

内科学の新たな視点における病態の理解 ～epigeneticsから臓器連関まで～

1) 腎臓病の新たな視点 —低酸素とepigenetics

南学 正臣 三村 維真理 田中 哲洋

Key words 慢性腎臓病, 急性腎障害, 低酸素, エピジェネティクス, HIF

はじめに

腎臓は沈黙の臓器といわれ、機能が低下してもなかなか症状として現れず、徐々に機能低下が進行し、尿毒症の自覚症状が出たときにはすでに末期腎不全となっており、透析などの腎代替療法が必要な状態となっている。また、慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) は、末期腎不全の母体となるのみならず、高率に心血管合併症を引き起こし、患者予後に大きな影響をもたらすことも疫学研究によりわかってきており、CKDへの対応は世界的に喫緊の課題となっている。日本においても、維持透析患者は32万人を超え、CKD患者数は約1,300万人と推定されており、CKDは国民病ともいえる。しかしながら、腎臓病に対する特異的な薬はまだ開発さ

れておらず、他の分野で開発された薬剤が治療に応用されている。1つの問題は、腎臓病に対する薬剤の臨床試験に腎死というhard endpointが必要とされるため、治験に莫大な予算と長大な期間が必要とされることである。これに対し、最近の大規模な臨床研究データの解析により、2年間での30%のeGFR (estimated glomerular filtration rate) の低下が腎死を正確に予測する適切なsurrogate markerであることが示され、臨床試験のprimary endpointとして承認される機運が高まっており、腎臓病に対する薬剤の開発が加速することが期待されている。また、腎臓病を治療するための薬剤の開発には、その進展の機構を解明することが必須であり、近年、腎臓の低酸素状態とepigeneticな変化が重要な治療ターゲットとして注目されている。

東京大学大学院医学系研究科腎臓内科学/内分泌病態学

113th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine : Symposium : 3. Insight into the mechanism of diseases on new perspective arising in internal medicine : from epigenetics to organ associations ; 1) Novel aspects of kidney disease—hypoxia and epigenetics.

Masaomi Nangaku, Imari Mimura and Tetsuhiro Tanaka : Division of Nephrology and Endocrinology, University of Tokyo Graduate School of Medicine, Japan.

本講演は、平成28年4月17日 (日) 東京都・東京国際フォーラムにて行われた。

1. CKD進行のfinal common pathwayとしての慢性低酸素

CKDの進行には、以前は糸球体硬化が注目されていたが、その後のヒト腎生検標本を用いた病理学的研究の進展により、むしろ尿細管間質の変化の方が腎臓の予後とよく相関することがわかってきた。CKDは免疫の異常に起因する慢性糸球体腎炎、生活習慣病に起因する糖尿病性腎症や高血圧性腎硬化症などの様々な疾患に起因するが、このfinal common pathwayは原病にかかわらず働くものとされており、その主座は尿細管間質にあると考えられる。腎臓は重さが体重の0.3%しかないにもかかわらず、糸球体が濾過する原尿の99%を尿細管が再吸収しており、常に大量のエネルギーを消費している。その結果、腎臓は生体が必要とする酸素の30%を消費する、非常に酸素需要の高い臓器となっている。このため、腎臓病のfinal common pathwayとして、尿細管間質の慢性低酸素状態が特に重要と考えられている^{1,2)}。

体内臓器における酸素化の状態の評価は、クラーク型微小電極による直接測定、低酸素の細胞に取り込まれる化合物であるpimonidazoleの免疫組織学的評価、deoxyhemoglobinを可視化するblood oxygen level-dependent (BOLD) MRIなどによって行われ、様々な動物モデルおよび実際の腎臓病患者において腎臓の低酸素状態が明らかにされている。我々は低酸素状態への防御機構を担う転写調節因子であるhypoxia-inducible factor (HIF) を用いた低酸素感知transgenic ratを用いて様々な腎臓病モデルで腎臓の酸素状態を証明・評価し、さらに最近では、脂溶性が高く、速やかに細胞内に取り込まれる新規酸素感知りん光プローブを用いた方法により、定量的な腎臓の尿細管細胞内低酸素評価に成功している³⁾。この新規低酸素感知プローブによっても、貧血や糖尿病が腎臓の低酸素状態を引き起こすことが確認された。

