

### 糸球体上皮細胞障害と腎臓病

和田 隆志 原 章規

#### 要 旨

末期腎不全による慢性透析患者は世界中で増加の一途を辿り、本邦でも約 27 万人に上っている。さらに、慢性腎臓病は心血管疾患の重要な危険因子であり生命予後と深く関わる。その際、蛋白尿と腎機能低下が臨床的にことに重要であり、両者は密接に関連する。従って、蛋白尿はじめ腎臓病の進展機序の解明とその治療戦略の構築は医学的、社会的そして医療経済上の重要な課題である。最近になり、糸球体上皮細胞（ポドサイト、足細胞）に関する知見が飛躍的に増加している。糸球体上皮細胞とその足突起間に存在するスリット膜と呼ばれる構造は蛋白尿の発症を防ぐための濾過障壁機構として重要である。糸球体上皮細胞、スリット膜の障害は蛋白尿を生じ、蛋白尿自体が腎障害を惹起・増悪させ腎機能を低下させる。加えて、糸球体構築の維持においても糸球体上皮細胞は重要な役割を果たしている。今後、糸球体上皮細胞ならびにスリット膜関連分子のさらなる検討がすすみ、臨床病態の解明ならびに治療戦略の構築と臨床応用が期待される。

〔日内会誌 98：413～420, 2009〕

**Key words**：腎臓病，糸球体上皮細胞（ポドサイト），蛋白尿，スリット膜

#### はじめに

腎臓病による透析患者は国内外で増加の一途を辿り、本邦でも約 27 万人に上っている。いまや国民の 500 人に 1 人が透析をうけ、人口比に換算すると世界で最大となっている。さらに、腎臓病は心血管事故の独立した危険因子であり、生命予後に大きな影響を与える。したがって、腎臓病の進展機序の解明とその治療戦略の構築は医学的、社会的そして医療経済上の重要な課題である。

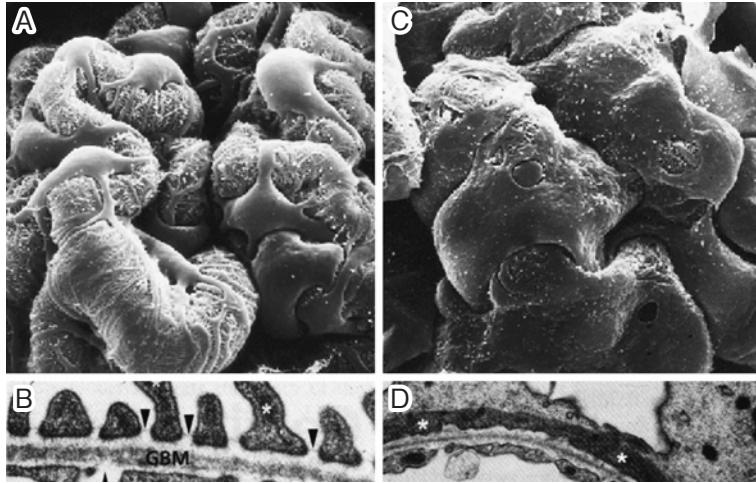
一方、臨床的に蛋白尿の存在は腎臓病の病因を問わず末期腎不全への危険因子となる。これは、蛋白尿が糸球体障害の結果として生じるこ

とに加えて、蛋白尿自体が尿細管・間質障害の進展因子として作用することに起因する。臨床的に蛋白尿の存在により、腎機能低下速度は倍加する<sup>1)</sup>。したがって、蛋白尿の出現機序の解明とその改善を考慮にいたした治療法は腎予後改善に重要である。最近、糸球体上皮細胞とその足突起間に存在するスリット膜と呼ばれる構造が、蛋白尿と密接に関連する濾過障壁機構であることを示唆する知見が飛躍的に増えている。糸球体上皮細胞は足突起を有する特異な形態をとり、ポドサイトあるいは足細胞とよばれている。加えて、糸球体構築の維持においても糸球体上皮細胞は重要な役割を果たしている。

