

# Role of atrophic tubules in development of interstitial fibrosis in microembolism-induced renal failure in rat

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: 鈴木, 隆之 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1629">http://hdl.handle.net/10271/1629</a>

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	医博論第 352号	学位授与年月日	平成13年11月16日
氏名	鈴木隆之		
論文題目	Role of atrophic tubules in development of interstitial fibrosis in microembolism-induced renal failure in rat (腎微小梗塞誘発腎不全ラットにおいて萎縮尿細管が間質の線維化に果たす役割について)		

博士(医学) 鈴木隆之

論文題目

Role of atrophic tubules in development of interstitial fibrosis in microembolism-induced renal failure in rat  
(腎微小梗塞誘発腎不全ラットにおいて萎縮尿細管が間質の線維化に果たす役割について)

論文の内容の要旨

[はじめに]

慢性腎不全においては糸球体傷害よりも間質の傷害の程度がより糸球体濾過値の低下に関係することが知られている。尿細管間質病変の進展については、尿細管細胞、浸潤細胞、間質細胞が相互に複雑に関連し間質の線維化を引き起こすことが重要な機序と考えられるが、その詳細なメカニズムについては未だ不明の点が多い。我々はラット腎動脈にmicrosphereを注入し、多発微小梗塞を引き起こすことによって生じる進行性腎不全のモデルを確立した。このモデルの組織学的特徴は初期にみられる基底膜肥厚を伴う萎縮尿細管と進行期に認められる拡張尿細管および、間質の線維化である。萎縮尿細管では尿細管上皮細胞のbrush borderが消失し、細胞の丈が短くなり、基底膜の肥厚、重層化を示す。今回、我々はこの萎縮尿細管の成立機序、および萎縮尿細管と間質の線維化との関連を組織免疫学的手法を用いて検討した。

[材料ならびに方法]

腎動脈にmicrosphereを注入し微小梗塞を作成、4、8、12週後に腎組織を採取し、免疫組織化学染色にて各種抗原[Phaseolus vulgaris erythroagglutinin (PHA-E: 近位尿細管のマーカー)、Tamm-Horsfall glycoprotein (THP: ヘンレ上行脚のマーカー)、peanut agglutinin (PNA: 遠位尿細管のマーカー)、cytokeratin (集合管のマーカー)、vimentin (傷害尿細管のマーカー)、 $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA: myofibroblastのマーカー)、platelet derived growth factor (PDGF)、PDGF受容体、heat shock protein (HSP) 47 (collagen産生のマーカー)、rat endothelial cell antigen (RECA)-1 (内皮細胞のマーカー)、IV型collagen]の発現を検討した。

[結果]

萎縮尿細管は細胞質内にvimentin、PDGFを強く発現し、その周囲にPDGF受容体、 $\alpha$ SMA陽性細胞の集簇を認めた。また、尿細管周囲の毛細血管(RECA-1陽性)内腔の面積は減少していた。傷害尿細管細胞及びその近傍のmyofibroblast( $\alpha$ SMA陽性細胞)は共にcollagen産生シャペロンHSP47を発現し、両細胞に挟まれた部分にIV型collagenの増加が認められた。しかし、萎縮尿細管細胞はPHA-E、THP、PNA、cytokeratinのいずれの尿細管細胞のマーカーも陰性であった。

更に尿細管・間質病変中に傷害細胞と正常細胞が混在する尿細管を見出し、これを“モザイク尿細管”と名付けた。モザイク尿細管のなかの正常尿細管細胞はPHA-Eが陽性であることから、モザイク尿細管は近位尿細管由来であることが判明した。このモザイク尿細管は皮質深層から髄質外層外帯にかけて多く出現し、傷害細胞は萎縮尿細管同様vimentin、PDGF、HSP47が陽性であったが、正常尿細管細胞はこれらの抗原の発現を認めなかった。傷害尿細管細胞に近接する間質細胞はPDGF受容体、 $\alpha$ SMA、HSP47がともに陽性であったが、正常尿細管細胞近傍の間質細胞はいずれの抗原も陰性であった。Collagen産生

シャペロンHSP47を発現する傷害尿細管細胞及びmyofibroblast( $\alpha$ SMA陽性細胞)に挟まれた部分にのみIV型collagenの強い沈着が認められた。

