

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07852

研究課題名(和文) Klotho から見えてくる腎虚概念のlarge metabolic nexus

研究課題名(英文) Large metabolic nexus of the concept of renal deficiency as seen from Klotho

研究代表者

大山 陽子 (Oyama, Yoko)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：20583470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：内因性炎症が起因となり老化を加速させるといった新たな病態：inflammaging = inflammation + agingが明らかとなっている。我々は「老化は炎症の一部である」という考えの元、漢方薬：五苓散と遠志が含有する成分の代謝物：成分Aの抗老化作用について検討を行った。結果、五苓散や成分Aを腎不全動物モデルに投与すると、腎機能や線維化の改善がみられ、多くは相乗効果がみられた。作用機序として五苓散は抗炎症を、成分AはAMPKの活性化を軸に、さらに老化の加速因子であるリンを有意に下げたことから、双方のAnti-inflammaging効果の確認と、その作用の一端を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究から、五苓散や遠志が含有する成分の代謝物：成分Aは腎不全モデルにおいて、血中リンおよび炎症性サイトカインMCP-1の有意な低下を示したことから、漢方薬がInflammaging制御によるエイジングコントローラーとなり得る可能性が示唆された。

さらに、尿細管障害や腎機能の有意な改善、腎組織線維化の軽減といった実質的な機能改善を示したことから、これら薬剤が、現在治療法が限られている腎不全の治療薬となる可能性もあり、加えて五苓散と成分Aの同時投与による相乗効果は、新たな漢方創薬の観点からも、今後さらなる発展が期待できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Inflammaging = inflammation + aging, a new pathology in which endogenous inflammation accelerates the aging process, has become evident. Based on the idea that "aging is a part of inflammation," we investigated the anti-aging effects of a Chinese herbal medicine, Goreisan, and a metabolite of a component of a crude drug Polygala Root, Component A. The results showed that administration of Goreisan and Component A to a renal failure animal model improved renal function and fibrosis, and many of them showed synergistic effects. The mechanism was that Goreisan has an anti-inflammatory effect and Component A has a broad cytoprotective effect including anti-inflammatory and antioxidant effects by activating AMPK, resulting in improvement of renal function and tubular damage. In addition to their anti-inflammatory effects, Goreisan and Component A significantly lowered phosphorus, an accelerator of aging, confirming their anti-inflammaging effects.

研究分野：医歯薬学

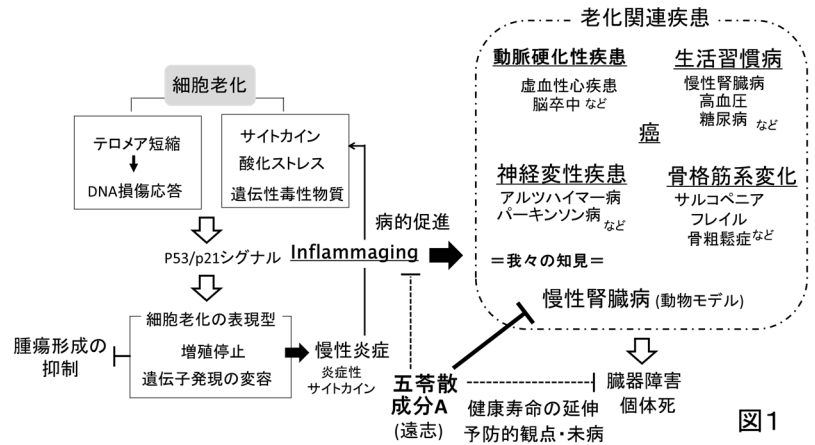
キーワード：老化 炎症 漢方薬 五苓散

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

= 老化により引き起こされた炎症: **inflammaging** という新たな概念 =

時間軸で進むと考えられてきた老化は、実は多様性をもつことが分ってきた。例えば、寝たきりやフレイルが増加する一方、健康長寿者の増加という高齢者の多層化が観察される。つまり「老化」という病態は、時間以外の要素をもつことを示す。高齢者では、血中の炎症マーカーの増加や組織での炎症シグナルの活性化などがみられ、くすぶり型の炎症の