そこで本稿では、糸球体上皮細胞障害と腎臓病について蛋白尿発症を軸に概説する。

---

わだ たかし：金沢大学医薬保健研究域医学系血液情報統御学，金沢大学附属病院腎臓内科  
はら あきのり：金沢大学附属病院腎臓内科



GBM, glomerular basement membrane; ▼:スリット膜;※:足突起

図 1. 糸球体上皮細胞, スリット膜の電子顕微鏡像 (文献 2 より改変引用)

- A 糸球体上皮細胞の走査電子顕微鏡像
- B 足突起 (※) ならびにスリット膜 (矢頭) の電子顕微鏡像
- C 微小変化型ネフローゼ症候群における走査電子顕微鏡像
- D 微小変化型ネフローゼ症候群における足突起の消失

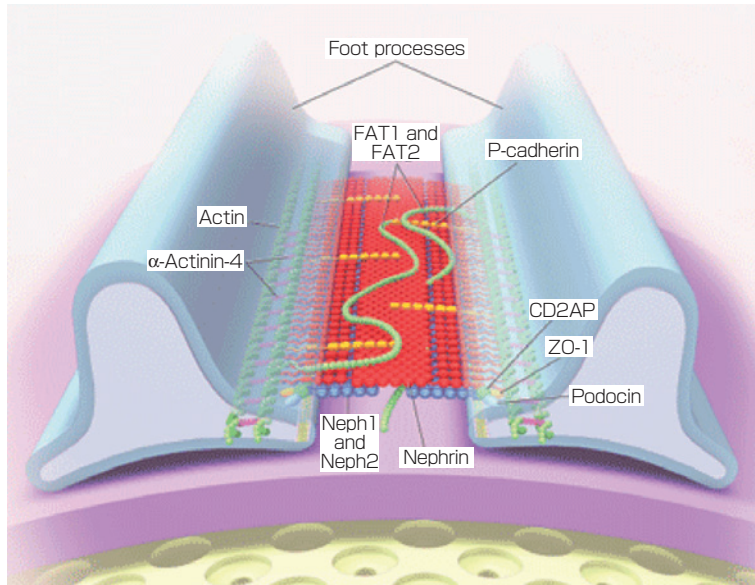
## 1. 糸球体上皮細胞の構造とスリット膜

糸球体の主たる構成細胞は, 内皮細胞, メサングウム細胞ならびに糸球体上皮細胞である. このうち糸球体上皮細胞は高度に分化した終末分化細胞であり, 糸球体基底膜を外側から覆いかぶさるように存在する. 図 1A のように走査電子顕微鏡による観察では, 糸球体上皮細胞の突起は細胞体から伸びる一次突起と, そこからさらに伸展する二次突起がある. 二次突起の末端にある足突起は常に別の細胞 (体) からでた突起が隣り合うように絡み合った特異な形態をとる. スリット膜はこの足突起と足突起の 20~60 nm の間隙に形成される (図 1B). この細胞間接着装置の一種であるスリット膜は, “ジッパー様” の構造をしていると報告されている<sup>2~4)</sup> (図 2). この糸球体上皮細胞の細胞骨格は主として, 構造維持に重要なアクチン線維, 中間径フィラメントならびに微小管で形成されている. さらに, 糸球体上皮細胞表面のポドカリキシンはシアル

酸に富み, 陰性荷電を有し形態維持に関与すると考えられている. この足突起はネフローゼ症候群で多量の蛋白尿がみられる際に消失がみられる (図 1C, D). 最近, この消失機序にシアル酸低下が関与する報告がされた.

## 2. 糸球体上皮細胞, スリット膜障害と蛋白尿

糸球体上皮細胞, スリット膜の機能不全が蛋白尿の出現に深く関与することが次第に判明してきた<sup>5)</sup>. この蛋白尿出現の分子機序の解明は最近になり飛躍的な進歩をとげた. これは主としてスリット膜関連分子の同定とその機能が解明したことに起因する. この数年の間に, ネフリン (nephrin) はじめポドシン (podocin),  $\alpha$ -アクチニン 4 ( $\alpha$ -actinin-4) といったスリット膜関連分子が先天性ネフローゼ症候群の責任遺伝子との関連で次第に明らかになっている<sup>6)</sup> (図 3). 以下にスリット膜関連分子につき記載する.