2. 腎臓の低酸素化に対する治療

腎臓の低酸素化の原因としては線維化による毛細血管の脱落と酸素拡散能の低下、腎性貧血による酸素運搬能の低下、レニン・アンジオテンシン系の活性化による尿細管周囲毛細血管の血流低下、酸化ストレスによるミトコンドリア呼吸障害などがある。腎性貧血に対してはエリスロポエチンなどのerythropoiesis stimulating agent (ESA) による治療が確立されており、貧血改善による臓器の酸素化の改善が腎臓を保護する可能性がある。レニン・アンジオテンシン系阻害薬はCKD治療のgold standardであり、その重要な機序として輸出細動脈拡張による糸球体内高血圧の改善が強調されていた。輸出細動脈の拡張は、同時にその下流の尿細管周囲毛細血管の血流を改善し、腎臓の酸素化を向上させるため、レニン・アンジオテンシン阻害薬の腎保護作用において、腎臓の低酸素化の改善も重要と考えられる。

さらに、生体は低酸素に対する防御機構として低酸素誘導因子HIFを備えており、エリスロポエチンによる赤血球増加やVEGFによる血管新生を介して酸素供給を増やすとともに、嫌氣的解糖を促進し酸素不足でのエネルギー産生を助ける。HIFは α サブユニットと β サブユニットのheterodimerからなる転写調節因子で、 α サブユニットがprolyl hydroxylase (PHD) による水酸化を受けることで分解のステップでの調節を受けており、PHD阻害によるHIF刺激が新しい治療ターゲットとして注目を集めている。PHD阻害薬は、エリスロポエチン産生を増加させるため、現在腎性貧血に対する治療薬としての治験が進んでいる。HIFを活性化することは、理論的にはCKDそれ自体、虚血性心疾患、脳卒中、末梢動脈疾患を含め、様々な低酸素病態に対しても有効であることが予想される。HIFの下流には多数のターゲット分子があり、遺伝子改変を用いたHIFの高発現動物では腎臓の線維化が促

進する可能性も指摘されているが、これまでの研究では薬理的なレベルのHIF活性化については生体保護的に働くという知見が得られており、PHD阻害薬によるHIF活性化の今後の臨床応用の発展に期待が集まっている。

3. 腎臓病とepigenetics : metabolic memory

最近注目されているものとして、腎臓病へのepigeneticな影響がある。Epigeneticな変化とは、遺伝子の変異を伴わずに形質の長期的な変化を示す機構を指し、DNAのメチル化、ヒストン修飾、クロモゾームの高次構造の変化などである⁴⁾。

ヒストンのN末端のリジン残基のアセチル化はnucleosomeにおけるヒストンのDNAの結合を緩くすることで転写調節因子のDNAへのアクセスを助け、遺伝子の発現を促進する。一方、脱アセチル化はDNAのヒストンへの結合を強化し、転写調節因子のアクセスを阻害することにより、遺伝子の発現を抑制する。ヒストンのメチル化による遺伝子発現の調節はアセチル化よりも複雑である。メチル化も主にヒストンのリジン残基にみられ、ヒストンH3ではK4, K9, K27, K36, K79が、ヒストンH4ではK20がメチル化される。これらのメチル化の数はmono, di, triの複数の状態があり、それぞれメチル酸化される残基の位置と数によって転写が活性化される場合と抑制される場合がある。

クロモゾームの高次構造の変化も、遺伝子発現調節に重要な役割を担っている。近年の次世代シーケンサーを利用したChIP-seqなどのゲノムワイドの解析の進歩により、転写調節因子は必ずしも転写調節開始点の近傍のみならず、かなり遠方にも結合していることがわかってきた。このような遠方の転写調節因子の結合が遺伝子発現に影響するために、クロモゾームは高次構造を変化させ、二次元的には遠方の転写調節因子の結合を三次元立体構造の変化により転

