

特集：腎構成細胞の細胞学的特性—新しい知見を含めて

腎糸球体上皮細胞の細胞特性Ⅱ —比較細胞学的にみた糸球体上皮細胞の細胞特性—

市村浩一郎 坂井建雄

はじめに

糸球体上皮細胞(足細胞)は、脊椎動物の腎糸球体においてその最外層をなし、濾過障壁の形成と機能に重要な役割を有している。実は「足細胞 podocyte」と呼ばれる細胞は、体腔を持つ無脊椎動物(真体腔動物)にも広く存在し、原尿産生装置の一部を形成している(図1)¹⁾。動物群を問わず足細胞の基本構造は共通しており、足細胞の特異な形態が原尿の産生にとってきわめて合理的であることを表わしている。

ただし、基本構造は共通であっても、動物の進化に伴い、足細胞の形態や発現分子種にはさまざまな変化(修飾)が生じている。このような変化は特に細胞骨格において顕著であり、その一例として、哺乳類の足突起におけるアクチン束の出現があげられる²⁾。細胞骨格にみられるこのような変化は、足細胞を大きな力学的負荷に適応させ、濾過量(原尿量)を飛躍的に増大させるうえで重要であったに違いない。そこで本稿では、脊椎動物の進化に伴い足細胞の細胞骨格がいかに発達したかを概観しながら、このような発達が濾過量のきわめて多い哺乳類型の糸球体を形成・維持するうえでどのような意味を持つかを考えてみたい。

また近年、腎臓学の分野でもゼブラフィッシュなどの小型水棲動物をモデルとした研究が盛んになり、興味深い研究成果が相次いで報告されている^{3~5)}。これらの動物を用いる最大の利点は、なんとといっても、モルフォリノ・アンチセンス鎖を用い特定の遺伝子発現を効率よく抑制できる点にある。したがって、ゼブラフィッシュなどを用いた足細胞研究が、今後ますます発展していくことは間違いないだろう。しかし、先にも触れたように、足細胞は脊椎動物

の進化過程において高度化しているので、非哺乳類から得られたデータを解釈する際には、“動物群ごとの細胞特性”を常に意識することが不可欠である。本稿では、これまでに報告されている足細胞の細胞骨格に関する比較細胞学的な知見を整理しており、非哺乳類の研究成果を解釈するうえで大いに役立てていただけるものと期待している。

足突起にみられる3種のアクチン細胞骨格

脊椎動物の足細胞では、足突起を構築する細胞骨格はアクチン線維から成っている。足突起には3種類のアクチン細胞骨格(アクチン網、アクチン束、アクチン小束)がみられるが、その出現パターンは動物群によって異なる(図2, 3, 表1)^{2,6)}。われわれが調査した限りでは、アクチン網は検討したすべての脊椎動物に存在したが、アクチン束は鳥類および哺乳類においてのみ確認された。また、アクチン小束は鳥類および哺乳類以外の動物群によく認められた。

以下では、これらのアクチン細胞骨格の特徴と推測される機能を述べてみたい。

1. アクチン網(cortical actin network)

足突起内に充満する網目状のアクチン細胞骨格であり、足突起の細胞膜と直接接している。鳥類および哺乳類では、後述のアクチン束が足突起の中心部に存在するため、アクチン網は細胞膜とアクチン束の間を充填するように存在している。アクチン網は足突起を構築するうえで本質的なアクチン細胞骨格であると言えるが、これは次の事実から明らかである。すなわち、1) アクチン細胞骨格としてアクチン網しか持たない足突起が存在すること、2) アクチン網がヤツメウナギ類から哺乳類に至る広い範囲の脊椎動物種において確認できること、の2点である。

