

＜研究課題＞慢性腎臓病進展に関わる SASP 因子の探索とその作用機構解析：健康長寿の実現に向けて

代表研究者 大阪大学大学院医学系研究科 特任助教（常勤） 南 聰

【抄録】

本研究は、慢性腎臓病（CKD）の進展に中心的に関与する老化細胞由来 SASP 因子を同定し、その発現制御機構と病態的意義を分子レベルで明らかにすることを目的とした。CKD は老化促進と密接に関連し、老化細胞が分泌する SASP 因子が炎症・線維化を惹起して腎機能を低下させるが、その上流制御経路は不明であった。本研究では、老化と代謝制御を結ぶ転写経路 MondoA-Rubicon・TFEB 軸に着目した解析を行い、MondoA 低下が Rubicon 過剰発現によるオートファジー抑制と TFEB-PGC1α 経路の不活性化を介してミトコンドリア機能障害と細胞老化を促進することを明らかにした。さらに、この変化が SASP 因子の分泌を増強し、炎症・線維化を介して急性腎障害から慢性腎障害への移行 (AKI-to-CKD) を駆動する主要機構であることを示した。本成果は、老化・オートファジー・代謝恒常性の破綻が CKD 進展を統合的に説明する新たな病態基盤を提示するものであり、老化制御に基づく治療戦略開発への道を拓くものである。

1. 研究の目的

慢性腎臓病（CKD）は世界的に患者数が増加し、高齢化社会において主要な健康問題の一つとなっている。CKD の進展過程では、腎尿細管上皮細胞における細胞老化が顕著に認められ、老化細胞が分泌する炎症性サイトカインやプロテアーゼなどの SASP 因子が組織恒常性を破綻させ、線維化や腎機能低下を増悪させることができている。しかし、こうした老化細胞の形成を上流で制御する分子機構は依然として不明であり、その理解は CKD の病態解明と治療戦略構築において重要な課題である。

申請者はこれまでに、オートファジー抑制因子 Rubicon が腎尿細管における老化促進および AKI（急性腎障害）から CKD への移行を誘導すること、さらにその転写制御に代謝応答性転写因子 MondoA が関与することを明らかにしてきた。加えて、MondoA 低下によって Rubicon が過剰に発現し、オートファジーやミトコンドリア機能が障害されることで老化が進展する可能性を見出している。本研究では、これらの知見を基盤として、MondoA-Rubicon・TFEB 軸が腎尿細管における代謝応答とオルガネラ恒常性を統合的に制御し、その破綻が CKD 進展を駆動するという仮説を検証することとした。

具体的には、ヒトおよびマウス腎組織を用いて MondoA-Rubicon・TFEB 経路の動態を詳細に解析し、その異常が細胞老化や SASP 発現を介して腎障害を増悪させる分子メカニズムを明らかにする。また、この経路の破綻が急性腎

障害から慢性腎障害への移行 (AKI-to-CKD) に果たす役割を *in vivo* で実証し、老化制御を基盤とした新たな治療標的の創出を目指す。

2. 研究方法と経過

2-1. 研究デザインと解析方針の概要

本研究では、慢性腎臓病（CKD）の進展に関与する老化関連経路として、代謝応答性転写因子 MondoA、オートファジー抑制因子 Rubicon、リソソーム新生転写因子 TFEB から構成される MondoA-Rubicon・TFEB 軸に注目した。本経路の機能的意義を多階層的に解明するため、ヒト腎生検検体の組織解析、遺伝子改変マウスを用いた急性腎障害および慢性腎障害モデル解析、培養尿細管細胞を用いた分子機構解析の三段階で研究を展開した。

これにより、臨床検体から動物モデル、分子レベルまでを連結する包括的解析系を構築し、AKI-to-CKD 移行過程における本経路の因果関係を検証した。

2-2. ヒト腎生検検体の組織学的および定量的解析

大阪大学附属病院を中心収集された CKD 患者および健常対照腎生検検体を対象として、免疫蛍光染色・共焦点顕微鏡解析を実施した。

MondoA、Rubicon、TFEB の発現および細胞内局在を多重蛍光染色により可視化し、TFEB 核移行率や LAMP1 との共局在率を指標として定量化した。さらに、各症例について腎機能指標 (eGFR、BUN、尿蛋白/Cr 比) や年齢との相関解析を行い、MondoA 発現の変化と腎機能低下・加齢との関係を統計的に評価した。