写調節開始点の近くに引き寄せ、遺伝子発現を調節していることがわかっている。

糖尿病においては、大規模臨床研究の長期フォローアップの結果、初期の血糖管理の状態が、腎症を含む合併症の長期的な予後に大きな影響を与えることがわかっており、legacy effectあるいはmetabolic memoryといわれている。この、短期間の血糖の状態が長期的な影響を及ぼす機序としてepigeneticな変化が重要と考えられている。動物実験やヒトの糖尿病患者の生体サンプルを用いた研究では、血糖の上昇が炎症や線維化を促進する分子の発現を促進するようなヒストン修飾の変化を示すことがわかっている。糖尿病のモデル動物の腎臓においても、炎症関係の分子や線維化を引き起こす分子のヒストン修飾が遺伝子発現を促進する方向に変化を受けていることが示されており、糖尿病腎症の発症・進展におけるepigeneticな機構によるmetabolic memoryが注目されている。

4. 腎臓病とepigenetics : hypoxic memory

低酸素は、epigeneticな変化を介しても腎臓病の病態生理に重要な影響を与えている。以前は急性腎不全というのは一過性の病態であり、透析により極期を乗り切れば、腎臓の機能は完全に回復すると考えられていた。しかし、最近の疫学研究の発展により、以前は可逆性と考えられていた急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) が、長期的には高確率でCKDと末期腎不全を引き起こすことがわかり、AKI to CKD continuumとして注目されている。AKIの本態は腎臓の虚血であり、血管系の手術などにおける虚血再灌流によるAKIのみならず、敗血症におけるAKIにおいても腎臓の血流の低下と虚血が病態に重要である。AKIでみられるような一過性の腎臓の虚血が長期的な影響を及ぼす機序としても、ヒストン修飾の変化などのepigeneticな機構が重要な役割を果たしていると推定されている。培

養血管内皮細胞を低酸素に曝露すると、様々なヒストン修飾の変化が起こり、またクロモゾームの高次構造が変化することにより、遺伝子発現を調節する。AKIにおける低酸素状態がepigeneticな変化を引き起こし、長期予後に影響を与え、AKI to CKD continuumを引き起こすことが、hypoxic memoryとして注目されている⁵⁾。

おわりに

腎臓病の対応は重要な課題であるが、現時点では特異的な治療薬がない。これまで腎臓病の治療に使用されてきた様々な薬物は、腎臓の酸素化を改善する効果をもつことがわかってきており、HIFを活性化して腎臓を低酸素に対して抵抗性にすることが新しい腎臓病の治療法となる可能性がある。また、腎臓病において、一時的な高血糖や腎臓の虚血が長期的な影響をもつことがわかっており、metabolic memoryやhypoxic memoryとして注目されている。これら

のmemoryの機序としてヒストン修飾の変化などによるepigeneticな機構が働いていると考えられ、新しい治療ターゲットとして注目されている。

謝辞：本総説の基盤となった研究の一部は、文部科学省科研費・新学術領域研究：酸素生物学（26111003）および基盤B（15H04835）に基づいてなされたものである。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：南学正臣；講演料（アステラス製薬、アストラゼネカ、アレクシオンファーマ、MSD、協和発酵キリン、グラクソ・スミスクライン、第一三共、武田薬品工業、田辺三菱製薬、中外製薬、日本たばこ産業、ノバルティスファーマ、メディカルビュー社）、原稿料（協和発酵キリン）、研究費・助成金（ノバルティスファーマ）、寄附金（アステラス製薬、アレクシオンファーマ、医療法人社団 樺会、医療法人社団 清湘会、MSD、キッセイ薬品、協和発酵キリン、クレハ、第一三共、大日本住友製薬、武田薬品工業、田辺三菱製薬、中外製薬、日本ベーリンガーインゲルハイム、ノバルティスファーマ、バイエル薬品、持田製薬）

文献

- 1) Tanaka T, Nangaku M : Angiogenesis and hypoxia. *Nature Rev Nephrol* 9 : 211-222, 2013.
- 2) Shoji K, et al : Role of hypoxia in progressive chronic kidney disease and implications for therapy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 23 : 161-168, 2014.
- 3) Hirakawa Y, et al : Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. *Sci Rep* 5 : 17838, 2015.
- 4) Mimura I, et al : Novel therapeutic strategy with hypoxia-inducible factors via reversible epigenetic regulation mechanisms in progressive tubulointerstitial fibrosis. *Semin Nephrol* 33 : 375-382, 2013.
- 5) Tanaka S, et al : Hypoxia as a key player in the AKI-to-CKD transition. *Am J Physiol Renal Physiol* 307 : F1187-1195, 2014.