アクチン網の構築に関与するアクチン結合蛋白質にはいくつもの種類が存在することが知られているが、その一つ

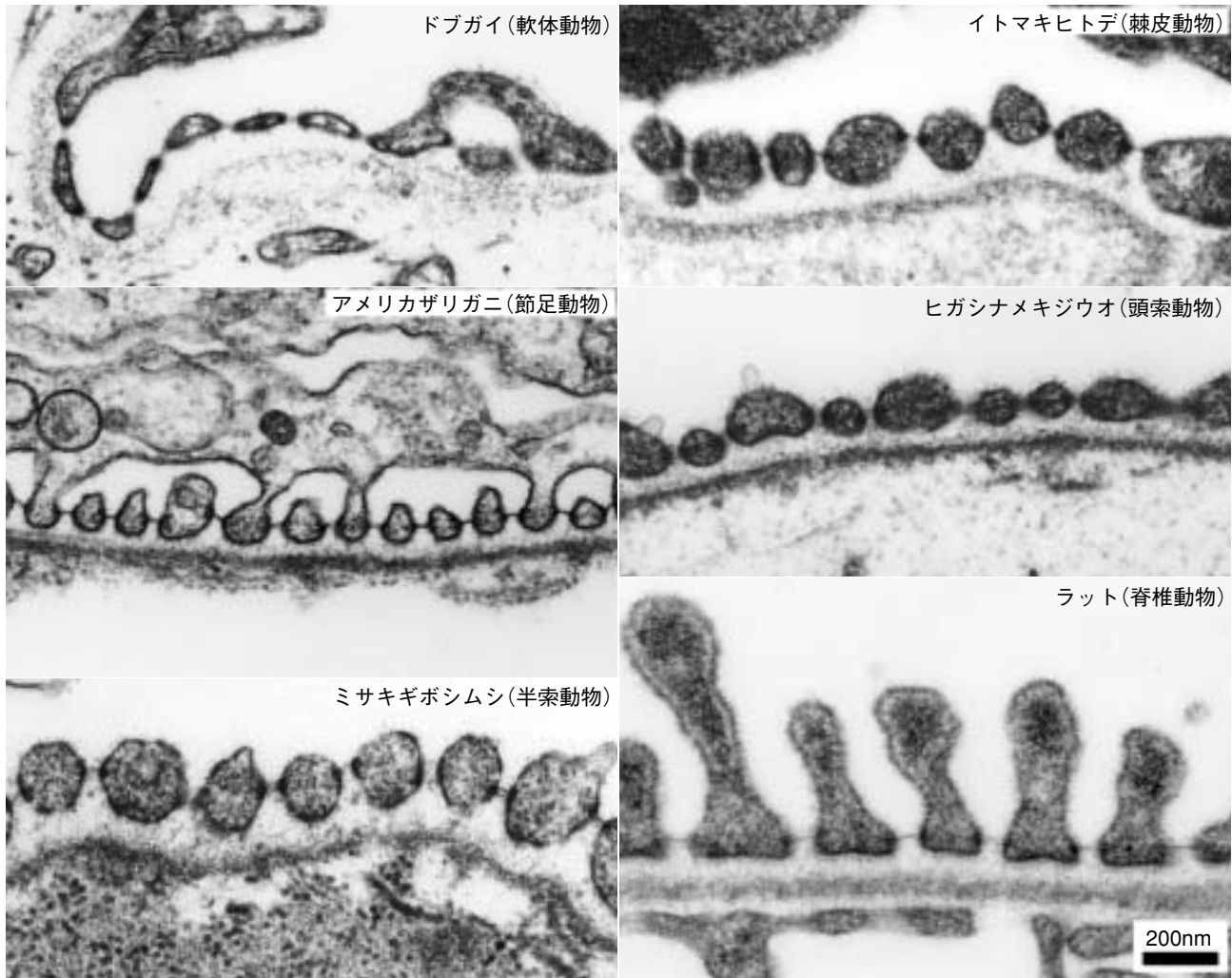


図 1 さまざまな真体腔動物の足細胞(足突起)
写真はすべて同じ倍率。著者原図

に cortactin がある。この分子には樹枝状のアクチン細胞骨格を形成する働きがあり⁷⁾、ヤツメウナギ類から哺乳類に至る広い範囲の脊椎動物種において、足突起のアクチン網に局在する(表 1)。FERM 蛋白質ファミリーも足突起アクチン網の形成に関与していると考えられ、哺乳類では ezrin が、ゼブラフィッシュでは moe/band 4.1-like 5 protein が足細胞に発現することが知られている^{5,8)}。ただし、これらの FERM 蛋白質が他の動物群の足細胞で発現するかどうかについては検討されていない。

アクチン網は、足突起そのものを形成・維持するのみならず、足突起に局在する膜蛋白質の足場としても利用されている⁹⁾。このことは、アクチン網が足突起の細胞膜と接していることを考えれば明らかである。また、透過電顕でスリット膜基部の細胞内を観察すると、電子密度の高い領域が認められるが、これはスリット膜関連分子群が密集し