存在が指摘されている。老化に伴って起こるテロメア短縮のほか、DNA 障害などにより p53 シグナルが活性化され、細胞は老化の表現系を呈するようになる。この現象は腫瘍形成の抑制に働く一方、老化細胞から分泌された炎症性メディエーターや蛋白分解酵素は炎症を引き起こし、癌や動脈硬化、アルツハイマー病など老化関連疾患の発症や進展に深く関与すると考えられ、炎症マーカーの高値は罹患率や死亡率の有意なリスク因子であることも報告されている(図 1)(J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014)。このように老化による基礎的炎症の活性化によって引き起こされるくすぶり型の炎症病態は老化と炎症をリンクした **inflammaging**(= **inflammation** + **aging**)という新たな概念として提唱されるようになった(Ann N Y Acad Sci. 2000)。即ち、老化も炎症の一部であると捉えられると同時に、老化に伴う分子基盤の制御により疾患の病的進行を抑えられる可能性があることを示す。

2. 研究の目的

漢方学的な考えとして、老化は生命エネルギー“腎気”が不足した状態である「腎虚」の代表病態であること、また早老症候群の表現型を示す抗老化因子 **klotho** 欠損マウスは、慢性腎臓病と症状や分子病態が酷似していることから、我々は腎臓をエイジングネットワークの中核臓器と捉え、「老化は炎症の一部である」という考えのもと、漢方薬である五苓散と生薬：遠志に含まれる成分の代謝物:成分 A(特許申請のため名称記載は控えさせていただく)の抗老化作用についての検討を抗炎症の観点から、慢性腎不全モデルを用いて行った。

3. 研究の方法

= 五苓散・成分 A の腎機能・抗炎症・抗酸化を及ぼす効果の検証 =

腎不全モデルとしてアデニン投与による慢性腎炎モデルを用いた。コントロール、五苓散、成分 A(component A:com A)、五苓散 + 成分 A、および腎炎モデルに上記 4 群を加えた計 8 群を作製し、それぞれの薬剤を 2 週間投与の後、血液、尿、腎臓を採取し、検討を行った。

4. 研究成果

= モデルの一般所見 =

コントロール群において、五苓散や成分 A 投与群、五苓散 + 成分 A 投与群のラットの外観や体重、および腎外観の変化はみられなかった(図 2 A-D)。腎炎群では、各群で体重の減少

を認め、尿量の変化はみられなかったが(図 2 B, E)、腎臓の腫大や色調の変化は、五苓散や成分 A、五苓散 + 成分 A 投与群では軽減傾向であり(図 2 A-D)、腎炎群と比べ、五苓散 + 成分 A 投与群では腎重量の有意な低下がみられた(図 2F * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)。