#### [考察]

近位尿細管由来のモザイク尿細管は、その組織化学的特徴から病期が進展するとやがて完全な萎縮尿細管に移行することが示唆された。モザイク尿細管と萎縮尿細管の傷害尿細管細胞はともにHSP47が陽性であることから、これらの尿細管細胞はcollagenを産生していることが考えられる。さらに傷害尿細管細胞はPDGFが陽性であり、これらの細胞に近接している間質細胞にPDGF受容体、 $\alpha$ SMA、HSP47が発現していることから、傷害尿細管細胞がPDGFを介して近傍の間質細胞に作用しmyofibroblastに形質転換させ、形質転換を示したmyofibroblastがcollagenを産生するようになることが考えられた。

このモデルにおける萎縮尿細管の発現機序としては、腎動脈にmicrosphereを注入することにより生ずる明らかな梗塞巣以外にも腎実質、特に皮質深部および髓質外層外帯を主体とした領域に微小循環傷害が引き起こされ、局所的な低酸素状態が引き金になることが考えられた。

#### [結論]

微小循環障害により傷害された近位尿細管細胞とそれにより誘導されたmyofibroblastは共に細胞外基質を産生し、周囲の間質の線維化に関与することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

慢性腎不全の原因として糸球体の傷害が主体の場合と、尿細管間質病変が主体の場合があるが、近年尿細管間質病変が目されるようになってきた。しかし、その病理発生は充分明らかにされていない。尿細管上皮に加えられた刺激によってある種のサイトカインや増殖因子が産生され、周囲の間質細胞に影響を与え、線維化が進展すると考えられる。申請者らは尿細管間質病変による慢性腎不全の動物実験モデルを作成し、萎縮尿細管が生じて間質が線維化する機構を免疫組織化学的方法を用いて検討した。

ラットの腎動脈に直径20-30 $\mu$ mのmicrosphereを注入し、4、8、12週後に腎臓を採取し、腎尿細管の変化を観察するとともに免疫組織化学染色で各種マーカーの発現をモルホメトリックに定量的に解析した。Microsphere投与後4週ほどで、腎の深部皮質から髓質外層外帯に基底膜の肥厚を伴った萎縮尿細管が巣状に出現、これらの上皮では免疫染色で、vimentinと血小板由来増殖因子(PDGF)が陽性であることを示した。これらの萎縮尿細管の周囲の間質細胞はPDGFレセプター(PDGF-R)陽性、および筋線維芽細胞のマーカーである $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ SMA)陽性であることを示した。

モルホメトリックな解析によって、萎縮尿細管の数と $\alpha$ SMA陽性筋線維芽細胞数が相関関係を示すことを明らかにした。また、brush borderが消失した萎縮尿細管上皮細胞と近位尿細管上皮のマーカーを有する正常尿細管上皮細胞が混在したモザイク尿細管の出現により、萎縮尿細管が近位尿細管由来であることを明らかにした。PDGF陽性萎縮尿細管に近接した間質細胞が、PDGF-Rと $\alpha$ SMAが陽性であることから、microsphere注入後の虚血によって生じた萎縮尿細管上皮に誘導されたPDGFが隣接したPDGF-R陽性の間質細胞に作用して、間質細胞を筋線維芽細胞に形質転換していることが示唆された。萎縮尿細管上皮細胞および筋線維芽細胞にheat shock protein 47(HSP47)が発現し、それらの細胞間に4型コラーゲンが蓄積することから、萎縮尿細管細胞と筋線維芽細胞がともに細胞外基質を産生し、間質の線維化に

関与していることが支持された。

審査委員会では、申請者らは腎尿細管間質障害を起こす新しい実験モデルを作成し、虚血刺激によって萎縮尿細管上皮から産生するPDGFが隣接する間質に筋線維芽細胞を誘導し、これらの細胞が尿細管間質に線維化を生ずる機構を明解に示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) Microspheresの大きさと、投与する量をいかに決めたか
- 2) 近位尿細管が虚血に感受性が強い理由について
- 3) PDGF発現促進因子としてthrombinがあるが、血栓形成は認められたか
- 4) 尿細管上皮の蛋白再吸収による細胞障害のメカニズムについて
- 5) この実験モデルにおいて、尿細管傷害より糸球体の病変はなぜ遅れるのか
- 6) このモデルにおいて、血圧の上昇が顕著でない理由について
- 7) マクロファージやその産生するtumor growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ )についてはどうであったか
- 8) この実験モデルにおけるrenin-angiotensin系への関与について、特にPAI-1の発現について
- 9) この実験モデルにおいて、angiogenesisは生じないか
- 10) Angiotensin converting enzyme(ACE)阻害剤の投与によって、この実験モデルの線維化は抑えられるか
- 11) この実験モデルに類似したヒトの腎疾患にどのようなものがあるか
- 12) Focal segmental glomerulosclerosis (FGS)と、この実験モデルの相違点

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 浦野 哲盟 副査 鈴木 和雄