

総 説

腎炎進行における細胞外基質レセプター，インテグリンの役割とその機能制御法

香 美 祥 二

徳島大学医学部発生発達医学講座小児医学分野

(平成15年2月27日受付)

(平成15年3月5日受理)

はじめに

進行する糸球体腎炎(腎炎)に共通する細胞生物学的特徴は、腎炎の発症原因に係わらず、例えば免疫学的機序により発症するIgA腎症、代謝性疾患である糖尿病性腎症、遺伝性疾患であるアルポート症候群などでは、持続的な糸球体メサンギウム細胞(MC)による細胞外基質(ECM)成分の異常ECMリモデリング現象(ECM構築・編成異常)がみられることであり、最終的には糸球体硬化と呼ばれる腎炎終末像に至る(図1)。腎炎進行に関わるこの重要な細胞現象の基本となる細胞ECM接着反応を司る分子群がβ1インテグリンファミリー(IGs)である。最近、β1IGsが制御する多彩な細胞機能(接着、移動、増殖、細胞死、ECM組立て)やIGから発生する細胞内シグナル伝達機構が明らかになるにつれて、β1IGsの組織の損傷治癒や癒痕化反応における役割に関する報告が蓄積しつつある。本稿では、β1IGsの腎炎進行における重要性和IG機能制御をターゲットとした新しい腎炎の治療戦略について概説したい。

I. 1 IGsの基本構造，機能

β1IGsは、α、β鎖よりなる細胞膜貫通型ヘテロダイマー構造のECMレセプターの総称である(図2)。α、β鎖共に長い細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、短い細胞質ドメインより構成されており、主にα鎖が結合するリガンドECM分子の種類を決定し、β鎖はfocal adhesion kinase(FAK)、integrin-linked kinase(ILK)等の蛋白リン酸化を制御するシグナル分子群や細胞骨格蛋白と連結することにより、ECM-IG結合により生ずる接着シグナルを細胞内に伝達している。ECM構成は組織形成や組織障害後の修復過程で大きく変化するが、この変化はいくつもの種類のIG結合を介する接着シグナルの変化として核に伝達され、細胞増殖、分化、ECM成分のリモデリング作用が生じ組織形成や損傷治癒に中心的役割を果たしていると考えられている。現在までに糸球体メサンギウムに発現していることが報告されているβ1IGsの種類とそのリガンドECM成分を表1に示した²⁾。

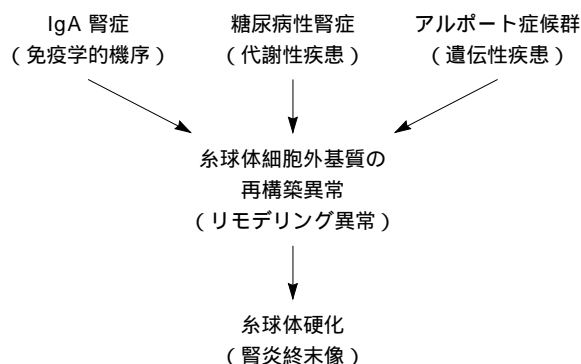


図1

II. 腎炎における 1 IGファミリーの発現変化と役割

ヒトのメサンギウム増殖性腎炎と類似の組織像を呈するラットのThy 1実験腎炎や各種ヒトメサンギウム増殖性腎炎の検討より、活性化MC(α-SM actin陽性)が発現するα1β1IG(コラーゲン(COL)/ラミニンレセプター)、α5β1IG(フィブロネクチンレセプター)がメサンギウムECM成分の異常リモデリングに重要であることが示唆された^{3,4)}。このモデル腎炎でのα-SM actin陽性MCは、増殖能、遊走能、収縮能、異常ECM成分、