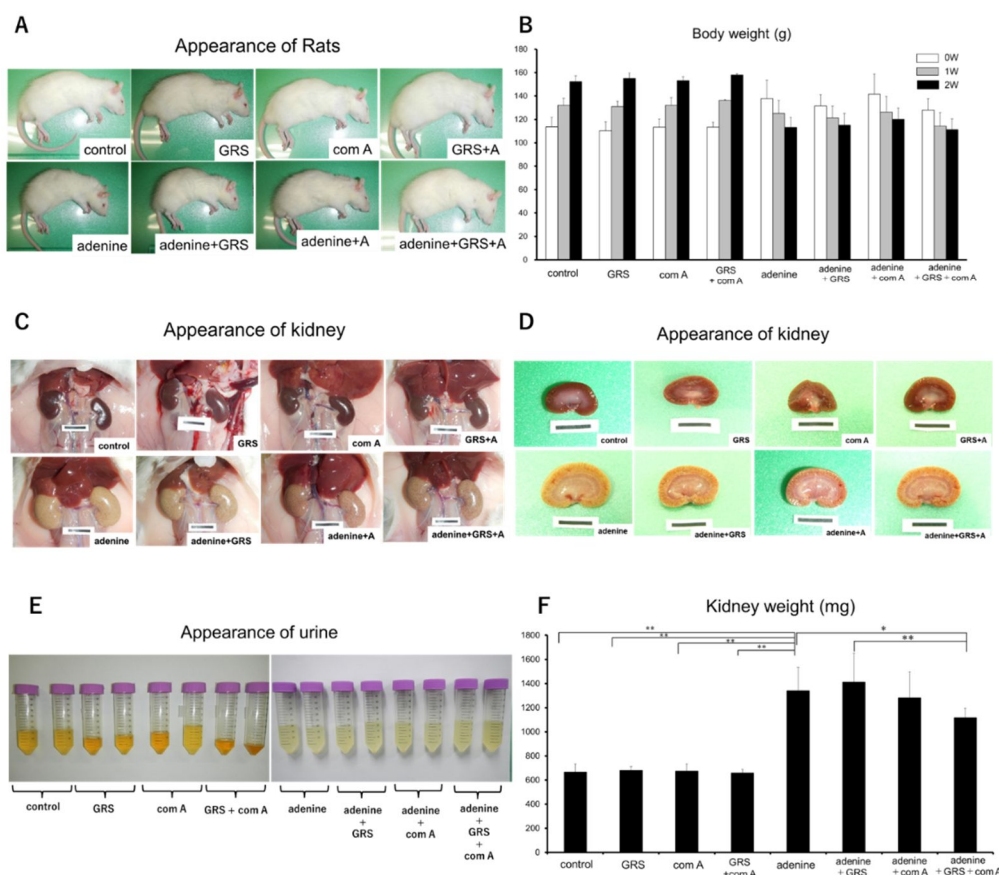


図 2

= 腎機能改善効果の検証 =

タンパク尿は、慢性腎臓病の有害な転帰のリスクを示す最も強力なマーカーの一つである。タンパク尿の値が高いほど、慢性腎臓病の進行、末期腎不全、死亡のリスクは高いことが報告されている(Kidney Int.2011)。我々は、まず腎機能改善効果の指標として、尿中のタンパク量を測定した。結果、腎炎群において五苓散、成分 A 投与による有意な減少に加え、五苓散 + 成分 A 投与群では更なる改善がみられた(図 3A)。また、尿細管の間質損傷のマーカーであり、慢性腎臓病の予後との強い相関が報告されている **L-FABP(liver-type fatty acid-binding protein)** は腎炎群において成分 A 投与により有意な低下が(図 3B)、尿細管上皮細胞の障害マーカーである **KIM-1(kidney injury molecule-1)** は五苓散、成分 A 投与群での有意な低下に加え、五苓散 + 成分 A ではさらなる低下がみられた(図 3C)。(図 3 A-C : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

次に、腎機能の指標として各血清項目を測定した。結果、血中BUN、クレアチニン、カルシウムは、それぞれ成分 A の投与にて有意な改善がみられ、一部は五苓散を加えることにより相加効果がみられた(図 4 A-C)。さらに尿酸や、老化において高値を示し老化促進因子でもあるリンは五苓散、成分 A 投与により共に有意に減少し、両者の投与によりさらなる改善効果がみられた (図 4 D・E)。(図 4 A-E : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