CD2AP, CD2-associated protein ; ZO-1, zonula occludens-1

図2. スリット膜のフィルター構造 (文献4より改変引用)

### 1) ネフリン

ネフリンはフィンランド型先天性ネフローゼ症候群の責任遺伝子*NPHS1*の遺伝子産物として同定された<sup>7)</sup>。ネフリンはスリット膜構造の中心の分子と考えられている。最初に遺伝子異常を報告したTryggvasonらは、隣接する糸球体上皮細胞足突起間のスリット膜部の細胞外部を構成し、細胞外ドメインの同士の結合によりスリット膜のフィルター構造を形づくっていると提唱している<sup>4)</sup>(図2)。最近になり、ネフリンはスリット膜の構成分子としてだけではなく、細胞内ドメインによるシグナル調節機構への関与に関する知見が集積してきた。ネフリン細胞内ドメインは他のスリット膜関連分子と複合体を形成し、FynといったSrcファミリーキナーゼ等によるチロシンリン酸化などを介してアクチンに代表される細胞内骨格の動態に関与する可能性が示されている<sup>8)</sup>。

### 2) ポドシン

ポドシンは常染色体劣性遺伝形式をとる家族性ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因遺伝子*NPHS2*の遺伝子産物として同定された<sup>9)</sup>。

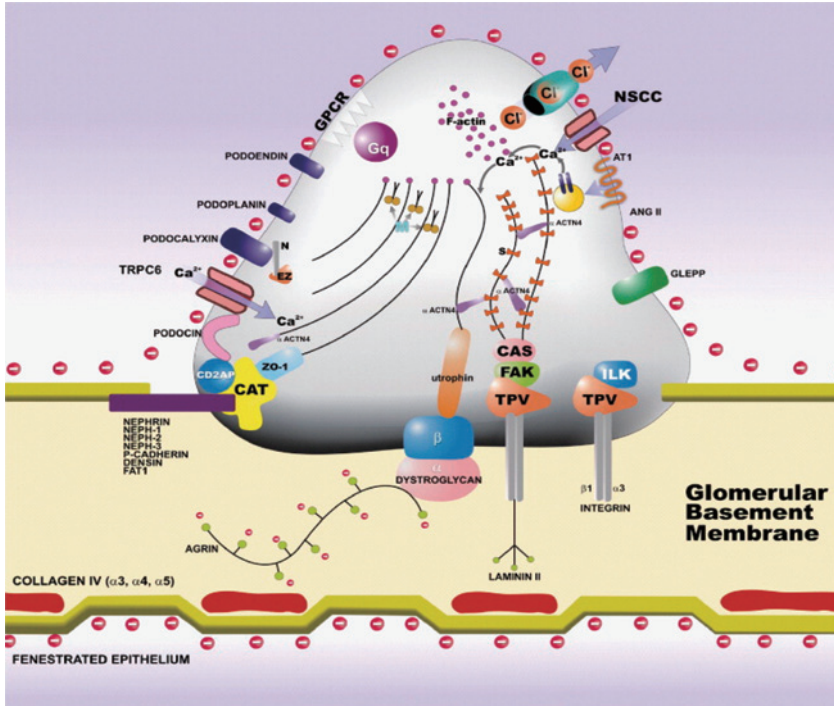
ポドシンはスリット膜部近傍に局限し、スリット膜を維持している。さらに、先述のネフリンやCD2APと結合することにより細胞内シグナル伝達にも寄与している。

### 3) CD2AP

CD2APは元来T細胞はじめ免疫担当細胞に発現する接着分子CD2の細胞質部に結合する蛋白として同定された。ヒト腎臓病に先んじて、CD2APノックアウトマウスの検討により、生後早期から蛋白尿が生じ生後6週頃に腎不全で死亡することが報告された。ネフリンと結合し、この分子の欠損によりネフリン機能低下が生じバリアー機能低下をもたらすとともに、シグナル伝達機構への関与も示唆されている。マウスでの報告後、ヒト巣状糸球体硬化症2例にCD2APをコードする遺伝子異常が報告され、実際の臨床例との関連性が示された<sup>10)</sup>。

