

第5回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

YIA 受賞講演
エネルギー不全感知障害が
慢性腎臓病の新たな治療標的である

Failure to sense energy depletion may be a novel therapeutic target in chronic kidney disease

菊池 寛昭

Hiroaki KIKUCHI

はじめに

慢性腎臓病(CKD)は世界的に有病率がきわめて高く、有効な治療法がない進行性の疾患である。また、サルコペニアや心血管疾患などの重篤な合併が多いことも知られている。腎臓は大量のエネルギーを必要とする臓器であり、近年、腎臓におけるエネルギー代謝障害が新たな腎不全治療のターゲットとして着目されてきている。しかし、代謝障害を引き起こす原因や機序が明らかになっておらず、治療法の開発には至っていない。われわれは、網羅的な代謝物解析(メタボローム解析)によって、CKDの腎臓はエネルギー状態が不良(AMP/ATP比の上昇)であることを明らかにし、その原因が、AMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)の細胞内エネルギー感知不全にあることを発見した。また、腎不全における尿毒症や、アシデミアがAMPKのエネルギー感知障害を惹起し、さらにAMPK活性低下が腎不全の進行を促進させ、更なる尿毒素の蓄積をきたすという、腎不全におけるAMPK活性抑制の悪循環を発見した。

エネルギー代謝障害とCKD

2015年、健常者とCKD患者から成る大規模コホートに由来するヒト尿細管検体の全ゲノム・トランスクリプトーム解析によって、CKDの腎臓で調節異常が最も多くみられ

る経路が炎症と代謝であることがわかった¹⁾。また、尿細管間質の線維化を合併しているヒトおよびマウスモデルでは、対照群と比べて脂肪酸酸化(FAO)に重要な酵素と調節因子の発現が低下しており、細胞内の脂質蓄積がより多くなることが明らかとなった¹⁾。そして、薬理学的手法により脂肪酸代謝を回復させると、マウスの尿細管間質線維化を起しにくくなることがわかった¹⁾。細胞内のエネルギーのセンサーとして重要な役割を担っている酵素として、AMPKがあげられる。AMPKは細胞内のAMP/ATP比の上昇に伴って活性化されるセリン・スレオニンキナーゼであり、上流のAMPKK(LKB1およびCamKK β)によってリン酸化・活性化され、下流のアセチルCoAカルボキシラーゼ(acetyl-CoAcarboxylase:ACC)やCRTC2をリン酸化する²⁾。AMPKが活性化されると、解糖、FAO、さらに糖取り込みの促進といったATPを産生する経路が亢進し、糖新生や脂肪合成などのATPを消費する経路は抑制され、細胞内エネルギー状態が改善されることが知られている。

2013年、CKDのラットにおいてAMPK活性の抑制が腎不全増悪に関与することが報告され³⁾、Susztakらは、2016年にAMPKの上流のキナーゼであるLKB1を尿細管特異的に欠損させることで、ヒトのCKDで見られるような腎病理像を呈することを報告した⁴⁾。また、ACCはAMPKの代表的な基質であり、AMPKによるリン酸化(Ser79)によって活性が低下することが知られており、ACC活性の低下はmalonyl-CoA産生の減少をきたし、その結果carnitinepalmitoyl-transferase-1(CPT-1)の抑制が解除されて、脂肪酸のミトコンドリア内への輸送が促進され、FAOが促進すると考

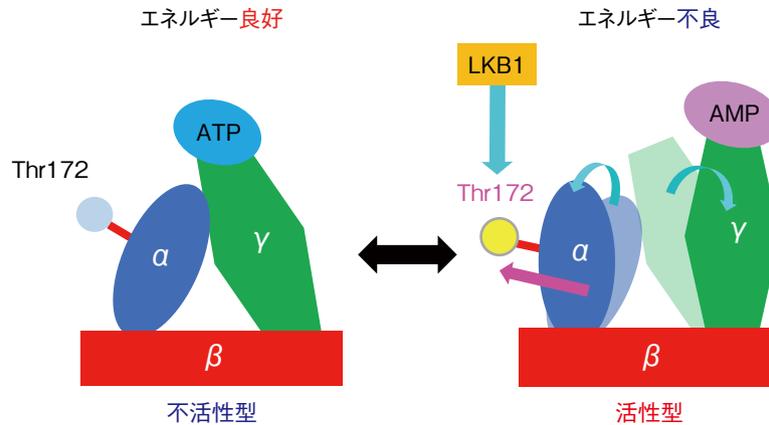


図1 AMPKの構造と活性化機構

AMPKは触媒作用を持つ α サブユニットと、調節作用を持つ β と γ サブユニットから構成されるヘテロ三量体として存在する。エネルギー状態が不良となり、AMPが γ サブユニットに結合すると、アロステリック効果によってこの複合体が活性化され、上流に位置する主要なAMPキナーゼであるLKB1に対して、より親和性の高い基質になる。 α サブユニットのキナーゼドメイン内にあるThr172のリン酸化によって不活性型から活性型に変換される。

