

# 論文内容要旨

## Klotho overexpression protects against renal aging along with suppression of transforming growth factor- $\beta$ 1 signaling pathways

(Klotho の過剰発現は、複数の TGF- $\beta$ 1 シグナル伝達経路の抑制  
を伴って、加齢に伴う腎の老化性変化を抑制する)

American Journal of Physiology Renal Physiology, 321(6): F799-  
F811, 2021.

主指導教員：正木 崇生教授

(広島大学病院 腎臓内科学)

副指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：中島 歩教授

(医系科学研究科 幹細胞応用医科学)

大石 展盟

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

研究テーマ：Klotho の過剰発現は、複数の TGF- $\beta$ 1 シグナル伝達経路の抑制を伴って、加齢に伴う腎の老化性変化を抑制する

研究背景：Klotho は抗老化蛋白として知られている。実際に Klotho 過剰発現 (KLTG) マウスは、そのワイルドタイプ (WT) マウスに比べて寿命が 1.3 倍程度延長することが報告されているがその機序は明らかではない。分子レベルでは、Klotho には線維化の主要な増殖因子シグナルである、TGF- $\beta$ 1 に関連する複数の増殖因子シグナルを抑制するといわれているが、これによって抗老化作用を発現するかどうかは明らかではない。一方、老化に伴う腎機能低下の主な発現機序として、間質の線維化、細胞増殖の停止した細胞の蓄積、酸化ストレスが関与している。本研究では、KLTG マウスと WT マウスを、老齢および若年の両方で比較することで、老化に特徴的とされる先の機序が抑制されるか、各種増殖因子の発現の比較と合わせて検証した。

方法：KLTG マウスと WT マウスを、8 週齢 (若年) および 24 か月齢 (老齢) で屠殺し、腎における Klotho 蛋白および線維化、細胞周期停止、酸化ストレスのマーカーの発現を、免疫染色および Western blotting、リアルタイム PCR を用いて比較した。また、TGF- $\beta$ 1 の古典的な細胞内シグナル伝達経路である Smad シグナル伝達経路の活性を比較検討した。加えて、非古典的経路とされる、MAPK シグナル伝達経路、AKT シグナル伝達経路も、同様に活性を比較検討した。

結果：老化に伴う腎での Klotho 発現量の変化を比較したところ、老化によって減弱する傾向が示されたが、KLTG マウスでは老齢でも比較的保たれていた。また KLTG マウスは、24 か月時点での生存率が有意に高かった。血清サンプルの解析から、老化に伴い BUN、Cre が上昇するが、KLTG マウスでは WT に比較して上昇は抑制されており、腎機能が有意に保たれていた。腎の老化を示す SA- $\beta$  GAL の蓄積も、KLTG マウスではその発現が有意に抑えられていた。腎組織での間質の線維化、細胞周期が停止した細胞の蓄積、酸化ストレスレベル各マーカーの比較では、WT マウスでは老化に伴い強く亢進したが、KLTG マウスではこれらマーカーの亢進は有意に抑制されていた。TGF- $\beta$ 1 ならびに細胞内の Smad、MAPK、AKT 各シグナル伝達経路の活性の比較においても、老化に伴う WT マウスでの亢進と比較して、KLTG マウスでは有意に抑制されていた。

結語：Klotho の過剰発現により、加齢に伴う腎の老化性変化の抑制を伴って、腎機能が維持され、老齢での生存率が高くなることが新たに判明した。また TGF- $\beta$ 1 およびその細胞内伝達シグナルである Smad、MAPK、AKT が老化に伴い活性亢進すること、Klotho の過剰発現によってこの亢進が抑制されることが判明した。