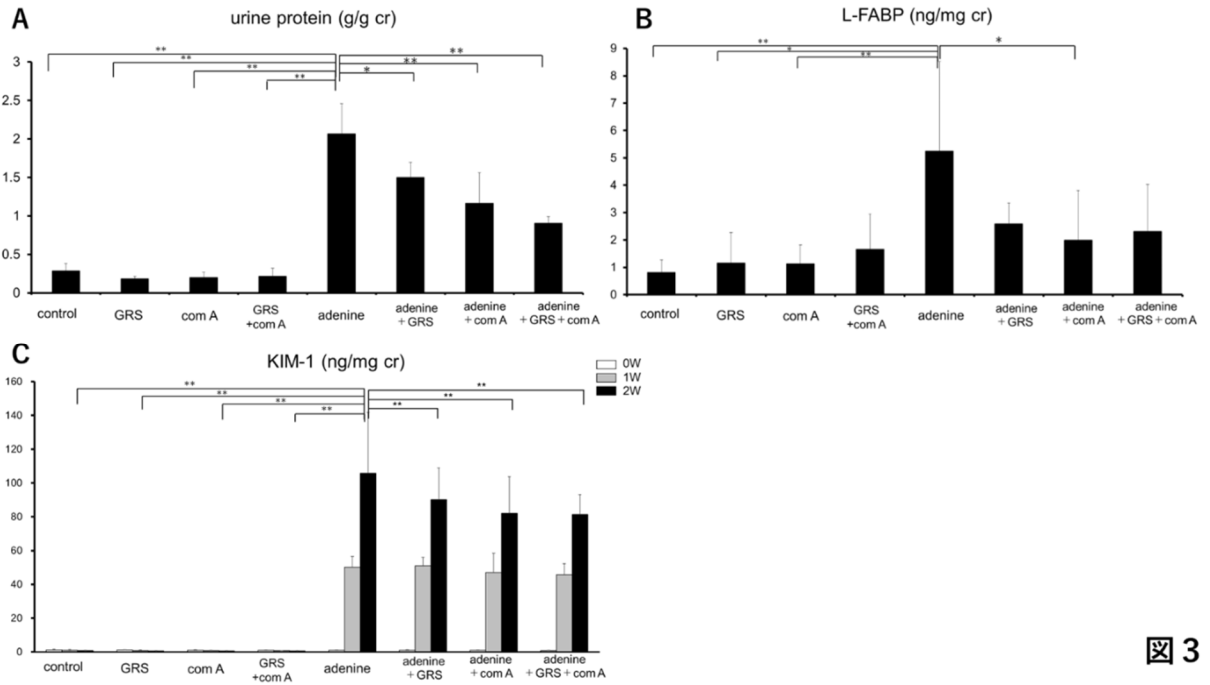


図 3

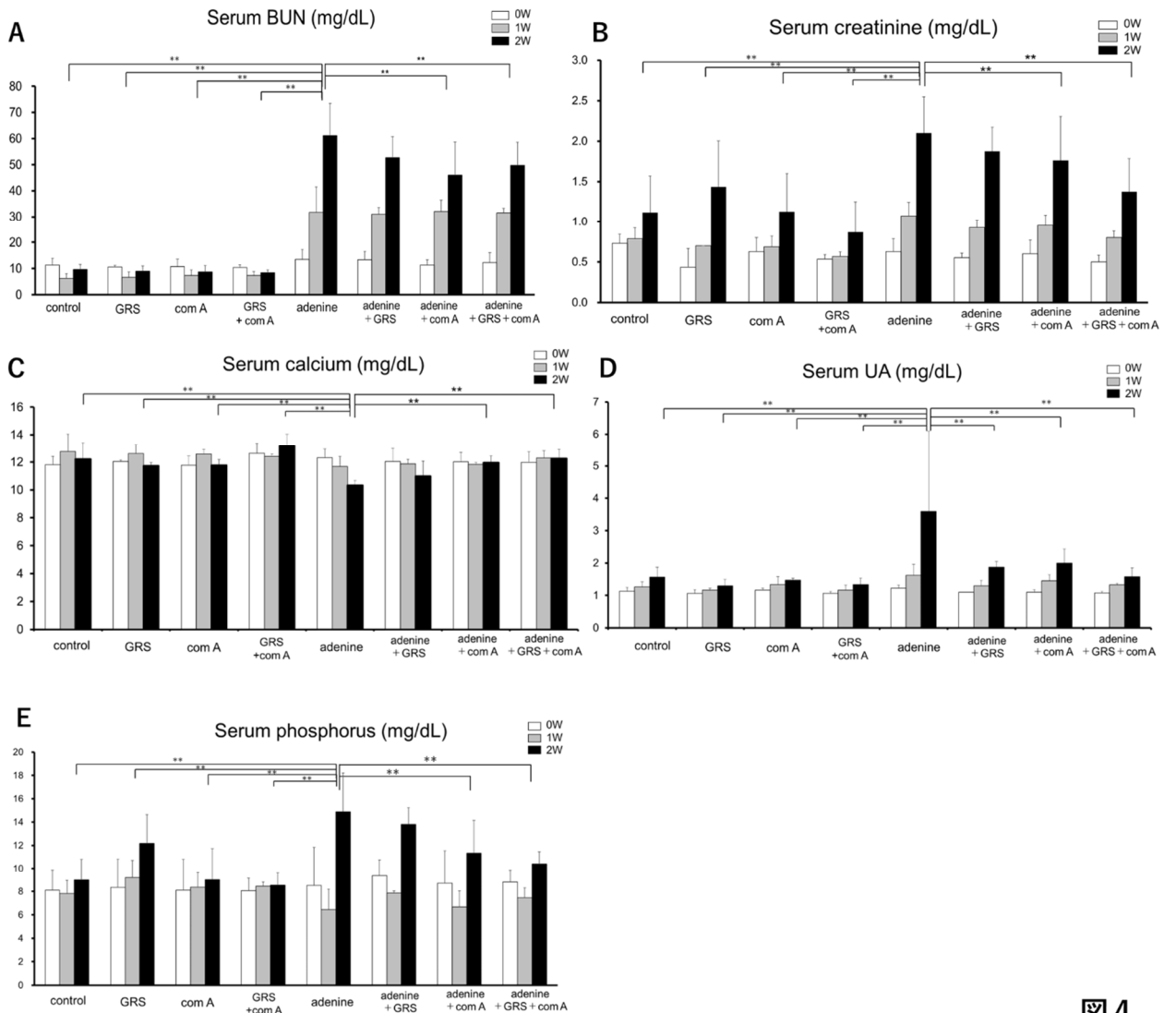


図 4

= 抗炎症性・抗酸化・線維化改善の検証 =

五苓散、成分 A は共に老化因子であるリンを有意に減少させた。次に **Anti-inflammaging** の観点からこれら薬剤の抗炎症効果を、加えて抗酸化効果や線維化の改善効果について検討した。結果、成分 A 投与にて炎症性サイトカイン **MCP-1** の有意な低下(図 5A)が、また五苓散、成分 A、五苓散 + 成分 A 投与それぞれに抗酸化作用がみられた(図 5B・C)。さらに、これら薬剤投与によって腎臓組織線維化の軽減がみられた(図 5D)。(図 5 A-C : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