たものと考えられる。この高電子密度領域はアクチン網の中に埋没していることから、スリット膜関連分子群が直接リンクできるアクチン細胞骨格もアクチン網であると言える。

2. アクチン束(actin bundle)

足突起の長軸方向に沿って走っているアクチン線維の太い束である。アクチン束と細胞膜の間にはアクチン網が存在するため、アクチン束が細胞膜と直接接することはない。われわれの調査した限りでは、アクチン束は鳥類および哺乳類にのみ存在し、特に哺乳類においてはアクチン束を含む足突起がきわめて高い頻度で認められる。

実は、アクチン束は鳥類および哺乳類に特有の高内圧・多濾過糸球体において、糸球体壁を力学的に支持するうえで重要な働きを有すると考えられる。鳥類および哺乳類では、糸球体内圧(動脈圧)が他の動物群に比して高く、それ

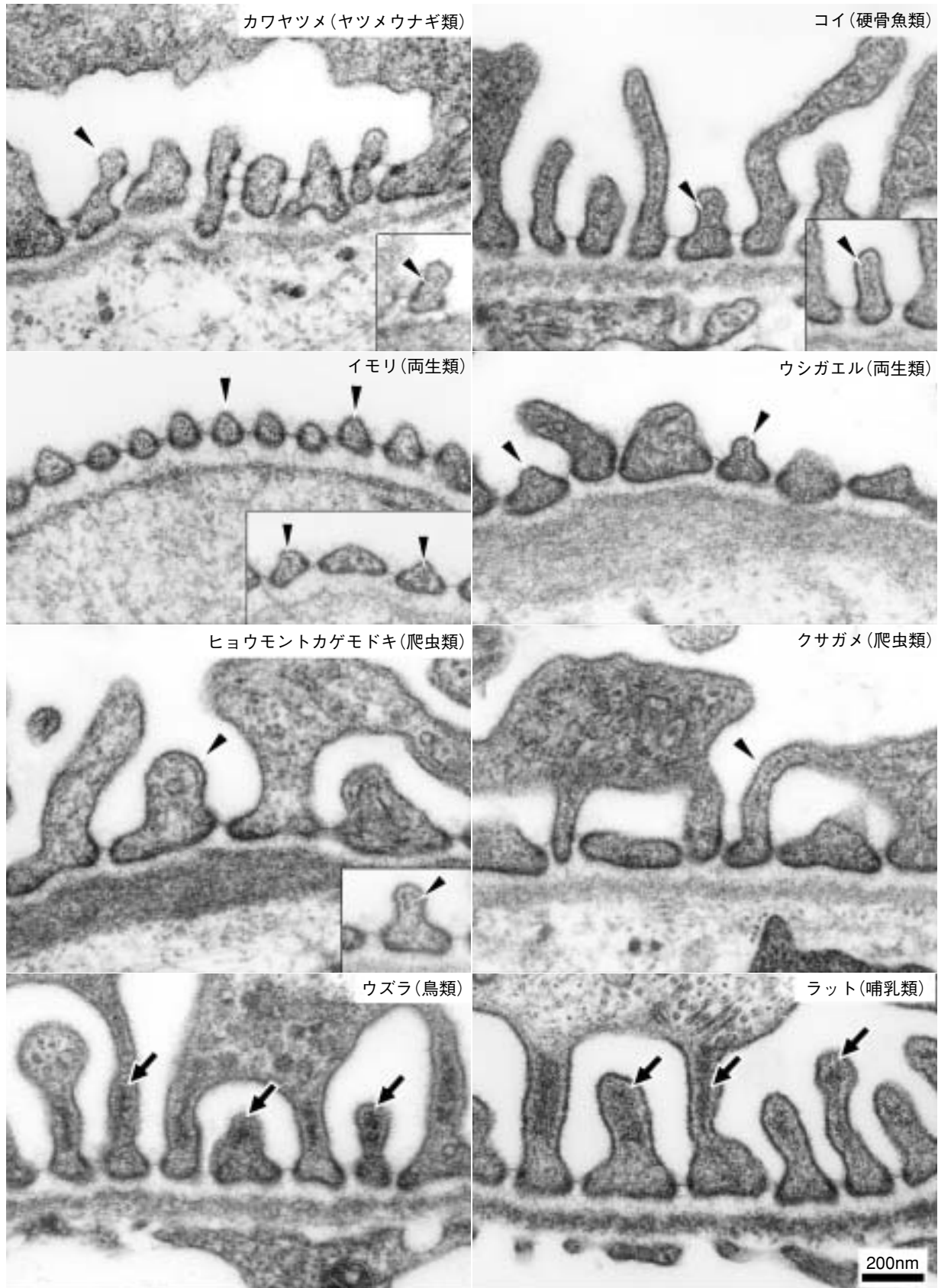


図 2 8種の脊椎動物における足突起

矢印でアクチン束を、矢頭でアクチン小束を示している。アクチン網は通常の電顕標本ではやや電子密度の高い無定形な物質として認められる。写真はすべて同じ倍率 (文献 2 を引用, 改変)

