—特集 (アポトーシス
と関連疾患) —

腎病変とアポトーシス

山中 宣昭

日本医科大学病理学第 1 教室

Renal injury and apoptosis

Nobuaki Yamanaka

Department of Pathology (I), Nippon Medical School

はじめに

ヒトをはじめとする多細胞生物には、その構成細胞の数を常にほぼ一定の範囲内に保とうとする生体制御機構が働いている。また、癌化した細胞やウイルス感染などによって遺伝子に障害を受けた細胞など生体にとって有害な存在となった自己の細胞を殺害して排除しようとする生体防御機構も備わっている。さらには、発生の過程で一過性に生じた組織や器官の構成細胞が、個体形成進行の時間軸に沿って消失していく、プログラム化された必然的細胞死による生体形成機構も組み込まれている。これらの状況における細胞死をネクロシス（壊死）とは異なった細胞死の様式としてとらえ、アポトーシスという概念で理解しようとする機運が定着してきた。ネクロシスが生体に加えられた侵襲によって生ずる不慮の災害死に相当する細胞死であるのに対し、アポトーシスのほうは、はじめから個々の細胞に遺伝情報として組み込まれている自律的細胞死機構であり、多細胞生物である個体にとって不必要あるいは不利益な存在となった場合には、この機構の発動により自ら壮烈な細胞死を遂げ、個体の統制、維持を図ろうとする。

以上のようなアポトーシスは、生体恒常性維持のための大きな意味での生理的機能としてとらえることが出来るが、いっぽうで、病理的な災害死的アポトーシスも認められ、個体に大きな障害を招くことがある。アポトーシスへの関心が深まるにつれ、さまざまな分野で細胞死についての膨大な情報が蓄積されつつあるが、現象を追うのあまり、アポトーシスの本質の解明に混乱をもたらしている面も少なくない。アポトーシスの検討に際しては、生理的・生体防御的アポトーシスと、病理的・生体傷害的アポトーシスの違いを把握しておくことが重要である。

私たちの教室では、ここ数年来、腎病変におけるアポトーシスについて様々な検討を続けてきたが、こ

では腎臓をひとつの材料として、病理学の立場からアポトーシスの基本的な問題点について論ずることにしたい。

アポトーシスとミトーシス

もともとアポトーシス apoptosis という言葉は、細胞分裂を意味するミトーシス mitosis に対して提起された概念であり、アポトーシスという現象をみていく場合には、まずこの点についての認識が必要である。すなわち、生体は環境の要求に対応して必要な場合にはミトーシスにより細胞数を増やし、いっぽう細胞が生体にとって不必要あるいは不利益という状況では、これをアポトーシスにより自己規制的に排除し、生体構成細胞の数におけるバランス、すなわちホメオステシスを保とうとする最も基本的なしくみを持っている。つまりミトーシスとアポトーシスは生体における裏表の関係にある現象であり、いずれも遺伝子の動きと連動した細胞周期の制御と深く関わっている。現在アポトーシスの分子機構に、細胞周期の機構と類似あるいは共通する点の多いことが次第に明らかにされつつあるが、ここにその重要性を強調しておきたい。

悪性腫瘍組織においては異常な細胞増生の状態であり、多数のミトーシス像が認められるが、この場合は、生体の主体的な制御機構が破綻をきたし、自律性を失った病的な細胞増生である。しかし、ミトーシスは、本来創傷の治癒機転の場合のように、必要に応じて線維芽細胞の増生が引き起こされ、事態が収まれば増生はストップするというような、一定の秩序のもとで整然と機能する生理的な生体制御機構に基づいた現象と考えられる。

プログラム細胞死

ヒトの発生の過程では、一個の受精卵細胞が増殖、

分化し、最終的には 60 兆個もの細胞からなる成人へと発達するが、この過程はすべて遺伝子に組み込まれた情報によるものであり、programmed cell proliferation であるということが出来る。いっぽう、たとえばオタマジャクシが尻尾を失ってカエルになる場合のように、発生の際の組織分化の過程では、発生段階に応じて不要となった多数の細胞が、遺伝子情報に従ってアポトーシスにより死滅することが明らかにされており、この現象は programmed cell death という概念で理解されている。胎生期の発達過程における腎臓の糸球体をみると、多くのマイトーシスを示す細胞が認められるが、これは遺伝子情報に従って忠実にかつ確実に実行される programmed cell proliferation の表現である。同時にアポトーシスに陥った細胞も点在しており、これは、あらかじめ遺伝子に組み込まれた情報に従い、組織分化の過程で時間軸に沿って否応無しに進行する programmed cell death の表現である。