えられている。2018年、ACCのリン酸化残基変異によって腎臓の線維化がより起こりやすくなることが報告された⁵⁾。しかし、CKDにおいてAMPK活性やFAOが低下する機序はいまだ不明な点が多く、治療へとは結びついてこなかった。

CKD腎臓のメタボローム解析

CKDモデルにはさまざまなモデルがすでに報告されているが、われわれは、CKDにおける早期の代謝変換を網羅的に捉えるために、明確にCreやBUNが上昇し、かつ病理学的な変化が顕著でない古典的な5/6腎摘モデルを選択した。コントロール群として、片側の2/6腎摘のみを施行したSham OPE群を置いた。5/6腎摘8週間後には、血清学的にはCKDに特徴的な血清BUN、Creの上昇、Hb値の低下、アシデミアを認めたが、病理学的な変化は目立たなかった。メタボローム解析では、ShamとCKD腎のメタボロームプロファイルが明確に異なることがわかり、特に、CKD腎で増加する代謝物、低下する代謝物を変化率の順に並び替え調べた結果、CKDの腎臓においてAMP/ATP比が有意に増加しており、エネルギー状態が低下していることが示唆された。また、本来、前述した通りAMP/ATP比が上昇すれば、AMPK活性が上昇すべきであるが、われわれのモデルではエネルギー状態が不良であるにもかかわらず、AMPK活性は低下していた。

エネルギー状態感知不全がCKDにおけるAMPK活性を低下させる

AMPK活性がCKDで低下している原因として、分子学的には、1)CKDにおいてAMP/ATP比の感知メカニズムが破綻している、2)上流のAMPKKの活性が低下している、という2つのメカニズムが考えられた(図1)。まず、腎臓においてはAMPKの主たる上流のキナーゼとしてliver kinase b1(LKB1)があげられるが、CKD腎においてLKB1の活性が低下しておらず、上記2)の可能性は否定的であると考えられた。前者のメカニズムに関して、AMP模倣剤であり、AMP/ATP比依存性にAMPK活性を上昇させる薬剤、5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside(AICAR)を用いてAMPKのAMPに対する感受性を調べたところ、Shamコントロール群においてはAICARによるAMPK活性の上昇を認めたが、CKD腎においては、その効果が減弱される現象を*in vivo*で確認した(図2)。つまり、CKDにおけるAMPK活性の低下は、エネルギー状態の感知不全(energy sensing failure)にあることを同定した。

尿毒素性代謝物、アシドーシスが複合的にエネルギー状態感知障害を引き起こす

Energy sensing failureの原因が全身性の要素か、それとも手術による影響などの局所の要素であるかを選別するた

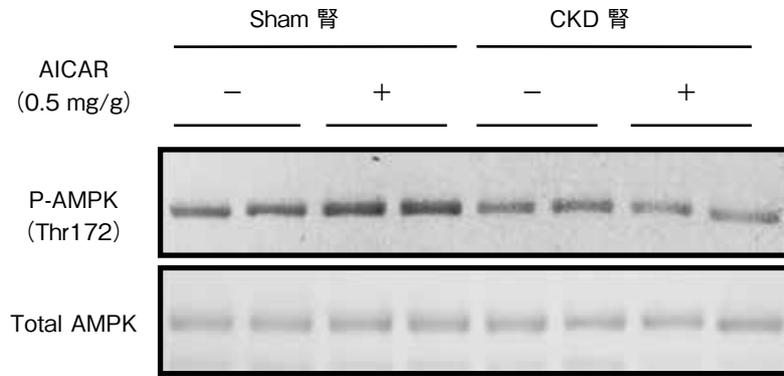


図2 CKD (5/6 腎摘) においては AICAR 刺激が入りにくい
Sham 群のマウスでは AICAR による AMPK の活性化(Thr172 のリン酸化の上昇)を認めるが、CKD 群のマウスでは AICAR による AMPK 活性化の程度が減弱されていた。(文献6より引用, 改変)