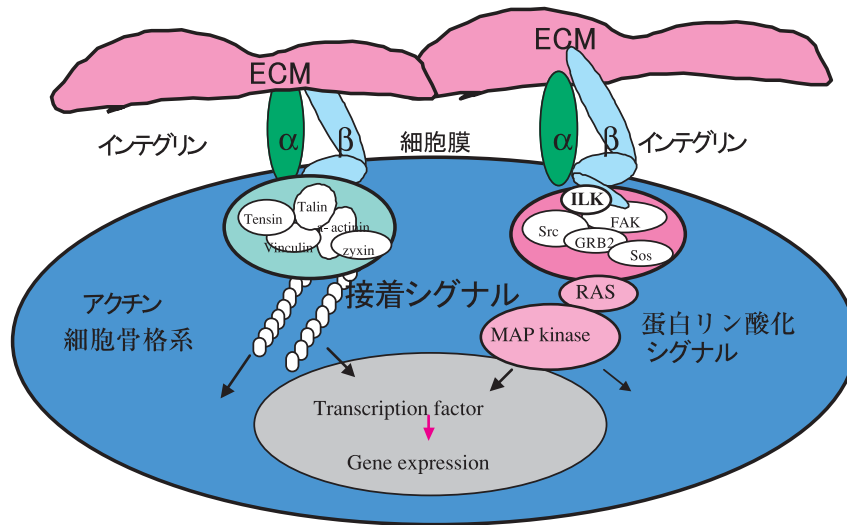


図2 細胞外基質（ECM）組み立て，増殖，遊走，分化

表 1

Receptor	Ligands	Human		Rat		
		<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	
β1	α1	COL, LM	+	++	++	++
	α2	COL, LM	+	(+)	(+)	(+)
	α3	COL, FN, LM, EP, ET	+	+	+	+
	α5	FN	+	++	+	+
	α8	FN, VN, TN-C, OPN	+	+	+	+

COL ; コラーゲン LM ; ラミニン FN ; フィブロネクチン TN ; テネイシン
 EP ; エピリグリン ET ; エンタクチン VN ; ビトロネクチン OPN ; オステオポンチン

I型COLの産生能が亢進した状態（活性化状態）にあり、糸球体メサンギウムでの異常ECMリモデリングにおいて中心的役割を果たしていると考えられている。糸球体MCを培養状態にもちこむと、MCはα-SM actin陽性となり増殖能、遊走能、収縮能、I型COLの産生能が増強され活性化MCと同じ表現型となる。この培養MCをCOL溶液と3次元培養するとMCが発現するIGを介して不溶性のCOL線維網が再形成され、次第にそのゲル状の構造物は収縮し、サイズも減少していく（COL gel contraction assay）。一般に、この培養モデルはCOL基質リモデリング/組織癒着化機序の研究や細胞が発現するIG機能を調べるためによく用いられている。そこで、MCが発現するα1β1 IGにCOL基質リモデリング能力があるのか、IG機能阻害抗体、抗α1、抗β1 IG抗体を用いて検討してみた（図3）。すると、IG