### 4) その他のスリット膜関連分子

$\alpha$ -アクチニン-4をコードする遺伝子異常が常染色体優性の遺伝形式をもつ家族性巣状分節性糸球体硬化症例で報告された。アクチニンは細胞骨格のアクチンフィラメントと結合し、アク



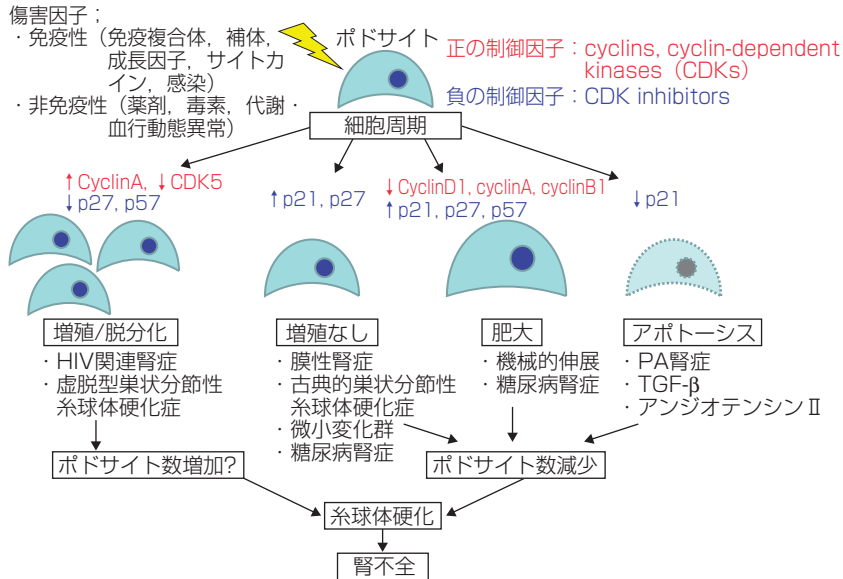
ACTN4,  $\alpha$ -actinin-4 ; CAS, p130Cas, an adaptor protein (Crk-associated substrate) ; CD2AP, CD2-associated protein ; FAK, focal adhesion kinase ; TPV, talin, paxillin, and vinculin complex ; ZO-1, zonula occludens-1 ; AT1, angiotensin receptor 1 ; GLEPP, glomerular epithelial protein 1 ; ILK, integrin-linked kinase ; NSCC, nonselective cation channel ; Fat1, cadherin Fat1 ; TRPC6, transient receptor potential cation channel 6 ; ANGII, angiotensin II ; EZ, ezrin ; GPCR, G-protein coupled receptor ; CAT, catenins

図 3. 糸球体上皮細胞ならびにスリット膜関連分子 (文献 6 より改変引用)

チンの架橋構造を安定化させる。アクチニンの蛋白尿発現への機序は不明な点も多いが、最近ではintegrin-linked kinaseとネフリンの結合に関与し、スリット膜維持や糸球体上皮細胞構造に寄与していると考えられている。さらに、スリット膜関連分子として、tight junctionの構成分子であるZO-1 や元来免疫応答に関与するB7-1, FAT-1, FAT-2 等が存在する。このうち、transient receptor potential cation channel 6 (TRPC 6)の遺伝子変異と家族性巣状分節性糸球体硬化症との関連が注目された<sup>11)</sup>。このTRPC6は足突起表面-スリット膜に存在し、ポドシンと複合体を形成することからスリット膜構造維持に関与すると推測されている。さらに、TRPC6はTRPチャネルに属し、細胞内へのカルシウム流入を

調節している。この遺伝子変異により、アンジオテンシンII依存性の細胞内カルシウム濃度が上昇することも報告され、シグナル伝達機構への役割も示唆される。

最近では、これらのスリット膜関連分子の機能異常が、上記の先天性疾患の原因にとどまらず、後天性の腎臓病の蛋白尿発症にも関与する可能性が示されている。一方で、糸球体上皮細胞、スリット膜だけでは説明が困難な蛋白尿の存在も示唆されている。糸球体係蹄を形成する糸球体基底膜や糸球体内皮細胞との関連を改めて見直すことの重要性も指摘されている。



