



Possible involvement of myofibroblasts in cellular recovery of uranyl acetate-induced acute renal failure in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 孫, 滌非 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1211

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 358号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏名	孫 滌 非		
論文題目	<p>Possible involvement of myofibroblasts in cellular recovery of uranyl acetate-induced acute renal failure in rats (酢酸ウラニウム誘発急性腎不全ラットでの尿細管細胞回復における筋線維芽細胞関与の可能性)</p>		

博士(医学) 孫 濂 非

論文題目

Possible involvement of myofibroblasts in cellular recovery of uranyl acetate-induced acute renal failure in rats
(酢酸ウラニウム誘発急性腎不全ラットでの尿細管細胞回復における筋線維芽細胞関与の可能性)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

急性腎不全における尿細管細胞傷害の回復は創傷治癒の一つの形態と考えられる。肉芽組織での線維芽細胞は形態的には、平滑筋細胞の特徴を示し、 α 平滑筋アクチン陽性で、筋線維芽細胞と呼ばれる。線維芽細胞様細胞あるいは筋線維芽細胞は、創傷退縮を介した創傷治癒における重要因子であるため、これらもまた急性腎不全の尿細管細胞回復過程に関与する可能性がある。急性腎不全モデルでは近位尿細管、特にS3セグメントが主たる障害部位であることが知られてる。一方、再生細胞の起源については、一般に、残存尿細管上皮細胞由来と考えられているが、尿細管発生時のように多分化能を持つ間質細胞の関与の可能性もあり、正確な起源は明らかではない。本研究では、酢酸ウラニウム誘発ラット急性腎不全での尿細管傷害の進展、再生細胞の起源と動態を尿細管間質筋線維芽細胞との関連で検討した。

〔材料ならびに方法〕

急性腎不全モデルはSDラットに酢酸ウラニウム5mg/Kgを静注し作成した。すべてのラットに屠殺1時間前にプロモデオキシウリジン(BrdU)を腹腔内投与した。急性腎不全作成後2日目から21日目までのラットを経時的に屠殺し、腎組織を検討した。酵素法にて血清クレアチニン値を測定し、腎組織を4%パラホルムアルデヒド及びメタカルンにより固定、パラフィン包埋後、免疫染色とレクチン組織染色を行った。PAS染色にて近位尿細管傷害進展の形態計測を施行した。再生細胞の動態はBrdUとビメンチンをマーカーに用い検討した。筋線維芽細胞とマクロファージの同定は、それぞれ α 平滑筋アクチンとED1を用いた。再生細胞の同定のため細いヘンレ下行脚はaquaporin-1、太いヘンレ上行脚はTamm-Horsfall proteinをマーカーに用いた。又、免疫電顕にて α 平滑筋アクチン陽性筋線維芽細胞の局在を検討した。

〔結果〕

壊死尿細管は酢酸ウラニウム投与後、最初に皮質髄質境界部に出現し近位尿細管の下流及び上流方向に広がった。傍尿細管 α 平滑筋アクチン陽性筋線維芽細胞は2日後に尿細管壊死部に出現し露出尿細管基底膜を伴う尿細管壊死の進展に伴い広がり、4、5日までに皮質と髄質外層外帯にわたる網目状構造を形成した。尿細管再生(BrdU陽性細胞)はS3セグメントの最遠位部の非致命的傷害細胞から始まった。これらは、尿細管セグメントの組織化学的マーカーを用い確認した。再生細胞(BrdU陽性細胞及びビメンチン陽性細胞)は、筋線維芽細胞が接着した尿細管基底膜に沿って近位部へ向かい進展した。免疫電顕にて筋線維芽細胞の尿細管基底膜を通過しての尿細管腔内への侵入像は認めなかった。尿細管間質 α 平滑筋アクチン陽性領域は、7日後にピークとなり、その後15日までにはほとんど消失し、21日後には非常に拡張した尿細管周囲と拡大した間質のみに残存した。ED1陽性マクロファージは7日頃をピークに障

害部位に一過性に浸潤し、一部で再生尿細管周囲に認められた。

〔考察〕

今回の実験結果をまとめると、近位尿細管障害は皮髄境界部より出現し、下流及び上流に進展した。傷害直後より近位尿細管 S3 セグメント最遠端より再生が始まり、近位方向へ進展した。一方、間質では近位尿細管傷害に一致して筋線維芽細胞が露出基底膜周囲に出現し、ネットワークを形成し、細胞回復終了まで維持された。この間、筋線維芽細胞の尿細管管腔内への進入や活発な増殖は認めなかった。尿細管傷害後一過性に出現する筋線維芽細胞は傷害尿細管の TBM 虚脱からの保護、細胞増殖に必要な細胞外基質や増殖因子の産生を介した細胞回復への関与が推測された。