この解析により、臨床レベルでの MondoA–Rubicon・TFEB 経路の変動を精密に把握する基盤を整えた。

2-3. 遺伝子改変マウスを用いた病態モデル解析

MondoA の機能的意義を明らかにするため、近位尿細管特異的 MondoA 欠損マウスを樹立した。これに Rubicon 欠損を組み合わせた二重欠損マウスも作製し、虚血再灌流 (IRI) による AKI モデルおよびその後の慢性期 (AKI-to-CKD 移行期) を解析した。

急性期では血清 Cr、尿 NAG/Cr 比を指標に腎機能を評価し、オートファジー活性を LC3-II/p62 免疫プロットで定量した。慢性期では線維化マーカー (Col1a1, α -SMA)、老化マーカー (p21, γ H2AX) を RT-qPCR および免疫染色により評価し、組織学的線維化との関連を解析した。さらに、電子顕微鏡観察によりミトコンドリア構造を測定し、オルガネラ恒常性の破綻を定量的に評価した。

2-4. 機能的介入実験と分子機構解析

MondoA–Rubicon・TFEB 経路の因果的連関を明確化するため、TFEB 活性化薬トレハロース投与実験を実施した。これにより、MondoA 欠損腎における TFEB–PGC1 α 経路の回復効果を検証した。

また、培養尿細管細胞を用いて MondoA ノックダウンおよび過剰発現を行い、Rubicon および TFEB 発現の変動を qPCR・Western blot で定量した。

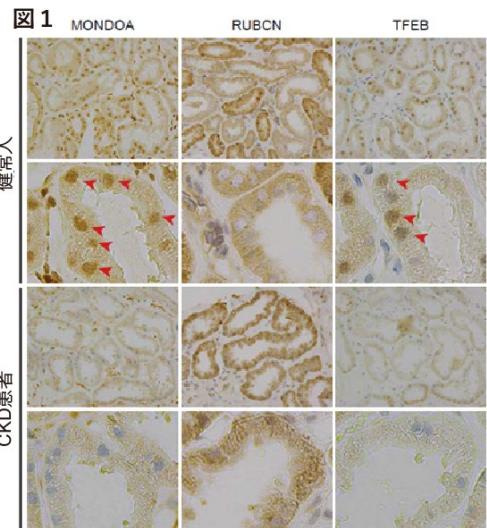
これらの多層的アプローチにより、MondoA–Rubicon・TFEB 経路が腎尿細管におけるオートファジー・ミトコンドリア・老化制御を統合的に担うことを検証可能な解析系を確立した。

3. 研究の成果

3-1. MondoA–Rubicon・TFEB 経路の腎老化における破綻メカニズムの解明

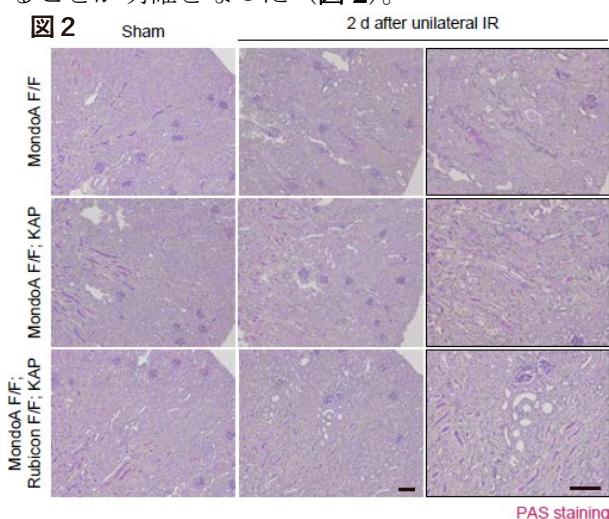
申請者はこれまでに、オートファジーの負の制御因子である Rubicon が加齢腎および細胞老化において発現上昇し、リソソーム新生転写因子 TFEB の発現低下と連動して加齢性腎障害を促進することを報告してきた。本研究では、これらの知見を拡張し、Rubicon および TFEB を統合的に制御する代謝応答性転写因子 MondoA の発現変化に注目した。ヒト腎生検検体を対象に免疫染色および定量解析を行った結果、慢性腎臓病 (CKD) 患者では腎尿細管上皮細胞における MondoA の核内局在が顕著に減少していた。この MondoA 核移行の低下は腎機能 (eGFR) と正の相関、加齢と負の相関を示し、腎老化および腎機能低下に伴う分子制

