

特集 : AKI・急性腎不全

尿細管障害と回復のメカニズム

寺田典生 上田訓子 島村芳子 緒方巧二
井上紘輔

はじめに

急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) は、2005 年の AKI ネットワーク (AKIN) により定義された用語であり、現在、欧米を中心に急性腎不全 (acute renal failure : ARF) に代わる用語として一般的になってきている。AKI の診断や治療に関する検討は RIFLE 分類や AKIN による AKI 分類を基に行われる方向となり、知識の集積が期待されている。また、尿細管の再生のメカニズムについても多くの基礎的研究の集積がなされている。本稿では、AKI における尿細管の障害と回復のメカニズムを再生医学的見地からまとめてみたい。

尿細管障害と再生医学

再生医療には、従来の医療では治療することのできなかった高度の機能障害を回復させる“夢の治療”として大きな期待が寄せられている。特に臓器移植がきわめて限定されているわが国では、再生医療への期待は大きい。神経、肝臓、膵臓、心臓などにおいては、再生医療分野に関する報告が多く見受けられる。その細胞の起源としては、iPS 細胞、ES 細胞、骨髄幹細胞、組織幹細胞、臍帯血などの候補があり、それぞれの特性を生かした研究がなされている。

一方、腎臓は再生医学という点でやや出遅れている臓器といった印象を与えがちであるが、それは血液透析や腹膜透析の治療法が広く普及し、慢性腎不全の治療法が透析療法という点では完成度が高く、治療成績が良いことに起因していると思われる。しかし急性尿細管壊死などの急性腎不全において、機能が回復する病態が存在することもよく

知られている。急性尿細管壊死では、脱落した尿細管細胞を補うべく新規に尿細管細胞が再生されているのだが、どの細胞を起源として尿細管細胞が再生されるのか、また、どのような因子が再生を決定づけるのかという問題はいまだに解明されていない。現在、末期腎不全により透析療法に至っている患者数は全国で 28 万人を超え、今後、糖尿病性腎症の増加、高齢化に伴う腎硬化症が増加し、さらに透析療法導入患者の増加が予想され、社会医学的な医療費の面からも、抜本的対策が急務である。進行性腎障害の特徴である荒廃していく腎組織を、何らかの方法で回復させることが必要である。その一つの可能性として腎尿細管細胞あるいは、腎糸球体の再生を図ることにより、腎組織と腎機能の回復を期待することができるかもしれない。

尿細管細胞障害の病態生理

AKI の病理所見として、AKI の回復期に入ると、扁平な尿細管上皮細胞が尿細管基底膜に沿って増殖を始める。徐々に細胞丈は回復し、正常な尿細管上皮細胞に近づく。腎機能が可逆性の場合はこのような過程を示すが、不可逆性の場合には尿細管萎縮と間質の線維化へ向かう。尿細管障害の原因は虚血、薬剤などさまざまであるが、多くの場合、尿細管細胞内のアデノシン 3 リン酸 (ATP) の枯渇という直接的な障害と、尿細管そのもの、あるいは血管、白血球から誘導される炎症性サイトカインや酸化ストレスの亢進による炎症が起これ、それに引き続く尿細管のアポトーシスあるいはネクローシスが尿細管の脱落を引起する。しかしながら AKI の症例の約 3 割で尿細管細胞が再生し、腎機能は回復することが知られており、そのメカニズムが近年明らかになってきた。

尿細管細胞再生のメカニズム

尿細管細胞再生のメカニズムについては、近年多くの研究があり、尿細管 S₃セグメントに存在する幹細胞が再生に重要な役割を果たしているとする考え方と、元々ある尿細管細胞が形質転換(dedifferentiation)するという説がある。

1. 腎細胞再生にかかわる骨髄由来の細胞

雌マウスに雄マウスの骨髄を移植する実験において、尿細管上皮細胞、間質細胞、糸球体上皮細胞の核に Y 染色体が検出され、少なくともそれらの細胞の一部は骨髄細胞に由来することが判明した¹⁾。また同様に、糸球体メサンギウム細胞の一部も骨髄細胞に由来することが明らかになった^{2,3)}。ヒトにおいても、女性ドナーの腎を男性に移植した場合、尿細管上皮細胞や糸球体に Y 染色体陽性細胞が検出された。ただ最近、細胞融合という現象が注目され、単に Y 染色体が陽性ということからは骨髄細胞が腎細胞に分化誘導したとは結論しえないという考えもある。腎臓の細胞の一部は骨髄由来幹細胞に由来すると考えられることから、そのような幹細胞を同定し、分化の機序を明らかにすることができれば、障害を受けた腎細胞を再生する細胞療法を開発するための手がかりが得られる可能性がある。骨髄由来の細胞がメサンギウム細胞に分化誘導されることは、多くの報告が裏づけているが、それを病態の改善にどう結びつけるかは今後の問題であろう。

