

腎尿路系奇形 (CAKUT) の発生

東海大学医学部・バンダービルト大学医学部
市 川 家 國
東京女子医科大学医学部
西 村 英 樹

腎臓、尿路系の先天性異常 (Congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT) は形態的に多様である。その頻度はおおよそ10/1000出生と多く、女兒よりも男児に圧倒的に多いことが報告されている。家族傾向の強いものが多いところからCAKUTには遺伝子異常が背景にあると考えられてきた。私共は最近、研究室において高血圧との関連で知られるアンジオテンシンの受容体の1つであり、最近になって存在を知られたもののその機能が余り明確でなかったtype2 (AT₂) 受容体遺伝子をノックアウトした際、このCAKUTが出現する事を見出し、これに基づいてヒトにおける遺伝子の検索を行った¹⁾。

ノックアウトマウスでの明らかなCAKUTの出現率は3-25%と低率であったが、組織上でも、発生の時期の点でもヒトのCAKUTと酷似している。ヒト同様CAKUTの出現は圧倒的に雄に多く、出現する形態もきわめてランダムであり、それはいずれもAT₂受容体の遺伝子が欠失したマウスにのみ認められる異常であった。また、外見上CAKUTがみられず、一見正常とされたマウスの腎臓の組織所見を検索すると、一部が正常で一部はmultiple dysplastic kidneyという2つの尿管と共に2極を持つ腎臓もあり、その際はWeigert Meyer principleとStephens theoryというヒトのCAKUTでの解剖学的特徴が満たされている事も判明した。

そこでヒトに於いて、AT₂受容体遺伝子の異常がCAKUTの発症に関与しているかどうかという疑問について検討した。その検索の結果、AT₂遺伝子のintron 1のいわゆるariat branchpoint sequenceと呼ばれる部位にAからGへの変異を認める者を対象群の1/3に見出した。この部位はDNAがpre-m

RNAに翻訳された直後に行われるスプライシングの際に最初に認識される部位である。つまり、正常なA genotype(AAA)ではariat branch pointは正常であり、pre-mRNAのexon 1~3は正常に結合してゆくが、変異したG genotype(GAA)ではariat branch pointに変異があるため正しく認識されず、exon 2が抜けてくるのである。そのため、RT-PCR法で検討すると、G genotypeではexon 2がないためにmRNAの長さが短く、また転写産物の絶対量が圧倒的に少ないことが確認されている。

アメリカおよびドイツの白人に於ける実際の症例について検討してみると、いずれも対照群でA genotypeが60~70%と多いが、CAKUT群ではG genotypeが圧倒的に多く、対照群とは逆のこの分布パターンは統計的にも有意であることが認められた。ただし、これらのgenotypeの分布はあくまでも相対的なもので、決して疾患との間に1対1が認められるものではない。従ってCAKUTの多くは本態性高血圧に見られると同じようにmultigenicな疾患であり、monogenicな疾患ではないと考えられた。AT₂の変異はそのmultigenesの中の1つと考えられる。

腎・尿路系の先天性異常は、尿管と膀胱の移行部の異常、逆流、巨大尿管、腎臓組織の低異形成を含むが、F. Douglas Stephensは尿管原器の初期の発生の異常がこれら全ての異常を引き起こすと提唱している²⁾。上記のAT₂受容体遺伝子欠損マウスでも尿管・膀胱移行部をはじめ尿管及び腎を含む異常が共存しており、Stephens仮説の是非を問うには絶好のモデルであることが分かる。実際、その一部には重複尿管を有するマウスがあり、そのマウスにおいてはhypodysplastic kidneyの部

位はectopic ureteral orificeへと連結し、正常腎組織は正常位置のureteral orificeへと連結するというヒトにおける相関が再現されている。このAT₂ノックアウトマウスを胎生期にさかのぼって詳細に検索した結果、重複尿管の初期段階であるWolffian ductからの重複尿管発芽という現象の一瞬を捉えることができた。その場面において、異常なWolffian ductの部位から発芽した第2尿管が未分化の第2腎原基と接触を始めるというStephensが仮説した像が観察され、ここにStephensの仮説は裏付けられたことになる。