PA ; puromycin aminonucleoside, TGF ; transforming growth factor

図4. 細胞周期制御性蛋白異常からみた糸球体上皮細胞障害と腎糸球体病変の進展

### 3. 糸球体上皮細胞の細胞周期制御性蛋白異常と腎臓病

高度に分化した終末分化細胞である糸球体上皮細胞障害の病態を考える上で、細胞周期因子との関連も重要である(図4)。免疫学的あるいは非免疫学的障害因子に反応し、糸球体上皮細胞は増殖・脱分化、肥大、アポトーシスといった運命をたどるとされるが、いまだ議論が必要なところである。これらの反応様式は、正および負の制御因子によって制御される細胞周期レベルで捉えることができる。細胞周期制御因子は正の制御因子として働くサイクリンおよびサイクリン依存性キナーゼ(cyclin-dependent kinase ; Cdk)と負の制御因子として働くCdkインヒビターのバランスにより調節されている。正常糸球体では、糸球体上皮細胞におけるサイクリンおよびCdkの発現は低下し、同時にCdkインヒビターであるp27やp57の発現が亢進する。この鏡面的な制御因子の発現バランスにより細

胞周期が停止し、糸球体上皮細胞の終末分化が確立されている。この細胞周期の停止と並行して糸球体上皮細胞の細胞骨格の構築、糸球体上皮細胞特異的の発現ならびに足突起の構造が維持されている。一方、病的状態では細胞周期の制御異常により、失われた糸球体上皮細胞の再生不全や不適切な増殖反応が生じ、糸球体の構造および機能異常を招き、最終的に糸球体硬化、腎不全に陥る<sup>12)</sup>(図4)。

### 4. 糸球体上皮細胞の障害機構と保護機構

#### 1) 糸球体上皮細胞の障害機構

これまでの検討から、糸球体上皮細胞障害機構にはいくつかの要因が推測されている。すなわち、スリット膜とその関連蛋白の障害、アクチン細胞骨格の障害、糸球体基底膜ないし糸球体上皮細胞-糸球体基底膜相互作用の障害、糸球体上皮細胞表面の陰性荷電の障害である<sup>13,14)</sup>。さらに、前述の細胞周期制御性蛋白異常、巣状分節性糸球体硬化症における循環因子も糸球体上

皮細胞障害に関与していることが示唆されている。いずれの原因にしても、一旦糸球体上皮細胞が減少すると、残存糸球体上皮細胞に負荷がかかる。これを契機に糸球体硬化に進展する増悪機序が推測されている（図4）。

これらの糸球体上皮細胞障害自体を惹起する要因として、遺伝的要因、薬物（ヘロイン、バミドロン酸）、補体、代謝産物（糖尿病における advanced glycation endproducts；AGE, Fabry 病における glycosphingolipids, 骨髄腫蛋白の結晶）、ウイルス（human immunodeficiency virus；HIV, Parvovirus B19）ならびにメカニカルストレス（ネフロン数減少, 高血圧）などが知られている。それらが直接あるいはメディエータ（活性酸素, fibroblast growth factor-2, transforming growth factor- $\beta$ , vascular endothelial growth factor；VEGFなどの増殖因子, interleukin-4；IL-4やIL-13などのサイトカイン, IL-8やSLC/CCL21などのケモカイン, レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系）を介して糸球体上皮細胞に障害を及ぼすと考えられている。以下に代表的な因子をあげる。

#### (1) 遺伝的要因

上記の先天性ネフローゼ症候群で同定されたもの以外に、上皮細胞の主要な転写因子WT-1をコードするWT-1, ミトコンドリア遺伝子(A3243Gが代表的変異), 糸球体上皮細胞に発現し正常糸球体の発達に関与するフォスホリパーゼCイプシロンをコードするPLCE1の変異, 糸球体基底膜の構成成分である $\beta$ 2ラミニンをコードするLAMB2の変異などが報告されている。