一方、*LacZ* 遺伝子あるいは *GFP* 遺伝子を組み込んだ遺伝子改変マウスの骨髄を移植し、虚血再還流による急性尿細管障害を作製したモデルマウスでの検討では、マーカー遺伝子が尿細管内で認められたという報告と、認められなかったとする報告がある、すなわち、骨髄細胞が尿細管細胞に分化誘導されたという報告とされなかったという報告があり、尿細管細胞については、次の項で述べる腎に内在する尿細管細胞の関与のほうが大きいのではないかという議論が多いのが現状であるが、今後の更なる検討が必要と考えられる。しかし、G-CSF などで骨髄細胞の遊走を促進すると AKI の予後が動物実験レベルで改善したという報告は散見される⁴⁾。骨髄中の hematopoietic stem cells (HSCs) あるいは mesenchymal stem cells (MSCs) が腎臓に遊走し、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、細胞増殖作用がある液性因子を介して尿細管の再生に関与しているという考え方が有力である⁵⁾。

2. 尿細管の脱分化(dedifferentiation)による再生

前述したように当初は、骨髄細胞が腎にリクルートされ尿細管細胞に分化するという考え方が拡まったが、現在は、

分化してもごくわずかな尿細管であり、急性腎不全後の再生尿細管の多くは骨髄細胞由来ではなく、腎臓の内因性の細胞あるいは腎内にある幹細胞由来であるという考え方が主流になったと考えられる。その決め手ともなった論文は、尿細管由来の細胞にのみマーカー遺伝子を入れた実験で、AKI 後の再生細胞が生存した元々ある尿細管細胞由来であることを示した Bonventre らの仕事である⁶⁾。彼らおよびわれわれのデータからは、AKI の病態の過程で障害を受けた尿細管細胞がアポトーシスあるいはネクローシスを起こして脱落するが、残った細胞が脱分化(dedifferentiation)し増殖再生するという考え方が出てきている。われわれの実験でも、AKI の回復期に腎胎生期に出現するさまざまな遺伝子(*Wnt4*, *Notch*, *Ets1*)が再発現し、増殖能の高い細胞が出現することを報告している^{7~9)}。この脱分化がどのようなメカニズムで起こるのかは不明であるが、HSCs あるいは MSCs が放出する液性因子の関与などが考えられる。また、虚血などの刺激のあと腎内でさまざまなサイトカインや増殖因子が発現し、尿細管細胞が脱分化し、増殖能が高い細胞が出現する可能性が示唆されている。

3. 腎尿細管細胞再生にかかわる内因性の幹細胞

現在、多くの臓器に幹細胞が存在し再生に関与していることが報告されている。腎臓内の幹細胞に関する研究も多くなされている。Oliver らは幹細胞のマーカーの一つである slow cycling cell が腎髄質にあり尿細管に分化すると報告をしている¹⁰⁾。一方 Maeshima らは、腎皮質に slow cycling cell が存在していることを報告している¹¹⁾。ただし、急性腎不全の回復期には PCNA 陽性細胞は髄質外層部を中心に多く認められるが、その分裂細胞すべてがいわゆる幹細胞由来であるとは考えにくい。また、虚血などの刺激のあと腎内でさまざまなサイトカインや増殖因子が発現し、尿細管細胞が脱分化した場合、幹細胞的な細胞が出現する可能性が示唆されており、幹細胞と脱分化した細胞の明確な区別は困難である。図に示すように現時点では、尿細管細胞の再生には少なくとも3つの可能性があり、1つは腎内の幹細胞の分化、2つ目は腎内の細胞が何らかの機序で脱分化(defifferentiation)を起こし分裂能の高い細胞になる、3つ目は骨髄細胞など腎外からの細胞のリクルートとその細胞によるサイトカインの関与である。

4. iPS 細胞, ES 細胞からの腎細胞誘導の現状

ES 細胞(胚性幹細胞)は初期胚から樹立された未分化細胞である。また、iPS 細胞も ES 細胞と同様、各種細胞への分化誘導能を有し、しかも倫理的な問題が少ないことから、臨床応用への期待が高まっている。ES 細胞からの腎臓の形