生体制御としてのアポトーシス

厳密にプログラムされた発生過程でのアポトーシスに対し、成長後の生体内では、状況に応じて何らかのシグナルが発現し、アポトーシスが引き起こされる。

ラットの腎動脈を結紮して血流を遮断し、一定時間後に結紮を解除して血流を再開させると、活性酸素の生成により腎臓の尿細管上皮細胞が強く障害されるが、これは再灌流障害モデルと呼ばれている。結紮後 1 時間の腎臓の光顕像では、結紮したままでは、尿細管上皮細胞には多少の変性像がみられるのみであるが、結紮を 1 時間後に解除して血流を再開させ、24 時間目にみると、尿細管上皮細胞は広範な壊死像を示している。尿細管上皮細胞は再生能が非常に強いいため、結紮解除後 3 日目になると、再生上皮が著明な過剰増生をきたし、管腔内への突出像もみられるほどになる。DNA 合成の指標として用いられる BrdU 法による染色を行うと、多数の分裂期細胞が確認される。結紮解除後 8 日目になると、過剰に増生した上皮細胞が減少し始めるが、この時に、アポトーシスを確認する手段としてよく用いられる Tunel 法によって組織をラベル染色すると、多数の上皮細胞にアポトーシスが認められる。電顕でみると、完全に再生した尿細管上皮細胞の隣にアポトーシスに陥りつつある細胞や、上皮細胞内へのアポトーシス小体取り込み像が確認される。このように、緊急事態に応じていったんひたすら増生した細胞は、事態の収拾とともに、次第に不要となった過剰細胞をアポトーシスによって処理し、常態への復帰をはかる¹。修復過程におけるこのようなアポト

シスの機能については、私達が初めて報告したものであるが、その後、他の組織においても、さまざまな類似のシチュエーションにおいて、いったん過剰に細胞増生を行った後にアポトーシスにより正常の状態へと徐々にもどしていく現象が知られてきている。このように生体には、マイトーシスとアポトーシスのバランスにより常に構成細胞数をほぼ一定の範囲内に保とうとする「生体制御機構」が働いており、これは広い意味での生理的現象と言える。

私達の教室の石崎は、1983 年にラットの腎糸球体のメサンギウム細胞に、それまでマウスの胸腺細胞の特異抗原とされていた Thy 1.1 抗原が発現されていることを発見し²、さらにこの事実に基づいてラットに抗 Thy 1.1 抗体を静注することにより、著明な増殖性糸球体腎炎が惹起されることを報告した³。これは、現在、馬杉腎炎に代わる実験的腎炎モデルとして世界中で広く用いられるようになり、Thy 1 (サイワン) 腎炎モデルと称されている。私達は、このモデルを用いアポトーシスについての検討を行った。抗体を投与すると、直ちに抗原部位であるメサンギウム細胞膜に結合するが、次いでこれに補体が結合し、II 型アレルギー機序によるメサンギウム細胞の融解をもたらし、mesangiolysis と称される高度の糸球体障害が引き起こされる。その糸球体傷害を時間的経過を追って観察すると、まずメサンギウム細胞が著しく増生し、その後約 4 週から 6 週でほぼ正常のものの糸球体の形態にまで修復する⁴。この腎炎の修復過程では、メサンギウム細胞のみならず血管内皮細胞も盛んな増生を示し、傷害された糸球体の血管構築再生に寄与する。

私達は、増加したメサンギウム細胞は、この過程でアポトーシスによりもとの細胞分布へと戻ることを明らかにした⁵。Thy 1 腎炎における糸球体細胞数の時間的経過をみると、抗体投与後 7 日目に細胞増生のピークがあり、それから少し遅れてアポトーシスが増加し始める。メサンギウム細胞はこれに対応してその数を減少してゆき、最終的には正常に近い細胞数にもどる。いっぽう増生した内皮細胞にもアポトーシスが起こり、その細胞数の制御を行っていることが確認され、モルフォメトリによる糸球体における内皮細胞数の時間的経過の解析でも、Thy 1 腎炎における内皮細胞の増生とその後のアポトーシスによる細胞数の制御を明瞭に示している⁶。

生体防御としてのアポトーシス

Wistar Kyoto 系のラットは、ごく少量の抗糸球体基底膜抗体の投与により、慢性腎不全まで進行する高

度の馬杉腎炎を引き起こすことで有名である。抗体投与2週間後には著明な増殖性腎炎が進行し、8週以降で高度の硬化像へと進展し、慢性腎不全となる。Tunel法で確かめると、糸球体硬化巣部位に一致してアポトーシスが認められ、電顕検索でも硬化巣のメサンギウム細胞に apoptotic body のとりこみがみられる。モルフォメトリーでは、糸球体硬化による糸球体細胞の減少が進行するにつれ、アポトーシスの増加がみられる。さまざまな検討から、この場合のアポトーシスは、硬化の進展により傷害されたメサンギウム細胞を排除する機構であることが示唆され、アポトーシスが実行されるシチュエーションのもう一つの側面を示している⁷。すなわち、アポトーシスには、このように生体にとって不利益となった異常細胞の除去という生体防御機能も担っている。