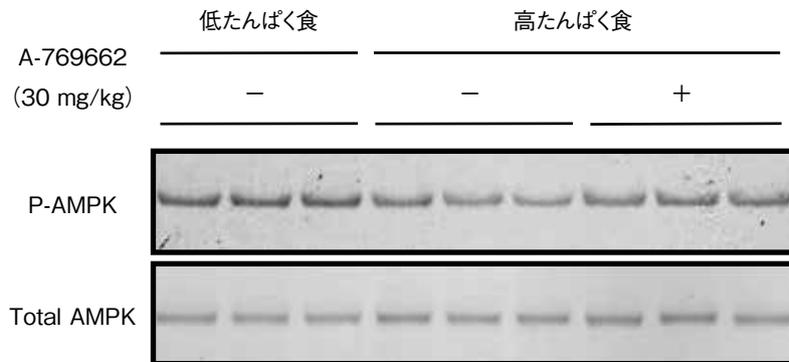


図3 A-769662 は CKD においても AMPK を活性化させる
AMPK の直接活性化剤である A-769662 (A-76) は AICAR とは異なり、CKD 腎においても AMPK を活性化させることが可能である。(文献6より引用, 改変)

め、まず、Sham コントロール群の健側腎と患側腎の AMPK 活性の程度を比較した。(患側腎は 2/6 腎摘されている)結果、健側も患側も AMPK 活性の程度に変化は認められず、局所に起因するのではなく、尿毒素やアシデミアなどの全身性の要素が AMPK 活性を抑制しているものと考えられた。次に腎臓、心筋、骨格筋におけるメタボローム解析の結果から、すべての臓器において蓄積する傾向にある代謝物を選定し、AMPK 活性の低下に関与している代謝物を *in vitro* の系で検証した。そのなかで、インドキシル硫酸、ADMA (ジメチルアルギニン)、TMAO (トリメチルアミン-N-オキシド) は、AMPK の AMP に対する反応性を低下させることを確認した。また、酸性条件も著明に AMPK 活性を低下させる傾向を示した。

エネルギー状態非依存性の AMPK 活性化剤が新規治療薬となりうる

以上から、CKD に対する治療戦略として、AMP/ATP 比非依存性に直接 AMPK を活性化させることが考えられた。そこでわれわれは、AMPK の直接活性化剤である A-769662 (A-76) に着目した。A-76 は AMP とは別の部位に結合し、AMP/ATP 比を変えず、アロステリック変化と Thr 172 脱リン酸化抑制を起こすことによって AMPK を活性化させることが知られている。予想通り、A-76 は AICAR とは異なり、CKD 腎においても AMPK を活性化させ、 β 酸化を亢進させることが可能であった。

またわれわれは、高たんぱく食負荷によって AMPK 活性が低下し、CKD における腎機能障害が進行する現象を突き止めたが、A-76 を投与することで AMPK 活性低下を抑制