ヒト及びラット、マウスでのAT₂の受容体遺伝子の発現を調べると、この遺伝子は胎児期にのみ発現すること、しかも、発現する部位は皮膚表層の一部と腎・尿路系であり、それぞれの発育と位置的、機能的に緊密な関係にあることが分かった。例えば、ラット、マウスでは、胎児期（満期は21日）の11日目にみられる尿管の発芽期にAT₂受容体が未分化の間葉細胞層に発現するが、これはやがて分化して消失してしまう細胞層であり、そこにAT₂受容体は発現している。Wild typeのマウスでは、AT₂受容体を発現する間葉細胞にアポトーシスが多く観察されたのに対し、AT₂受容体遺伝子のノックアウトマウスではアポトーシスを示す細胞が有意に少なく、未分化の間葉細胞が消滅せずに残存する傾向を示すことが分かった。

ノックアウトマウスにおいて、AT₂の持つアポトーシス促進作用が喪失した事が、いかに発芽期にあってCAKUTの発生に寄与するかは想像の域を出ないが、Stephensが初めに提唱した発芽異常の重要性を考慮すると一つの可能性が呈示されよう。正常発芽に当たってはmetanephrosからWolffian duct toのサイトカイン的シグナルの到達が必要不可欠なものであるが、AT₂異常の際にはこの二つの原基間に介在する間葉細胞の異常な残存によってこのサイトカイン的シグナル伝達が妨げられ、発芽の位置異常が発生すると仮説してみた。

AT₂ノックアウトマウスはまた一方で、発芽異常以外のメカニズムの重要な役割も示唆している。その間接的証として正常のマウス、ヒトでAT₂はbuddingの周辺のみならず、こことは位置的にも時間的にも離れたところにも強く発現している。そ

して、AT₂ノックアウトマウスに見られるCAKUTの形態の中には、尿管のatresiaをはじめとしてStephensの仮説で説明されないものがある。更には、AT₂ノックアウトマウスの中にはectopic ureteral orificeは無いが、腎臓がhypoplastic・dysplastic・hydronephroticであるものがあり、これは発芽とは独自なそれぞれの原基の中での後期に起こる異常現象の存在を意味する。

今回の一連のヒト遺伝子の検討とマウス遺伝子ノックアウトの実験により、AT₂レセプター遺伝子の異常が多くヒトCAKUTにおいて関与していることが明らかになったが、また同時にAT₂遺伝子異常はCAKUTに関与する一遺伝子にすぎないことも明らかになった。これは正常人でも変異型AT₂遺伝子を持ったものが多数あり、一方では正常型AT₂遺伝子をもったCAKUT患者も多く存在するという多遺伝子疾患の特徴をCAKUTが持っている事にほかならない。

こうしてAT₂ノックアウトマウスがヒトCAKUTのモデル動物として位置付けられたわけだが、このモデルではマウスのCAKUTの発症率が比較的低いことが胎生期に遡っての観察という典型的な発生学的手法を使いづらくさせていることも事実である。こうした難しさのなかにも、これまでの観察で、結論的には従来のStephen説の正統性が確認された一方、ectopic budding以外の重要な発生学的機序の存在も明らかとなった。実際AT₂は動物・ヒトにおいて、腎尿路の発生が終了するまで、その周囲に発現しており、尿管の正常な発育、および腎実質の分化に長期にわたって関わってゆくものと想像される。

〔参考文献〕

- 1) Nishimura H., Yerkes E., Hohenfellner K., Miyazaki Y., Ma Ji., Hunley T. E., Yoshida H., Ichiki T., Threadgill D., Phillips III J.A., Hogan B.M.L., Fogo A., Brock III J.W., Inagami T., and Ichikawa I. (1999) Role of the Angiotensin Type 2 Receptor Gene in Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract, CAKUT, of Mice and Men. *Molecular Cell* 3, 1-10.
- 2) Mackie G.G., and Stephens F.D. (1975) Duplex kidneys: a correlation of renal dysplasia with position of the ureteral orifice. *J. Urol.* 114, 274-280