御機構の破綻を示唆する重要な所見であった。さらに、この MondoA 減弱は Rubicon の発現上昇および TFEB の核移行低下と強く関連しており、MondoA が Rubicon・TFEB 経路を上流から制御する転写因子として機能している可能性が強く示唆された (図 1)。



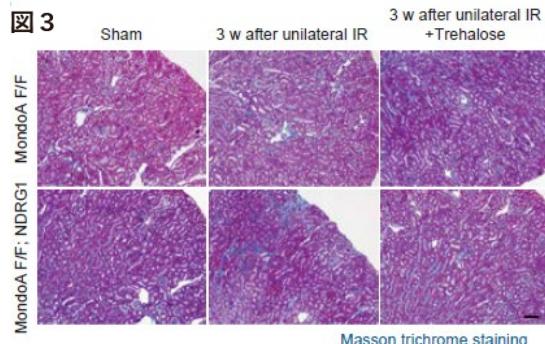
3-2. MondoA–Rubicon 軸による急性腎障害期のオートファジー制御

MondoA の機能的意義を検証するため、腎尿細管特異的 MondoA 欠損マウスを作製し、虚血再灌流 (IRI) モデルを用いて病態解析を行った。急性期では、MondoA 欠損により Rubicon が過剰誘導され、オートファジー活性が著明に抑制された。その結果、ミトコンドリア障害および酸化ストレスが顕著に増大し、急性腎障害が悪化した。一方、Rubicon を同時に欠損させた二重欠損マウスでは、オートファジー活性およびミトコンドリア機能が回復し、腎障害が完全に改善した。これらの結果から、MondoA–Rubicon 軸が AKI 期のオートファジー恒常性維持に必須であり、Rubicon が MondoA 欠損による腎障害増悪の主要なエフェクターであることが明確となった (図 2)。



3-3. CKD 移行期における TFEB–PGC1 α 経路の抑制とミトコンドリア異常

CKD 移行期の解析では、MondoA 欠損マウス腎において顕著な線維化、ミトコンドリア異常、および TFEB–PGC1 α 経路の機能低下が観察された。具体的には、TFEB の核移行抑制とともに、PGC1 α およびその下流標的であるミトコンドリア関連遺伝子群の発現が低下していた。電子顕微鏡解析では、ミトコンドリアクリステの消失や断片化が顕著であり、オルガネラ恒常性の破綻が確認された。重要なことに、TFEB 活性化薬トレハロース投与により TFEB–PGC1 α 経路が再活性化し、ミトコンドリア機能の回復とともに細胞老化マーカーの発現が抑制され、腎線維化進展が顕著に軽減した（図 3）。



3-4. MondoA–Rubicon–TFEB 軸による二重の細胞保護機構の提唱

これらの結果を総合すると、MondoA は AKI 期と CKD 移行期で異なる保護的機能を担うことが明らかとなった。すなわち、急性期には Rubicon 抑制を介してオートファジー恒常性を維持し、慢性期には TFEB–PGC1 α 軸の活性化を介してミトコンドリア生合成と細胞保護を促進する二重の機構が存在する（図 4）。この二相的役割により、MondoA は細胞老化と慢性炎症を抑制し、AKI-to-CKD を制御する中核