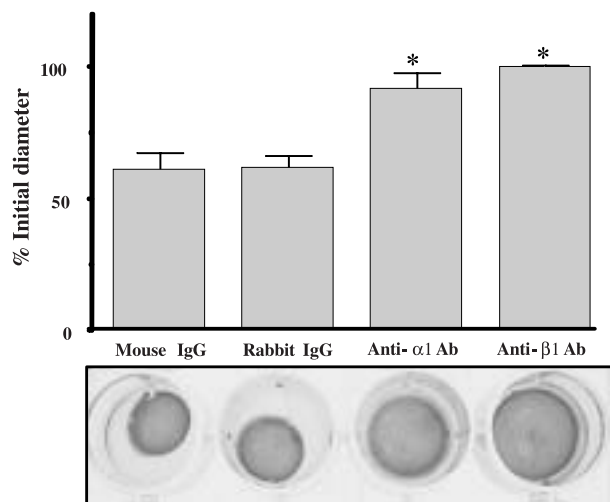


図3

機能阻害抗体は明らかにコントロール抗体と比べると gel contraction を阻害し, MC が発現する $\alpha 1\beta 1$ IG に COL 基質をリモデリングする能力があることを示していた⁵⁾。次に, Thy 1 腎炎ラットにこの抗 $\alpha 1$ IG 機能阻害抗体を投与し腎炎 1 週目でコントロール抗体投与群と比較した結果, 有意に細胞増殖や ECM の蓄積が減少することが判明した(図 4)。従って, $\alpha 1\beta 1$ IG は Thy 1 腎炎における MC 増殖や ECM リモデリングに重要な働きをしているといえる⁶⁾。他に, 進行性のメサンギウム基質の蓄積が見られる遺伝性腎炎, アルポート症候群のモデルマウスに $\alpha 1$ IG ノックアウトマウスを交配させて作成したマウスは明らかに腎炎の進行が遅れメサンギウム基質の蓄積が軽減されることや, 進行性の半月体形成性腎炎モデルである WKY マスギ腎炎でも抗 $\alpha 1$ IG 阻害抗体を投与すると, 糸球体硬化や間質の線維化が抑制されることも報告されている⁷⁾。以上の結果は, 種々の原因で発症する腎炎の病的な細胞外基質のリモデリングに $\alpha 1\beta 1$ IG が関与していることを証明している。

Ⅲ. MC における IG シグナル経路

我々の知見を腎炎の薬物療法への応用を可能とするために, IG 機能を制御しているシグナル経路を明らかにする必要がある。そこで, 最近, 培養細胞で想定されている, $\alpha 1$ IG を介して活性化される ERK/AP 1 経路と, $\beta 1$ IG 経由で活性化される Integrin-linked kinase(ILK)

経路が IG による ECM リモデリングにどのように働いているのか検討した。ECM リモデリングのモデルとして, COL gel contraction assay を応用したが, MC の ERK のリン酸化と AP 1 活性が経時的に平行に上昇することが認められた(図 5)。この ERK/AP 1 経路の活性化は, 抗 $\alpha 1$, 抗 $\beta 1$ IG 抗体を培養系に加えると阻害されることより $\alpha 1\beta 1$ IG 依存性である⁸⁾。また, c-jun dominant negative (DN) vector を用いて作成した核内 AP 1 活性が低下した Jun-DN MC は, コントロール MC, Mock MC に比べて ECM リモデリング作用が低下することも確認した(図 6)。以上の結果は, コラーゲン $\alpha 1\beta 1$ IG 接着により発生する ERK/AP 1 経路は MC の COL 基質の組み立てに重要な働きをしていることを示