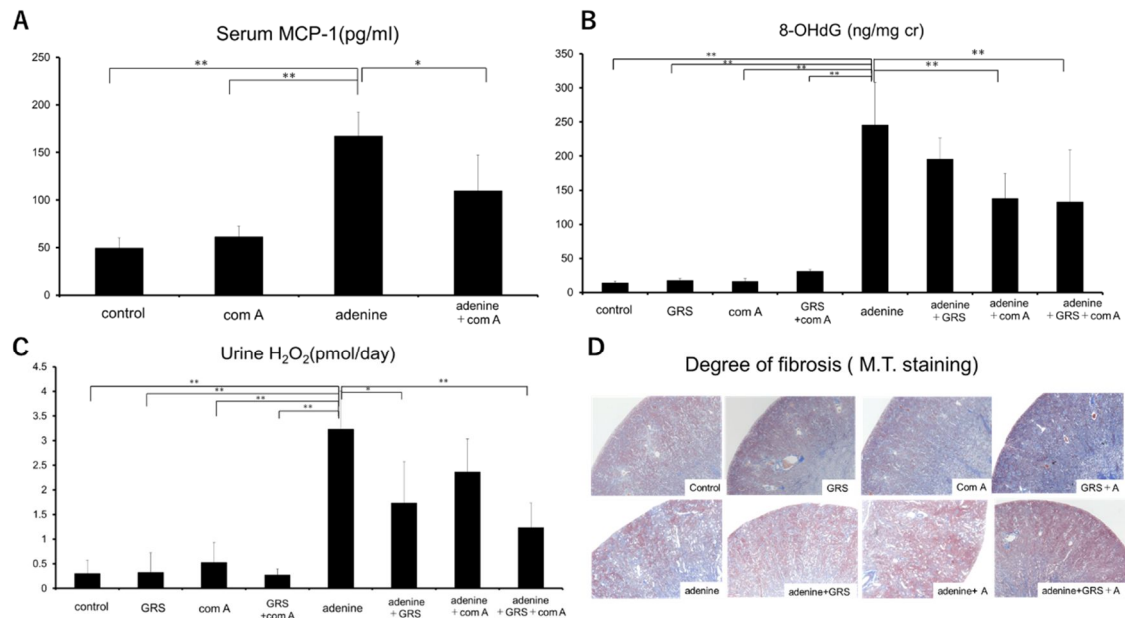


図 5

= 腎機能改善・組織保護のメカニズムについて =

腎不全では腎組織の **AMPK (AMP-activated protein kinase)** の活性低下が報告されている。**AMPK** は細胞のエネルギーセンサーの中枢であり、ミトコンドリア活性、抗炎症・抗酸化作用などによるストレスの制御から抗老化作用が知られている (*Int J Mol Sci*, 2020)。我々は成分 A 投与群、また成分 A の代謝産物である成分 B 投与群での慢性腎炎組織での **AMPK** の活性化を確認した(図 6)。また、*in vitro* においてラット尿管上皮細胞の結晶刺激下で、五苓散は **MCP-1** の有意な減少をきたすことを観察した(**data not shown**)。

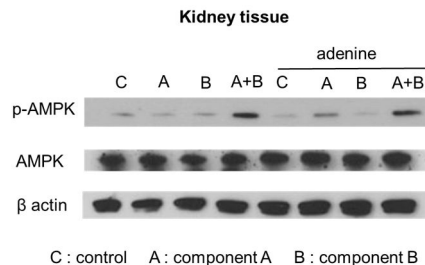


図 6

= まとめ =

以上より、五苓散は抗炎症を軸に、成分 A は **AMPK** 活性化による抗炎症、抗酸化作用を含めた広い細胞保護効果から、腎機能および尿管障害改善がもたらされることが考えられた。また五苓散、成分 A は抗炎症に加え、老化の加速因子であるリンを有意に下げた点からも、双方の **Anti-inflammaging** 効果の確認と、その作用の一端を明らかにすることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 腎機能改善用組成物	発明者 丸山征郎 大山陽子	権利者 国立大学法人鹿 児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、2022-550574	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	丸山 征郎 (Maruyama Ikuro) (20082282)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任教授 (17701)	
研究分担者	山口 宗一 (Yamakuchi Munekazu) (20325814)	鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授 (17701)	
研究分担者	橋口 照人 (Hashiguchi Teruto) (70250917)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------