123: 2533-42.
- 2) Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, *et al.* The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002; 62: 1524-38.
- 3) Fujimura K, Wakino S, Minakuchi H, *et al.* Ghrelin Protects against Renal Damages Induced by Angiotensin-II via an Antioxidative Stress Mechanism in Mice. *PLoS One.* 2014; 9 (4)
- 4) Dann SG, Selvaraj A, Thomas G. mTOR Complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer. *Trends Mol Med.* 2007; 13: 252-9.
- 5) Grewal SS. Insulin/TOR signaling in growth and homeostasis: a view from the fly world. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41:1006-10.
- 6) Zhuo L, Cai G, Liu F, *et al.* Expression and mechanism of mammalian target of rapamycin in age-related renal cell senescence and organ aging. *Mech Ageing Dev.* 2009; 130: 700-8.

- 7) Huber TB, Edelstein CL, Hartleben B, *et al.* Emerging role of autophagy in kidney function, diseases and aging. *Autophagy.* 2012; 8: 1009-31.
- 8) He W, Wang Y, Zhang MZ, *et al.* Sirt1 activation protects the mouse renal medulla from oxidative injury. *J Clin Invest.* 2010; 120: 1056-68.
- 9) Kume S, Uzu T, Horiike K, *et al.* Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. *J Clin Invest.* 2010; 120: 1043-55.
- 10) Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, *et al.* Sirt1 protects against oxidative stress-induced renal tubular cell apoptosis by the bidirectional regulation of catalase expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 372: 51-6.
- 11) Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, *et al.* Kidney-specific overexpression of Sirt1 protects against acute kidney injury by retaining peroxisome function. *J Biol Chem.* 2010; 285: 13045-56.
- 12) Hasegawa K, Wakino S, Simic P, *et al.* Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes. *Nat Med.* 2013; 19: 1496-504.
- 13) Benigni A, Corna D, Zoja C, *et al.* Disruption of the Ang II type 1 receptor promotes longevity in mice. *J Clin Invest.* 2009; 119: 524-30.
- 14) Verzola D, Gandolfo MT, Gaetani G, *et al.* Accelerated senescence in the kidneys of patients with type 2 diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008; 295: F1563-73.
- 15) Vogetseder A, Picard N, Gaspert A, *et al.* Proliferation capacity of the renal proximal tubule involves the bulk of differentiated epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008; 294: C22-8.
- 16) Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, *et al.* The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest.* 2004; 114: 795-804.
- 17) Wanner N, Hartleben B, Herbach N, *et al.* Unraveling the role of podocyte turnover in glomerular aging and injury. *J Am Soc Nephrol.* 2014; 25: 707-16.
- 18) Berger K, Schulte K, Boor P, *et al.* The regenerative potential of parietal epithelial cells in adult mice. *J Am Soc Nephrol.* 2014; 25: 693-705.
- 19) Zhang J, Hansen KM, Pippin JW, *et al.* De novo expression of podocyte proteins in parietal epithelial cells in experimental aging nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012; 302: F571-80.
- 20) Lasagni L, Romagnani P. Glomerular epithelial stem cells: the good, the bad, and the ugly. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 1612-9.