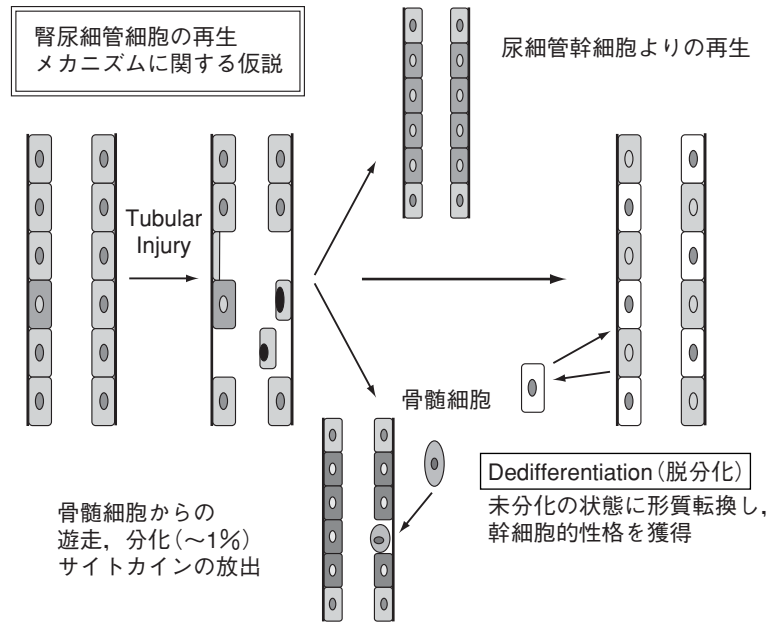


図 尿細管細胞の再生メカニズムに関する仮説

成に関する報告としては、Thomson らによるマウス ES 細胞をマウス腎皮膜下に移植すると奇形腫が発生し、その構成はさまざまな胚葉から成るが、そのなかに腎糸球体も散見されるという *in vivo* の実験報告¹²⁾と、ヒト ES 細胞から胚葉体を形成し、そこにさまざまな成長因子を添加し分化に与える影響を検討した結果、レニンなどのマーカーを発現する細胞を誘導したという Schuldiner らによる *in vitro* での実験報告¹³⁾があるのみである。この2つの初期の研究では腎臓への分化については詳細な検討はされていない。われわれを含めていくつかのグループは、マウス ES 細胞をソースとして用いての尿細管細胞への分化誘導の報告をした¹⁴⁾。また Yokoo らは、MSC を胎生期の腎内に移植して腎再生を図るという独創的な研究を報告している¹⁵⁾。しかしながら、腎臓は 20 種類以上にも及ぶそれぞれが機能分化した細胞集団から構成され、また解剖学上も非常に複雑な臓器であり、現段階では腎臓そのものの再生にはとても及ばないのが現状であるが、今後 iPS 細胞などを用いた研究の進展が望まれる。

今後の展望

年々増加し続ける慢性腎不全と透析患者数の現状を改善すべく、われわれ nephrologist は少しでも臨床に結びつく可能性のある研究には前向きに取り組み、全力をあげて考える必要があると思われる。最近では一般の新聞などにも

多くの再生医学の記事が載り、多くの腎臓病患者は腎臓の分野での再生医学の進歩を望んでいる。腎臓分野での再生医学の臨床応用は現状ではまだまだ先のこととなると考えられるが、臨床応用に持っていくためには、まず多くの基礎的な検討が必須であり、この分野での研究の発展が望まれる。今後は AKI の診断や治療に関する検討は RIFLE 分類や AKIN による AKI 分類を基に行われる方向となり、研究者間・施設間の比較検討により疫学、治療などについての知識の集積が期待される。また、尿細管再生のメカニズムについても多くの基礎的研究の集積がなされており、尿中バイオマーカーの開発とも併せ、新規の診断・治療法の開発が期待される。

文献

1. Poulosom R, Forbes SJ, Dilke KH, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J Pathol* 2001 ; 195 : 229-236.
2. Itoh T, Suzuki A, Imai E, et al. Bone marrow is a reservoir of repopulating mesangial cells during glomerular remodeling. *J Am Soc Nephrol* 2001 ; 12 : 2625-2635.
3. Imasawa T, Utsunomiya T, Kawamura T, et al. The potential of bone marrow-derived cells to differentiate to glomerular mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 2001 ; 12 : 1401-1409.
4. Iwasaki M, Adachi Y, Minamino K, et al. Mobilization of bone marrow cells by G-CSF rescues mice from cisplatin-induced renal failure, and M-CSF enhances the effects of G-CSF. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 658-666.

5. Cantley LG. Adult stem cells in the repair of the injured renal tubule. *Nat Clin Pract* 2005 ; 1 : 22-32.
6. Humphreys BD, Valerius MT, Kobayashi A, Mugford JW, Soeung S, Duffield JS, McMahon AP, Bonventre JV. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. *Cell Stem Cell* 2008 ; 2 : 284-291.
7. Tanaka H, Terada Y, Okado T, et al. Expression and function of Ets-1 during experimental acute renal failure in rats. *J Am Soc Nephrol* 2004 ; 15 : 3083-3092.
8. Terada Y, Tanaka H, Okado T, et al. Expression and function of the developmental gene Wnt-4 during experimental acute renal failure in rats. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; 14 : 1223-1233.
9. Kobayashi T, Terada Y, Kuwana H, Tanaka H, Okado T, Kuwahara M, Tohda S, Sakano S, Sasaki S. Expression and function of the Delta-1/Notch-2/Hes-1 pathway during experimental acute kidney injury. *Kidney Int* 2008 ; 73 : 1240-1250.
10. Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, et al. The renal papilla is niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* 2004 ; 114 : 795-804.
11. Maeshima A, Yamashita S, Nojima Y. Identification of renal progenitor-like tubular cells that participate in the regeneration processes of the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; 14 : 3138-3146.
12. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; 282 : 1145-1147.
13. Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, et al. Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 11307-11312.
14. Kobayashi T, Tanaka H, Kuwana H, et al. Wnt4-transformed mouse embryonic stem cells differentiate into renal tubular cells. *Biochem Biophys Res Comm* 2005 ; 336 : 585-595.
15. Yokoo T, Ohashi T, Shen JS, et al. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 3296-3300.