#### (2) ウイルス

HIV感染性あるいは特発性巣状分節性糸球体硬化症の一部では、虚脱した糸球体係蹄が増殖した上皮細胞に取り囲まれる特異的な糸球体病変を呈する（虚脱型重型）。これまでのマーカー発現の検討から、脱分化・増殖している上皮細胞は糸球体上皮細胞であるとされている。*in vitro*の検討ではHIV遺伝子の*nef*を導入すると培養糸

球体上皮細胞が増殖することが報告された。HIVに対する治療により糸球体上皮細胞が分化した形態に戻り、それに伴い糸球体濾過障壁の特性が改善し、腎機能が保持されることは今後の治療戦略を考えるうえで興味深い。

#### 2) 糸球体上皮細胞の保護機構

一方、糸球体上皮細胞の保護・修復機構の一端を担い、正常糸球体の構造および機能の発達・維持に関与している因子も知られている。これまでに判明しているものとして、VEGF, レチノイド, 1,25-ジヒドロキシビタミンD, peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR), グルココルチコイドおよびケモカインである interferon-inducible protein (IP)-10, エリスロポエチンなどが挙げられる。これらはいずれもスリット膜の中心的な分子であるネフリンの発現を促進することが示されている。糸球体基底膜の構成成分であるラミニンは糸球体上皮細胞のVEGF産生を促進することから、間接的に糸球体上皮細胞に対し保護的に作用していると考えられる。これらの因子、特にVEGFおよびレチノイドにおいて、糸球体上皮細胞に対する保護作用が発揮されるためには、発現量が極めて適正であることが重要とされる。

### 5. 糸球体上皮細胞：腎臓病に用いられる薬剤の治療標的細胞としての重要性

#### 1) 免疫抑制薬

最近になり、シクロスポリンが従来のT細胞のNFAT (nuclear factor of activated T-cells) 阻害ではなく、糸球体上皮細胞のアクチン細胞骨格を直接治療標的とし、その安定化により抗蛋白尿効果を示すことが報告された<sup>15)</sup>。この機序として、糸球体上皮細胞のアクチン関連蛋白でRho GTPアーゼ調節因子であるシナプトポディン (synaptopodin) の脱リン酸化阻害により、カテプシンLによる分解から免れることに起因する。シナプトポディンは $\alpha$ -アクチニン-4と相互作用

やRhoファミリーの活性化により、アクチン線維束の形成を促進することが報告されており、シクロスポリンによる糸球体上皮細胞アクチン骨格の安定化につながると考えられる<sup>16)</sup>。

グルココルチコイドも糸球体上皮細胞に対して直接作用し保護効果を示す知見が得られている。糸球体上皮細胞内のATP(adenosine triphosphate)減少により粗面小胞体(ER)内に低糖鎖化ネフリンが停滞し機能が低下する。グルココルチコイドはミトコンドリアのグルココルチコイド受容体を介してATP産生亢進作用をきたしネフリン成熟化を促進することが示された。また、グルココルチコイドはp53低下、抗アポトーシス作用をもつBcl-xLの増強、apoptosis-inducing factorの核内移行の阻害等により糸球体上皮細胞のアポトーシスを予防する効果も示されている。

## 2) レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系阻害薬

糸球体上皮細胞とレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系とは密接な関係がある。アンジオテンシンII刺激により、糸球体上皮細胞のネフリン発現は低下し、アンジオテンシン受容体AT1阻害薬により発現が回復する。興味深いことに、AT2刺激によりネフリン発現は増強することが判明した。アンジオテンシン受容体AT1阻害薬による抗蛋白尿効果、腎保護効果の少なくとも一部はスリット膜関連分子発現の調節を介していることを示唆するとともに、AT1/AT2の異なる調節機序の可能性があり興味深い。実際、アンジオテンシンII刺激により、スリット膜関連分子に対する作用だけではなく、先述のTRPC6を介した作用、コラーゲン産生亢進作用、アポトーシス誘導作用、細胞周期調節作用が糸球体上皮細胞に生じることが示されている。糸球体上皮細胞自身もアンジオテンシンIIを産生する。さらに最近では、この産生と糸球体上皮細胞障害に、活性化プロレニン、(プロ)レニン受容体の関与を示唆する知見が集積してきた。