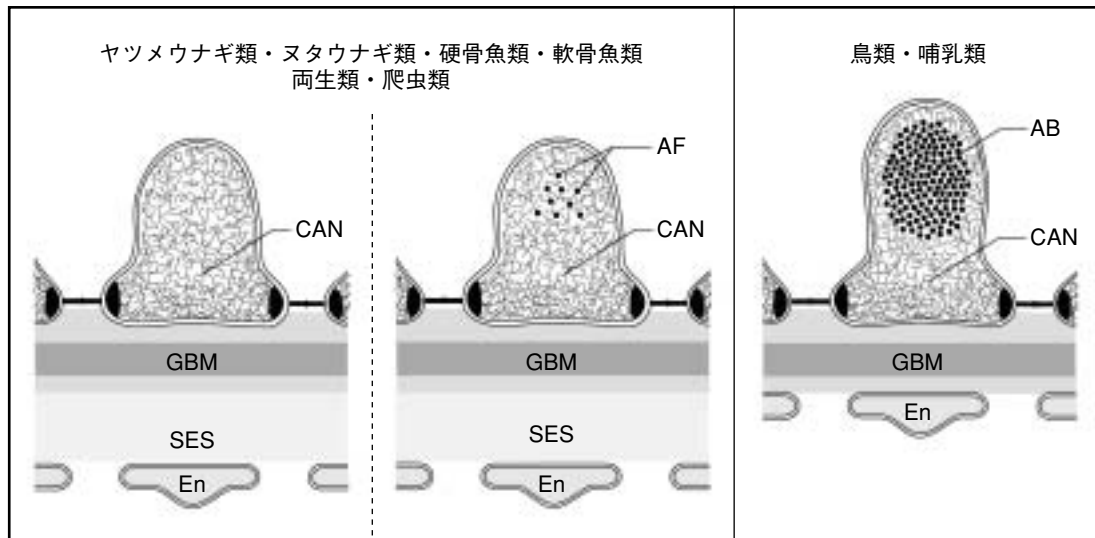


図 3 脊椎動物における足突起アクチン細胞骨格の形態

アクチン網(CAN)はすべての脊椎動物群に認められるが、アクチン束(AB)は鳥類および哺乳類にのみ存在する。アクチン小束(AF)は鳥類および哺乳類以外の動物群において比較的頻繁に認められる。

写真はすべて同じ倍率

En: 内皮細胞, GBM: 糸球体基底膜, SES: 内皮下腔

(文献 2 を引用, 改変)

表 1 脊椎動物の足突起にみられるアクチン細胞骨格

動物群	種名	アクチン細胞骨格			アクチン結合蛋白質	
		アクチン網	アクチン小束	アクチン束	cortactin	α -actinin
ヤツメウナギ類	カワヤツメ	+	+	—	+	—
硬骨魚類	コイ	+	+	—	+	+
両生類	イモリ	+	+	—	+	—
	ウシガエル	+	+	—	+	+
爬虫類	ヒョウモントカゲモドキ	+	+	—	+	—
	クサガメ	+	+	—	+	+
鳥類	ウズラ	+	—	+	+	+
哺乳類	ラット	+	—	+	+	+

(文献 2 を引用, 改変)