〔結論〕

酢酸ウラニウム誘発ラット急性腎不全では近位尿細管最遠部における非致命的傷害細胞自体が尿細管再生の主たる起源であり、尿細管壊死直後の尿細管基底膜に接着する尿細管間質筋線維芽細胞の一過性の出現が尿細管細胞回復で重要な役割をなす可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

急性腎不全における尿細管細胞傷害の回復の機序を明らかにすることは、腎不全の予防、治療、予後を考える上で重要である。尿細管上皮細胞の再生には筋線維芽細胞が一般的な創傷治療過程と同様に重要因子と考えられる。申請者は酢酸ウラニウム誘発ラット急性腎不全での尿細管傷害の進展、尿細管上皮再生の動態と筋線維芽細胞との関連について検討した。

急性腎不全モデルとして SD ラットに酢酸ウラニウム 5 mg/Kg 静注して作成した。急性腎不全作成後 2 日から 21 日までのラットを経時的に屠殺し、腎組織を組織学的、免疫組織化学的あるいは免疫電顕にて解析した。また BrdU を投与して増殖している細胞を同定した。

酢酸ウラニウム投与後、尿細管上皮の壊死は最初に皮質髄質境界部に出現し、近位尿細管の下流および上流方向に広がった。再生上皮細胞を BrdU の取込みによって見ると、近位尿細管の S3 セグメント遠位側から始まり、上行性に再生細胞の増生が進行した。BrdU 標識再生細胞には尿細管脱分化のマーカーであるピメンチンの発現を認め、また近位尿細管のマーカーである aquaporin-1 (AQP-1) を認めたが、Tamm-Horsfall protein (THP) は認めず、近位尿細管由来と考えられた。尿細管の間質においては、筋線維芽細胞のマーカーである α -smooth muscle actin (α -SMA) 陽性細胞が尿細管再生部位の基底膜に沿って広がるのが認められた。筋線維芽細胞は BrdU の取込みは認められず、 α -SMA の免疫電顕では尿細管基底膜を越えて内腔側には認められなかった。これらの筋線維芽細胞の近傍には、ED1 陽性マクロファージの集簇を認めた。

以上の結果より、酢酸ウラニウム誘発急性腎不全モデルにおいて、(1)尿細管上皮壊死は皮質髄質境界部から、上行性および下行性に広がる、(2)再生尿細管部位に沿って筋線維芽細胞が出現する、(3)上皮の再生は近位尿細管の S3 セグメント遠位側から始まる。さらに、(4)尿細管上皮の再生と筋線維芽細胞の出現は基底膜をはさんで相関して進行することが明らかとなった。これらの動態とマクロファージの出現が関連していることから、壊死に陥る尿細管上皮および再生尿細管上皮から何らかのシグナルがマクロファージを活性化し、さらに筋線維芽細胞の分化を促し、尿細管上皮の再生に関与することが示唆さ

れた。

審査委員会では、申請者が酢酸ウラニウム誘発急性腎不全モデルによって、尿細管壊死の起り方、再生部位とその細胞の同定、再生進展に筋線維芽細胞が重要な役割を果たしている可能性を、広範で精緻な実験によって明らかにしたことを高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

1. なぜ酢酸ウラニウムを用いたか、この細胞毒性の作用機序について
2. なぜ酢酸ウラニウムは近位尿細管の特定の部位に作用するか
3. 酢酸ウラニウムの急性腎不全は人の腎疾患のどのようなモデルになるのか
4. 障害を受けた尿細管上皮からどのようなシグナルが出るか
5. 薬剤によって腎上皮の障害部位は如何に異なるか、虚血ではどうか
6. 筋線維芽細胞については、本当に下行性といえるのか
7. 再生尿細管上皮でビメンチンがなぜ発現するか
8. 腎上皮再生におけるビメンチン陽性細胞と筋線維芽細胞とマクロファージのお互いの関係について
9. 酢酸ウラニウムに対する腎上皮、筋線維芽細胞、マクロファージの感受性の差について
10. 筋線維芽細胞に BrdU はなぜ取り込まれないのか
11. マクロファージは細胞の壊死、アポトーシスに対して異なる反応をすると考えられている。腎上皮の障害はどちらか

これらの質問に対して申請者の解答はほぼ適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査委員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 筒井祥博
副査 藤田公生 副査 戸倉新樹