的転写因子として機能することが実証された。

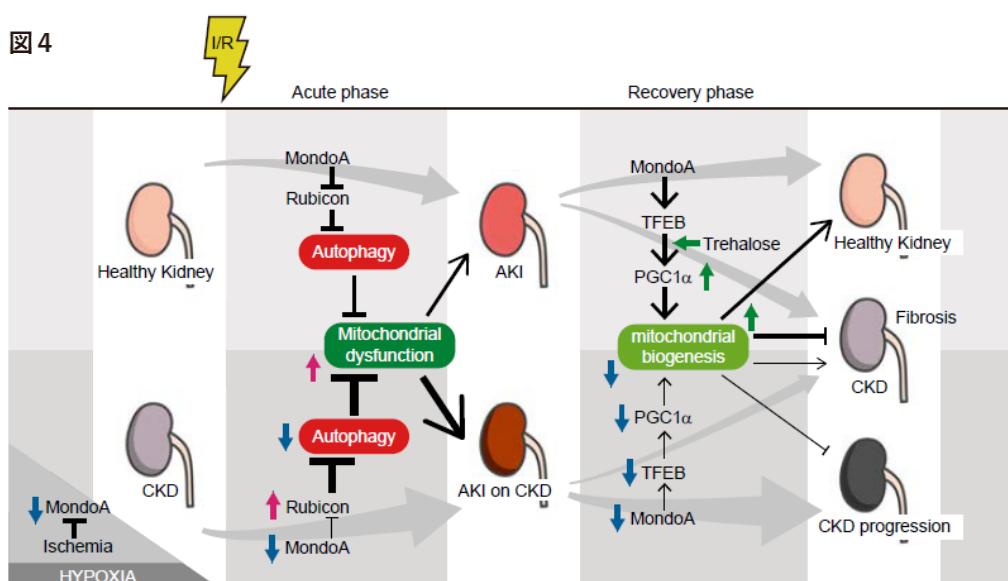
4. 今後の課題

本研究により、MondoA–Rubicon・TFEB 経路が腎尿細管におけるオートファジー恒常性、ミトコンドリア機能、細胞老化を統合的に制御する主要経路であることを明らかにした。しかし、その破綻を引き起こす上流因子や、細胞老化を介して組織全体に波及する機構には未解明の部分が残されている。今後は MondoA 発現や活性を制御する転写ネットワークを明確化し、糖代謝異常・酸化ストレス・炎症応答との関係を分子レベルで解明する必要がある。また、老化尿細管から分泌される SASP 因子が間質細胞や免疫細胞に及ぼす影響を空間トランスクリプトミクスなどで解析し、AKI から CKD への病態進展を駆動する細胞間ネットワークを明らかにしたい。さらに、ヒト腎疾患コホートを用いた MondoA・Rubicon・TFEB 発現の臨床的意義の検証を通じて、腎機能指標や予後との関連性を明確化することで、バイオマーカーおよび治療標的としての妥当性を評価する。最終的には、MondoA 経路を介したオートファジー・老化制御を基盤とする新規治療法の開発を目指し、低分子化合物や TFEB 活性化薬を用いた腎保護戦略を確立することが今後の大いな課題である。

5. 研究成果の公表方法

本研究成果については、国内外への公表を予定している。また、関連するデータについては、腎疾患研究領域の国内学会（日本腎臓学会、日本病理学会など）での口頭発表やポスター発表を通じて逐次報告を行う予定である。これらの成果をもとに、今後は創薬・老化研究分野を含めた国際的な学術会議でも発表を行い、学際的な共同研究の展開を図る予定である。

以上



Identification and Functional Characterization of SASP Factors Involved in the Progression of Chronic Kidney Disease: Toward the Realization of Healthy Longevity

Primary Researcher: Satoshi Minami
Specially Appointed Assistant Professor (Full-time)
The University of Osaka Graduate School of Medicine

This study aimed to identify senescence-associated secretory phenotype (SASP) factors that play central roles in the progression of chronic kidney disease (CKD) and to elucidate their regulatory mechanisms and pathological significance at the molecular level. CKD is closely linked to accelerated aging, in which SASP factors secreted by senescent cells induce inflammation and fibrosis, leading to kidney functional decline; however, the upstream regulatory pathways remain poorly understood. In this study, we focused on the transcriptional axis connecting aging and metabolic regulation, the MondoA–Rubicon/TFEB pathway, and demonstrated that the decline of MondoA promotes mitochondrial dysfunction and cellular senescence through Rubicon-dependent autophagy dysregulation and inactivation of the TFEB–PGC1 α pathway. Furthermore, these alterations enhanced the secretion of SASP factors, driving the transition from acute kidney injury (AKI) to CKD through sustained inflammation and fibrosis.

These findings present a new molecular framework that integratively explains CKD progression through the disruption of autophagy, mitochondrial, and metabolic homeostasis, thereby paving the way for the development of therapeutic strategies based on the modulation of cellular senescence.