に応じて糸球体濾過量も多い(図 4, 表 2)^{10,11)}。また, 一般的に脊椎動物の糸球体では, 内皮細胞と糸球体基底膜の間に基質とメサンギウム細胞を含む空間(内皮下腔)が存在するが^{12,13)}, 鳥類および哺乳類では内皮下腔はみられず, 内皮細胞と糸球体基底膜は直接接している。このような糸球体壁の菲薄化も, 鳥類および哺乳類における大量の糸球体濾過を可能にしている一因といってよいだろう。つまり, 高い内圧を有しながらも菲薄な壁を持つ糸球体において, 足突起のアクチン束は内圧から糸球体壁を力学的に支持するうえで重要な役割を持っていると言える。ただし, 具体的にアクチン束がどのようにして糸球体壁の力学的支持に関与しているのかは明らかではないが, おそらくは Kriz ら

が指摘しているように¹⁴⁾, アクチン束が能動的に張力を発生しているものと推測される。なお, アクチン束は足突起の基底部膜とは直接リンクしないので, アクチン束で生み出された張力は, アクチン網および基底部膜の接着分子群を介して, 糸球体基底膜に伝わるものと考えられる。

アクチン束の形成に関与するアクチン結合蛋白質には, α -actinin と synaptopodin があげられるが, 両者の分布には差異がみられる。 α -actinin は足突起の全長にわたって存在するが, synaptopodin は足突起の近位部に局在する^{6,15)}。なお, synaptopodin に関する詳細な研究成果に関しては, 前稿(腎糸球体上皮細胞の細胞特性 I)を参照されたい。