病的状況におけるアポトーシス

Thy 1 腎炎発症期の細胞障害を詳細に検討したところ、非常に興味深い事実が発見された。抗体投与後のごく早期である40分において、この早い時期にも、糸球体内にアポトーシスを示唆する所見が認められ、Tunel法で確認すると、メサンギウム細胞に一致してアポトーシスの diffuse な分布がみられた。これは、前述の修復期での細胞数制御のアポトーシスとは明らかに異なるものであり、抗体の投与による直接的な細胞傷害であると考えられた。電顕像でもメサンギウム細胞にアポトーシスの形態的特徴像が認められ、さらに抽出DNAの電気泳動により、アポトーシスの生化学的特異所見とされる ladder 像も確認された⁸。モルフォメトリーにより、この発症期のアポトーシス細胞の数および時間的推移を検討してみると、そのピークは抗体投与後1時間ほどまでであり、その後急激に認められなくなる。これまでの検討から、Thy 1 腎炎のメサンギウム細胞は抗体投与後2時間ごろから細胞融解をきたし、ネクロシスに陥いることが明らかにされているので、この現象は非常に奇妙である。繰り返し実験を行っても、抗体投与2時間後の電顕像では、メサンギウム細胞は著しく腫大して融解し始めており、この時点では、アポトーシスではなくネクロシスの形態的特徴を示している。このあと細胞融解に引き続いて炎症性細胞の集積がみられ、メサンギウム細胞の増殖が始まる。この Thy 1 腎炎発症期の細胞傷害像は、あたかもアポトーシスからネクロシスへと移行したもののようみえ、apoptotic necrosis とでも表現すべき混合型の細胞壊死過程を呈していた。最近、このようなタイプの細胞壊死がいくつか報告されている

が、その本質にはいまだ不明な点が多く、その解明はこれからの課題と思われる。現在私達は、この細胞傷害についてさらに検討を続けているが、血中補体枯渇実験などから、このアポトーシスのシグナルとして補体成分が関与している可能性を示唆する結果が得られている⁹。このタイプの細胞死は、おそらく Thy 1 腎炎のみの特異的なものではなく、抗原抗体反応における補体依存性の細胞融解現象に共通の様式である可能性が示唆され、大変興味深い。

おわりに

以上、腎臓を例としてさまざまな局面でのアポトーシスをみてきたが、一口にアポトーシスといっても、その意味するところは状況によって異なる様々な生体機能の表現であり、それぞれのアポトーシスがどのような性質のものであるかを見極めて行くことは、病変の解析においても大変重要であると考えられる。基本的には生体維持のための大きな意味での生理的機能を担っているものであり、不要細胞の除去という「生体制御」、および異常細胞の排除という「生体防御」に関わっている。しかし、もうひとつ非常に大事なことは、生理的な機構の反映としてのアポトーシスの他に、不慮の災害に相当する病理的、生体傷害的なアポトーシスの存在に対する理解が必要であるということである。人為的に病変を作成する Thy 1 腎炎などの実験モデルでもそうであるが、その他たとえば放射線を照射したり、FasあるいはFas-ligandに対する抗体の投与などがなされた場合には、否応無しにアポトーシスが引き起こされる。これらは細胞の自律的な死ではなく、ネクロシスの場合と同様に外部からの強制により細胞死がもたらされたことになる。いろいろな疾患においては、その時に発現するさまざまなサイトカインやその他の生理活性物質がアポトーシスの機構を動かすスイッチを押してしまうことも多く、このような状況での病理的、生体傷害的なアポトーシスと、自律的な生理的、生体防御的アポトーシスの違いをよく認識したうえでアポトーシスをみていくことが必要である。

文 献

1. Shimizu A, Yamanaka N: Apoptosis and cell desquamation in repair process of ischemic tubular necrosis. Virchow Archiv [B] 1993; 64: 171—180.
2. Ishizaki M, Sato S, Sano J, Fukuda Y, Sugisaki Y, Masugi Y: The presence of Thy 1.1 antigen in rat glomerular mesangial cells. Biomed Res 1980; 1: 438—422.
3. Ishizaki M, Masuda Y, Fukuda Y, Sugisaki Y, Yamanaka N, Masugi Y: Experimental mesangio-

- proliferative glomerulonephritis in rats induced by intravenous administration of anti-thymocyte serum. *Acta Pathol Jpn* 1986 ; 36 : 1191—1203.
4. Yamanaka N, Ishizaki M: Anti-thymocyte antibody induced mesangiolytic nephritis. In: *Nephrology* (eds by Hatano M, et al), 1991 ; pp1004—1014. Springer, Tokyo.
 5. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N: Apoptosis in the repair process of experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995 ; 47 : 114—121.
 6. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N: Glomerular capillary regeneration and endothelial apoptosis in both reversible and progressive models of glomerulonephritis. In: *Progression of Chronic Renal Disease. Contrib Nephrol* 118 (Koide K, Ichikawa I, eds.) 1996 ; pp29—40, Karger, Basel.
 7. Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N: Apoptosis in progressive crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest* 1996 ; 74 : 941—951.
 8. Kitamura H, Yamanaka N: Complement dependent mesangial cell apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 1997,(in press).

(受付：1997年 8 月25日)

(受理：1997年 9 月 1 日)