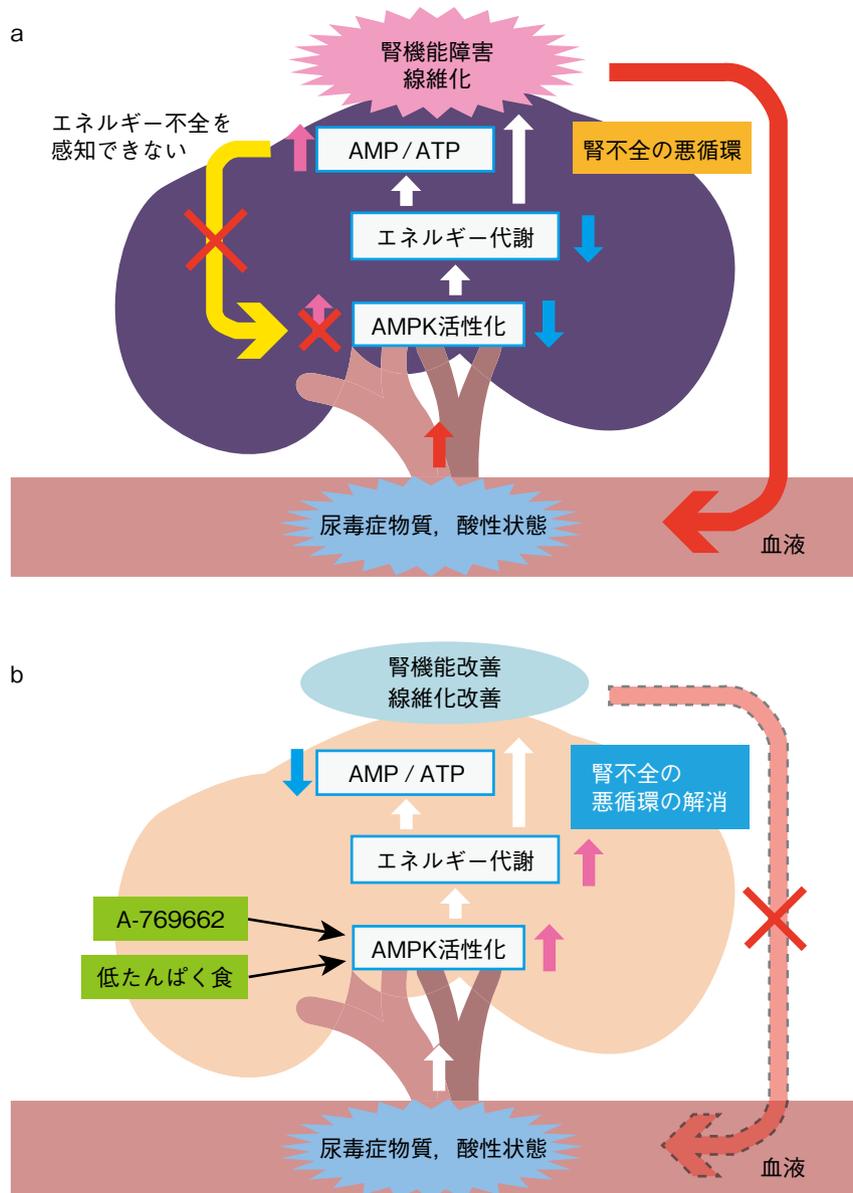


図4 本研究のまとめ

a: CKDにおけるエネルギー不全感知障害による腎機能障害進行メカニズム
 b: AMPK 直接活性化による CKD の新規治療法 (文献6より引用, 改変)

することが可能であり、また、たんぱく負荷による腎不全増悪も軽減することに成功した(図3)。また、低たんぱく食も AMP/ATP 比非依存性に AMPK 活性化を促進することも明らかとなった。

おわりに

本研究により、CKDにおいて蓄積する尿毒素やアシデミアが相加的に AMPK 活性を抑制し、さらに AMPK 活性低

下が腎不全の進行を促進させるため、更なる尿毒素の蓄積をきたすという、腎不全における AMPK 活性抑制の悪循環が明らかとなった(図4)⁶⁾。また、CKDにおける AMPK 活性低下は、AMP/ATP 比非依存性であり、AMP/ATP 比非依存性の AMPK 活性剤が腎不全増悪の悪循環を断ち切る可能性があることを発見した。また、低たんぱく食は腎不全において有効な治療法の一つとされているが、今までそのメカニズムは不明であった。われわれは、低たんぱく食は AMP/ATP 比非依存性に AMPK を強く活性化させることを

突き止め、これが腎機能障害や線維化を抑制することを発見した。本研究の成果により、新しい機序を介したCKDの新規治療法開発につながることを期待される。

謝 辞

最後に本研究を支えてくださった内田信一先生、蘇原映誠先生をはじめ、すべての関係者の方々に心より感謝致します。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

1. Kang HM, et al. Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat Med* 2015 ; 21(1) : 37-46.
2. Miller RA, et al. Adiponectin suppresses gluconeogenic gene expression in mouse hepatocytes independent of LKB1-AMPK signaling. *J Clin Invest* 2011 ; 121(6) : 2518-2528.
3. Satriano J, et al. Induction of AMPK activity corrects early pathophysiological alterations in the subtotal nephrectomy model of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013 ; 305(5) : F727-F733.
4. Han SH, et al. Deletion of Lkb1 in renal tubular epithelial cells leads to CKD by altering metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2016 ; 27(2) : 439-453.
5. Lee M, et al. Phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase by AMPK reduces renal fibrosis and is essential for the anti-fibrotic effect of metformin. *J Am Soc Nephrol* 2018 ; 29(9) : 2326-2336.
6. Kikuchi H, et al. Failure to sense energy depletion may be a novel therapeutic target in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2019 ; 95(1) : 123-137.