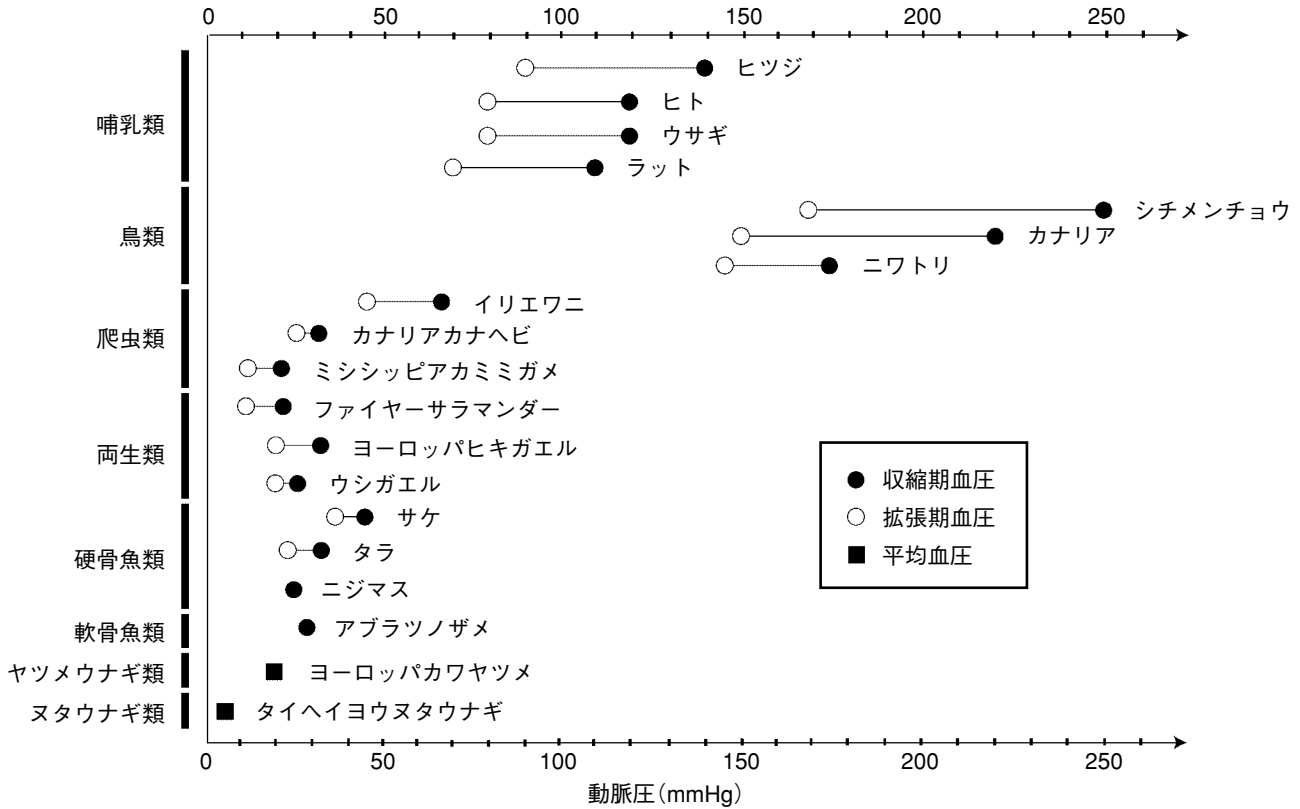


図 4 脊椎動物の動脈圧

(文献 11 などを基に作製)

表 2 脊椎動物の糸球体濾過量

脊椎動物のグループ	種	GFR (mL/kg/h)	測定時の環境
ヤツメウナギ類	カワヤツメ	25.1	淡水
軟骨魚類	エイ	4.6	淡水
	サメ	0.58	淡水
硬骨魚類	マス	8.6	淡水
		1.2	海水
	メダカ	25	淡水
両生類	ウシガエル	34.2	淡水
	ツメガエル	30	淡水
爬虫類	ワニ	6	淡水
	淡水産カメ	10.3	淡水
	ウシヘビ	10.9	陸上
	トカゲ	15.9	陸上
鳥類	ニワトリ	73.8	陸上
	ウズラ	52.8	陸上
	ムクドリ	169.8	陸上
哺乳類	ヒト	110	陸上
	イヌ	250	陸上
	ラット	225	陸上

(文献 10 などを基に作製)

3. アクチン小束 (actin fascicle)

3~10 本程度のアクチン線維が足突起の長軸方向に疎に集まったものである。鳥類および哺乳類以外の動物群において認められるが、すべての足突起にみられるわけではなく、その出現頻度は動物種によってさまざまである。種々の培養細胞において伸展刺激がストレス線維を発達させることが知られているが、進化過程において足細胞にも同様の現象が生じたとも考えられる。つまり、爬虫類から鳥類および哺乳類への進化過程で、増大する圧負荷に応じ、アクチン小束がアクチン束に発達した可能性が十分に考えられる。

足突起以外にみられるアクチン細胞骨格

足細胞におけるアクチン線維の大部分は足突起に存在するといつてもよいが、その他の部位でも興味深いアクチン細胞骨格を形成している。哺乳類の糸球体では、隣接する毛細血管ループの間には不定形の突起が嵌まり込んでいることが多い。このような突起には、アクチン線維の密集塊 (actin filament condensation : AFC) が存在している¹⁴⁾。AFC は、足突起のアクチン束と異なり、基底部の細胞膜と接し

ており、隣接する毛細血管ループの基底膜を連結するため役立つと考えられる。

われわれの検討した限りでは、AFC は哺乳類以外の動物群ではほとんど認められない。このことから、AFC は哺乳類でみられるような樹枝状のメサングウムを有し、かつ内圧の高い糸球体において、糸球体構造を保持するうえで重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

足細胞におけるアクチンアイソフォームの分布様式

哺乳類では 6 種類のアクチンアイソフォームが知られているが、ユビキタスに発現するアイソフォーム(細胞質型アイソフォーム)には 2 種類が存在する。われわれの検討により、2 種類の細胞質型アイソフォームは足細胞において異なった分布様式をとることが明らかになった(投稿中)。ラットでは、 β -cytoplasmic actin(β -actin)は主として足突起に局在するが、一次突起や細胞体の細胞膜直下にも分布している。一方、 γ -cytoplasmic actin(γ -actin)は足細胞の細胞質全体にほぼ均一に分布している。 β -actin が比較的特異的に足突起に分布することから考えて、このアイソフォームが足突起のアクチン細胞骨格を構築するうえで重要な役割を有していることは間違いないであろう。

哺乳類以外の脊椎動物におけるアクチンアイソフォームの分布様式は、基本的にはラットと共通である。ただし、両生類の足細胞では β -actin の発現がほとんどみられないという特徴がある(投稿中)。両生類の細胞質型アクチンアイソフォームには、 β -actin と γ -actin のほかに 3 種類が知られており¹⁶⁾、これらのいずれかが β -actin に代わり足細胞で発現しているものと推測される。