一方、アルドステロン自体にも直接の糸球体

上皮細胞障害機序が知られている。糸球体上皮細胞にはミネラルコルチコイド受容体が存在する。アルドステロンにより、NADPH oxidase活性化はじめ酸化ストレスが増大し、この作用はミネラルコルチコイド受容体阻害薬により軽減することが報告されている。

## 3) その他の薬剤

臨床的に頻用されるエリスロポエチンの腎保護作用のひとつとして、アクチン骨格の維持ならびにネフリン発現を介する可能性が示されている。

## 6. 糸球体上皮細胞と臨床検査：バイオマーカーへの展開

臨床的に糸球体上皮細胞の障害を簡便に、かつ忠実に反映する臨床検査診断法(バイオマーカー)の開発と臨床応用は重要である。尿は腎臓の病態を反映し、かつ負担の少ない検査試料となる。糸球体上皮細胞は基底膜の尿腔側に位置していることから、その障害、剝離は尿に反映される可能性が高い。実際、尿中の糸球体上皮細胞の検出ならびにポドカリキシン定量が検討されている。これらの測定により、糸球体疾患、ことに糸球体上皮細胞障害のスクリーニング、診断、活動性評価、予後推測が可能な臨床検査診断法(バイオマーカー)となりうる可能性が示されている。今後、病態との関連のさらなる検討が期待される。

## おわりに

糸球体上皮細胞、スリット膜に関する分子レベルでの解析がすすみ、その障害機序や蛋白尿発症との関連が次第に明らかになってきた。しかしながら、このような機能障害が生じる機序、糸球体基底膜や内皮細胞を含む包括的な糸球体係蹄障害機序は未だ十分には明らかになっていない。今後、この分野のさらなる解明が進むと

ともに、糸球体上皮細胞、スリット膜関連分子を標的とした治療法ならびに臨床検査診断法の開発と臨床応用が展開されることが期待される。最後に紙面の都合にて文献が網羅できていないことをお詫びしたい。

#### 文 献

- 1) Imai E, et al : Slower decline of glomerular filtration rate in the Japanese general population : a longitudinal 10-year follow-up study. *Hypertens Res* 31 : 433-441, 2008.
- 2) Orth SR, Ritz E : The nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 338 : 1202-1211, 1998.
- 3) Rodewald R, Karnovsky MJ : Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J Cell Biol* 60 : 422-433, 1974.
- 4) Triggvason K, et al : Hereditary proteinuria syndromes and mechanisms of proteinuria. *N Engl J Med* 354 : 1387-1401, 2006.
- 5) Kawachi H, et al : Role of podocyte slit diaphragm as a filtration barrier. *Nephrology (Carlton)* 11 : 274-281, 2006.
- 6) Mukerji N, et al : TRPC6 and FSGS : the latest TRP channelopathy. *Biochim Biophys Acta* 1772 : 859-868, 2007.
- 7) Kestila M, et al : Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin-is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1 : 572-578, 1998.
- 8) Uchida K, et al : Decreased tyrosine phosphorylation of nephrin in rat and human nephrosis. *Kidney Int* 73 : 926-932, 2008.
- 9) Boute N, et al : NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 24 : 349-354, 2000.
- 10) Kim JM, et al : CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 300 : 1298-1300, 2003.
- 11) Winn MP, et al : A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 308 : 1801-1804, 2005.
- 12) Marshall CB, Shankland SJ : Cell cycle regulatory proteins in podocyte health and disease. *Nephron Exp Nephrol* 106 : e51-59, 2007.
- 13) Asanuma K, Mundel P : The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 7 : 255-259, 2003.
- 14) Shankland SJ, et al : Podocytes in culture : past, present, and future. *Kidney Int* 72 : 26-36, 2007.
- 15) Faul C, et al : The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 14 : 931-938, 2008.
- 16) Asanuma K, et al : Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signaling. *Nat Cell Biol* 8 : 485-491, 2006.