

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名： 川口 皓平

専攻分野：外科学（小児外科）

指導教授：北川 博昭

主論文の題目：

**The Role of the Ureteric bud in the Development of the
Ovine Fetal Kidney**

(羊胎仔腎における胎生期別の尿管芽の役割)

共著者：

Juma Obayashi, Takuya Kawaguchi, Junki Koike, Yasuji Seki,
Kunihide Tanaka, Kei Ohyama, Hideki Nagae, Shigeyuki Furuta,
Masayuki Takagi, Kevin C. Pringle, Hiroaki Kitagawa.

緒言

哺乳類の腎臓は、腎原基である尿管芽と後腎間葉の相互作用によって発達することが知られている。Wolf 管に由来する尿管芽は、後腎間葉を刺激して間葉上皮移行(mesenchymal-epithelial transition: MET)を誘発させ、C字体およびS字体を分化させ、ボーマン嚢から遠位尿細管に至るネフロンの大部分(近位部ネフロン)が形成される。尿管芽は、集合管と遠位尿細管の一部に分化し、近位部ネフロンと結合して腎臓を形成する。過去20年間の教室の研究結果から羊を用いて胎児期に尿路を閉塞すると多嚢胞性異形成腎(MCDK)様腎臓が形成されることが証明された。

MCDK では嚢胞による圧排により正常の腎形成が停止し、異常なネフ

ロン形成を引き起こす可能性がある。マウスを用いた実験では β -catenin 遺伝子をノックアウトする事で MCDK が形成され、Laminin 遺伝子をノックアウトする事で無形成腎となることが示されている。

今回我々は、羊胎仔腎を用いて nephrogenic zone (NZ) における β -catenin、Laminin の発現を免疫組織学により検索し、腎発達にこれらがどのように関わっているかを検討した。

対象・方法

The Animal Ethics Committee of the Wellington School of Medicine and Health Sciences, University of Otago Wellington (許可番号 WAEC 8-03, W03/07, W02-11, W01-12, AEC 4-14, AEC 1-16) の許可を得て本実験を実施した。妊娠 60 日で胎児超音波検査を施行し、妊娠成立を確認した。妊娠羊は手術 24 時間前から絶食にし、水分のみを投与した。妊娠羊に気管内挿管を行い、全身麻酔下で帝王切開により胎生 50、60、70、80、100、110 日および満期 (145 日) の胎仔を娩出させた。胎仔の腎臓を摘出した。組織切片は胎生ごとの経時的な形態変化を HE 染色で評価し、その連続切片を用いて免疫組織化学染色を施行した。

結果

作成された腎標本は、胎生 50 日 4 匹 (4 腎)、胎生 60 日 6 匹 (6 腎)、胎生 70 日 5 匹 (5 腎)、胎生 80 日 4 匹 (4 腎)、胎生 100 日 5 匹 (5 腎)、胎生 110 日羊 4 匹 (8 腎)、および満期羊 5 匹 (10 腎) であった。

胎生 50 日の腎組織には、尿管芽、後腎間葉、C 字体、S 字体を含む NZ が観察された。NZ は胎生 110 日まで観察されたが、妊娠週数の経過とともに徐々に菲薄化し、満期には消失していた。 β -catenin と Laminin のみに有意な染色が認められた。

β -catenin は、胎生 50 日から近位尿細管、遠位尿細管、糸球体上皮細胞、ボーマン嚢、集合管の上皮細胞間での線状発現と、NZ の尿管芽、

C 字体、S 字体の細胞質内での顆粒状発現を認めた。

Laminin は、糸球体および尿細管の基底膜で線状発現が見られた。また、尿管芽や後腎間葉細胞の細胞質にも顆粒状発現が見られた。この発現は胎生を経るごとに減少した。

考察

今回の研究結果では、HE 染色、 β -catenin、Laminin を評価した。今回の HE 染色では、腎発生における NZ の評価にとどまり、胎生 50 日では、尿管芽と後腎間葉から成る NZ が腎組織の大部分を占めていたが、胎生を経ると成熟したネフロンが徐々に増加し、NZ は菲薄化していった。満期では腎組織は完全に成熟したネフロンのみで構成され、一般的に知られている通り、NZ は消失した。NZ が消失する時期については羊では胎生 110 日では認められ、140 日では消失していることから、その間にあると考えられ、ヒトでは 35-36 週と考えられており、これはほぼ同様であった。

β -catenin には、2 つの機能が知られている。1 つは E-cadherin の細胞内結合タンパクであり上皮接着因子としての機能、他の 1 つは Wnt/ β -catenin signal pathway (WSP) の細胞内メッセンジャーとしての機能である。今回の病理組織上で示された上皮細胞間の線状発現は、上皮接着因子の機能を示していると考えられ、また顆粒状の発現は細胞内メッセンジャーの機能を示していると考えられる。哺乳類の腎発達において WSP が開始される時期は特定されていないが、今回の結果から徐々に WSP は減退し、満期で腎発達は完全に終了する可能性が示唆された。

Laminin は基底膜の構成成分であり、その機能として細胞構造の支持が知られている。 β -catenin 同様に線状発現がみられたが、これまで知られていない尿管芽、後腎間葉、未熟ネフロンにおいて細胞質で発現がみられた。これは未熟な尿管芽、後腎間葉が MET を経て上皮細胞に変換される際に Laminin が関わっている可能性を示唆している。いくつか

のLamininに関する研究でもLamininが腎発達の初期段階に関わる可能性や、血圧の調節を担う腎メサンギウム細胞の発達にも関与する可能性が報告されている。今回の研究結果から未熟なネフロンの細胞質にもLamininの発現が認められたことにより、ネフロンが成熟するまでの全ての期間で、Lamininは基底膜の構成因子としてだけではなく、腎臓の発達全体にも広く関与していると考えられる。

結論

NZに局在する尿管芽及び後腎間葉細胞ではその細胞質にWSPの細胞内メッセンジャーとしての β -cateninの発現があり、それと同時にみられるLamininの発現と併せて腎の発生にWSPとMETが関与していることが示唆された。