進化過程における中間径線維分子種の変化

中間径線維は一次突起と細胞体にみられるが、特に一次突起において密に存在している。哺乳類の足細胞は、上皮細胞としては例外的にビメンチンを発現することが知られているが¹⁷⁾、ネスチンも恒常的に発現することが近年相次いで報告されている^{18,19)}。また、哺乳類の足細胞では、種々の糸球体疾患時に新たにデスミンが発現することもよく知られており、足細胞の障害マーカーとして利用されている²⁰⁾。

足細胞の中間径線維を比較細胞学的に扱った研究は Yaoita ら(1999 年)²¹⁾の研究を除き皆無であると言ってよ

表 3 脊椎動物の足細胞に発現する中間径線維分子種

		足細胞における発現		
		vimentin	cytokeratin	desmin
両生類	ツメガエル	—	+	+
	ウシガエル	+	+	+
爬虫類	イグアナ	—	+	+
	ヘビ	—	+	—
	アカミミガメ	+	+	—
	クサガメ	+	+	—
鳥類	ニワトリ(後腎)	+	—	—
	ニワトリ(中腎)	+	—	—
哺乳類	ラット	+	—	—
	ウサギ	+	—	—
	イヌ	+	—	—
	ウシ	+	—	—
	ヒト	+	—	—

(文献 21 を基に作製)

い。この研究では、両生類から哺乳類に至る 12 種類の脊椎動物において、3 種類の中間径線維の発現を免疫細胞学的に調査しており、その結果は表 3 に整理したように、きわめて興味深いものである。ビメンチンの発現は哺乳類、鳥類、一部の爬虫類(カメ類)において認められる。一般的な上皮細胞でよくみられるサイトケラチンは爬虫類と両生類の足細胞では発現するが、哺乳類と鳥類ではほとんど発現しない。さらに、デスミンは一部の爬虫類(イグアナ)と両生類にみられる。この結果は、足細胞に発現する中間径線維蛋白質の分子種が、脊椎動物の進化過程においてサイトケラチン、デスミンからビメンチンへと変遷していったことを示している。

近年、連続超薄切片像の再構築により、足細胞の細胞体と一次突起の直下には、足細胞下腔(subpodocyte space)と呼ばれる空間が存在し、原尿が一時的にプールされることが報告されている²²⁾。足細胞下腔は原尿が流入する半閉鎖空間なので、これを覆う構造(一次突起や細胞体)には、濾過量に応じた圧負荷がかかることになる。鳥類および哺乳類の糸球体濾過量は他の動物群に比して著しく大きい(図 4)、これらの動物群では足細胞下腔を覆う一次突起などに強い圧負荷がかかっていることは明らかである。このことから、鳥類および哺乳類の足細胞にみられるビメンチン線維は、サイトケラチン線維やデスミン線維に比べ、強い力学的負荷に適応するうえでより有利なのかもしれない。

おわりに—ヒトと動物，比べてみるとよくわかる

爬虫類から哺乳類への進化過程において，糸球体は低内圧・少濾過型から高内圧・多濾過型へと移行したと言える。本稿では，足細胞における細胞骨格系の変化が，このような糸球体の機能進化に重要な役割を果たしたことをみてきた。比較細胞(解剖)学は古典的な学問分野として一蹴されることも少なくない。しかし，足突起アクチン束の存在意義は，今回紹介した比較細胞学的研究によって初めて明確になったと言ってよい。種々の動物の糸球体を「天然の実験系」と捉え，ここからさまざまな知見を得ることは，現代における足細胞研究にとっても益するところ多大なのではないだろうか。