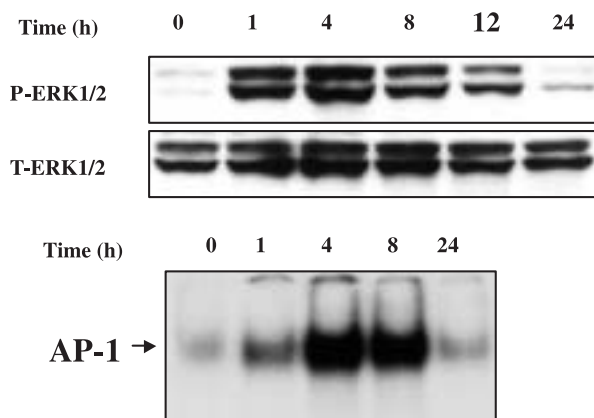


図 5

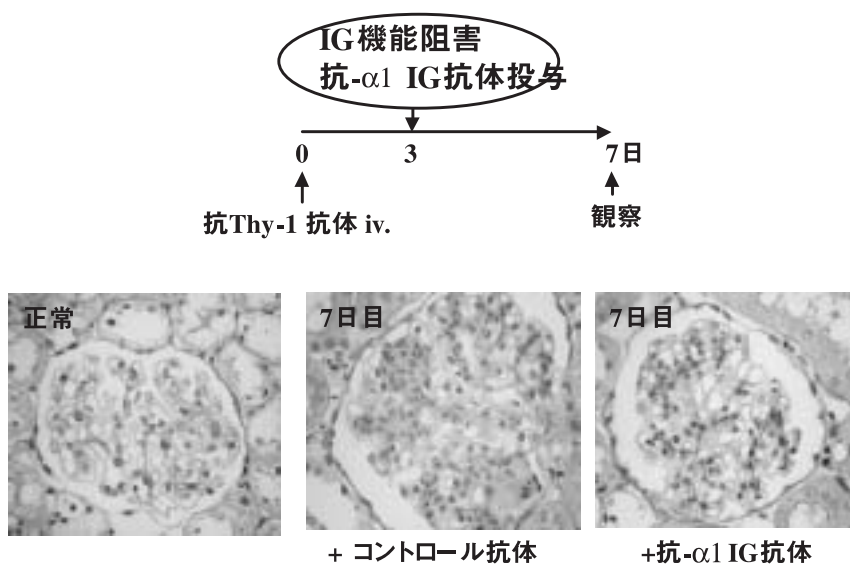


図 4 Thy 1 腎炎モデル

している。一方、 $\beta 1$ IG サブユニット関連シグナル分子、ILK は $\beta 1$ IG 細胞内ドメインに結合するセリン/スレオニンキナーゼであり、IG の機能として重要な ECM の組み立て、細胞骨格編成、GSK 3 の経路を介した細胞増殖、Akt 経路からの細胞の生存などに関与することが示唆されている (図 7)。我々は ILK が進行性腎炎モデルである片腎 Thy 1 腎炎モデルや ECM 蓄積が特徴的に見られる糖尿病腎症で糸球体内 ILK 活性が上昇することを認めている。さらに、ILK の kinase-deficient (KD) mutant vector を用いて作成した ILK-KD-MC は、コントロールである Mock MC に比し FN 線維形成能、COL リモデリング能力が明らかに低下することが判明している⁹⁾。つまり ILK シグナルも、腎炎における ECM リモデリングに関与する MC の IG 機能を制御するための重要な標的分子となりうると考えられた。

おわりに

MC が発現する $\beta 1$ IGs は細胞接着という基本的な細胞動態を制御する ECM レセプターであり、メサンギウムでの ECM 組立てや細胞移動、増殖に働いている。腎炎において IG 機能が正常状態より逸脱 (発現異常/シ

グナル変化) すると、病的な糸球体構築像 (再生像) が生じ糸球体硬化に進行する可能性がある。従来より腎炎進行に関与する因子として、PDGF、TGF- β などの増殖因子やアンジオテンシン II、エンドセリンなどの生理活性物質が示唆されてきたが、それら全て $\alpha 1\beta 1$ IG を介する COL リモデリング促進作用を有している^{5,10)}。一方、腎炎治療薬として現在よく用いられているステロイド薬やヘパリンには IG を介する COL リモデリングを低下させる作用がある。これらの事実も IG が腎炎の進行に重要であることを示唆している。現在、長年に渡って研究が進められてきた抗血小板 IG 療法が冠動脈疾患の治療法として効果が認められ、臨床応用の段階に入りつつある。同様に、MC が発現する IG 機能を特異的に制御しているシグナル経路の全貌が明らかになれば、それらを構成しているシグナル分子を標的とした創薬も可能となるであろう。将来、このような抗 IG 療法が開発され、未だ決め手のない慢性、進行性腎炎の新たな治療法となることを期待したい。

謝 辞

本総説の機会を与えてくださいました徳島大学医学部 佐々木卓也教授に深謝致します。また、この本総説において紹介した研究成果は、徳島大学医学部 黒田康弘教授のご指導のもと小児科腎臓病研究グループの諸先生方のご協力により遂行されました。ここに深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Ruoslahti, E., Noble, N.A., Kagami, S., Border, W.A.: Integrins. *Kidney Int.*, 45: s17 s22, 1994
- 2) 香美祥二, 漆原真樹.: メサンギウム細胞と細胞外マトリックス間結合, 腎と透析 47: 179 185, 1999
- 3) Kagami, S., Border, W.A., Ruoslahti, E., Noble, N.A.: Coordinated expression of $\beta 1$ integrins and transforming growth factor- β -induced matrix proteins in glomerulonephritis. *Lab. Invest.*, 69: 68 76, 1993
- 4) Kuhara, T., Kagami, S., Kuroda, Y.: Expression of $\beta 1$ integrins on activated mesangial cells in human glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 8: 1679 1687, 1997
- 5) Kagami, S., Kondo, S., Loster, K., Reutter, W., et al.:



図 6

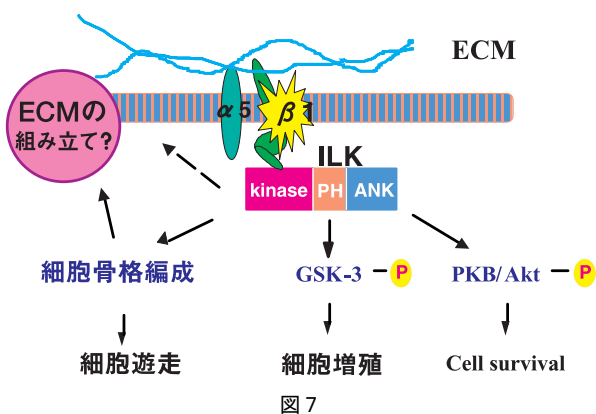


図 7

- $\alpha 1\beta 1$ integrin-mediated collagen matrix remodeling by rat mesangial cells is differentially regulated by transforming growth factor- β and platelet-derived growth factor-BB. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 10 : 779-789, 1999
- 6) Kagami, S., Urushihara, M., Kondo, S., Hayashi, T., *et al.* : Effects of anti- $\alpha 1$ integrin subunit antibody on anti-Thy 1 glomerulonephritis. *Lab. Invest.*, 82 : 1219-1227, 2002
- 7) Cook, H.T., Khan, S.B., Allen, A., Bhangal, G., *et al.* : Treatment with an antibody to VLA 1 integrin reduces glomerular and tubulointerstitial scarring in a rat model of crescentic glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.*, 161 : 1265-1272, 2002
- 8) Kagami, S., Urushihara, M., Kondo, S., Loster, K., *et al.* : Requirement for tyrosine kinase-ERK1/2 signaling in $\alpha 1\beta 1$ integrin-mediated collagen matrix remodeling by rat mesangial cells. *Exp. Cell Res.*, 268 : 274-283, 2001
- 9) Kagami, S., Kondo, S., Urushihara, M., Kitamura, A., *et al.* : Up-regulation of integrin-linked kinase (ILK) activity in the rat mesangioproliferative glomerulonephritis (GN). *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13 : 500A, 2002
- 10) Kitamura, A., Kagami, S., Urushihara, M., Kondo, S., *et al.* : Endothelin is a potent stimulator of $\alpha 1\beta 1$ integrin-mediated collagen matrix remodeling by rat mesangial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 299 : 555-561, 2002

The role of $\beta 1$ -integrin family in the progression of glomerulonephritis

Shoji Kagami

Department of Pediatrics, Course of Human Development, The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima, Japan

SUMMARY

Sustained mesangial cell-mediated abnormal mesangial extracellular matrix (ECM) remodeling is the central biologic feature of progressive glomerulonephritis (GN) leading to glomerular sclerosis. Therefore, elucidating the molecular and cellular mechanisms involved in pathological mesangial remodeling is essential to understand the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis. Accumulating evidences indicate that $\beta 1$ integrin family regulate physiological and pathological ECM remodeling (fibrosis) in various organs. This overview will focus on our recent understanding of pathophysiological role of $\beta 1$ integrin family in the progression of GN. Finally, we discuss the strategies targeting the integrin-mediated signaling pathway that permit the development of new therapeutic methods for inhibition of pathological ECM remodeling in GN.

Key words : integrin, extracellular matrix, remodeling, glomerulosclerosis