謝 辞

ミサキギボシムシおよびヒガシナメクジウオを提供して下さいました広島大学向島臨海実験所の浦田誠博士，安井金也教授に感謝申し上げます。

文 献

- Ruppert E, Fox R, Barnes R. *Invertebrate zoology. A functional evolutionary approach*. 7th ed. Belmont : Thomson Learning, 2003.
- Ichimura K, Kurihara H, Sakai T. Actin filament organization of foot processes in vertebrate glomerular podocytes. *Cell Tissue Res* 2007 ; 329 : 541-557.
- Drummond IA. Kidney development and disease in the zebrafish. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 299-304.
- Drummond IA, Majumdar A, Hentschel H, Elger M, Solnica-Krezel L, Schier AF, Neuhauss SC, Stemple DL, Zwartkruis F, Rangini Z, Driever W, Fishman MC. Early development of the zebrafish pronephros and analysis of mutations affecting pronephric function. *Development* 1998 ; 125 : 4655-4667.
- Kramer-Zucker AG, Wiessner S, Jensen AM, Drummond IA. Organization of the pronephric filtration apparatus in zebrafish requires nephrin, podocin and the FERM domain protein mosaic eyes. *Dev Biol* 2005 ; 285 : 316-329.
- Ichimura K, Kurihara H, Sakai T. Actin filament organization of foot processes in rat podocytes. *J Histochem Cytochem* 2003 ; 51 : 1589-1600.
- Weed SA, Parsons JT. Cortactin : coupling membrane dynamics to cortical actin assembly. *Oncogene* 2001 ; 20 : 6418-6434.
- Kurihara H, Anderson JM, Farquhar MG. Increased Tyr phosphorylation of ZO-1 during modification of tight junctions between glomerular foot processes. *Am J Physiol* 1995 ; 268 : F514-524.
- Takeda T. Podocyte cytoskeleton is connected to the integral membrane protein podocalyxin through Na⁺/H⁺-exchanger regulatory factor 2 and ezrin. *Clin Exp Nephrol* 2003 ; 7 : 260-269.
- Braun E, Dantzer W. Vertebrate renal system. In : Dantzer W (ed) *Handbook of physiology. Comparative physiology* (vol. 1). New York : Oxford University Press, 1997 : 481-576.
- Prosser C. Circulation of body fluids. In : Prosser CL (ed) *Comparative animal physiology*. 3rd ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 1973 : 822-856.
- Møbjerg N, Jespersen Å, Wilkinson M. Morphology of the kidney in the West African caecilian, *Geotrypetes seraphini* (Amphibia, Gymnophiona, Caeciliidae). *J Morphol* 2004 ; 262 : 583-607.
- Ojéda JL, Icardo JM, Wong WP, Ip YK. Microanatomy and ultrastructure of the kidney of the African lungfish *Protopterus dolloi*. *Anat Rec Part A* 2006 ; 288A : 609-625.
- Kriz W, Elger M, Mundel P, Lemley KV. Structure-stabilizing forces in the glomerular tuft. *J Am Soc Nephrol* 1995 ; 5 : 1731-1739.
- Mundel P, Heid HW, Mundel TM, Kruger M, Reiser J, Kriz W. Synaptopodin : an actin-associated protein in telencephalic dendrites and renal podocytes. *J Cell Biol* 1997 ; 139 : 193-204.
- Vandekerckhove J, Franke WW, Weber K. Diversity of expression of non-muscle actin in amphibia. *J Mol Biol* 1981 ; 152 : 413-426.
- Drenckhahn D, Franke RP. Ultrastructural organization of contractile and cytoskeletal proteins in glomerular podocytes of chicken, rat, and man. *Lab Invest* 1988 ; 59 : 673-682.
- Zou J, Yaoita E, Watanabe Y, Yoshida Y, Nameta M, Li H, Qu Z, Yamamoto T. Upregulation of nestin, vimentin, and desmin in rat podocytes in response to injury. *Virchows Arch* 2006 ; 448 : 485-492.
- Chen J, Boyle S, Zhao M, Su W, Takahashi K, Davis L, Decaestecker M, Takahashi T, Breyer MD, Hao CM. Differential expression of the intermediate filament protein nestin during renal development and its localization in adult podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 1283-1291.
- Yaoita E, Kawasaki K, Yamamoto T, Kihara I. Variable expression of desmin in rat glomerular epithelial cells. *Am J Pathol* 1990 ; 136 : 899-908.
- Yaoita E, Franke WW, Yamamoto T, Kawasaki K, Kihara I. Identification of renal podocytes in multiple species : higher vertebrates are vimentin positive/lower vertebrates are desmin positive. *Histochem Cell Biol* 1999 ; 111 : 107-115.
- Neal CR, Crook H, Bell E, Harper SJ, Bates DO. Three-dimensional reconstruction of glomeruli by electron microscopy reveals a distinct restrictive urinary subpodocyte space. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 1223-1235.