

## 公募助成「腎不全病態研究助成」研究サマリー

研究名	薬剤誘導性細胞除去システムを用いた前駆細胞置換による内分泌機能を備えた新規腎臓再生手法の検討
所属機関	東京慈恵会医科大学 再生医学研究部
氏名	藤本 俊成
<p>我々は異種胎仔腎発生部位に外来性腎前駆細胞を注入し、その発生プログラムを借り受けることで、移植細胞由来の生体内で内分泌能を含めた機能を有する腎臓を再生することを試みている（胎生臓器ニッチ法）。以前に我々はジフテリアトキシン(DT)誘導性にネフロン前駆細胞(NPC)を特異的に除去できるマウスモデルを開発し(Six2-iDTR マウス: Six2 陽性 NPC に特異的に DT レセプター(DTR)を発現したマウス)、同マウスの腎発生部位に外来性に同種マウスもしくは異種ラット NPC を移植することで、移植した NPC 由来の腎臓再生に成功した。しかし DT によって移植したヒト NPC が死滅してしまうため、このモデルは直接ヒト細胞に応用できないという問題があった。</p> <p>本研究ではヒトに応用可能な新たな NPC 除去モデルの開発を行った。さらに新規モデルマウスの腎発生部位に同種マウス NPC、異種ラット NPC、さらにヒト iPS 細胞誘導 NPC を移植することによる腎再生を検証した。そして再生腎の EPO 産生能の検証を試みた。</p> <p>まず Six2-CreERT2 マウスと Cre 誘導性 DTA(DT の毒素フラグメント)マウスを交配した。得られた Six2-DTA マウス胎仔後腎を、タモキシフェン投与下で器官培養を施行したところ、Six2 陽性 NPC のみが特異的に除去可能であった。これにより前駆細胞除去薬剤を DT からタモキシフェンにスイッチし、ヒト細胞応用が可能となった。同マウス胎仔後腎の腎被膜下にマウスもしくはラット NPC を移植したところ、宿主 NPC が除去されるとともに、移植した NPC が置換定着し、さらには成熟ネフロンまで分化した。免疫不全マウス(NOG マウス)に移植された再生腎臓は、蛍光デキストラン投与実験により、尿産生能を有することが確認できた。すなわちラット-マウス間においては尿産生能を有する腎臓の再生に成功した。ラット-マウス間の結果をもとに、同モデルマウス後腎にヒト iPS 細胞から誘導した NPC を移植した。その結果、成熟ネフロンの再生は得られなかったものの、宿主マウスと接続を有する renal vesicle の再生を確認した。つまり NPC 置換手法によりヒト誘導 NPC から腎臓再生の可能性を示した。EPO 産生能の検証については、免疫抑制下ラット体内で Six2-DTR マウス後腎からラット NPC 由来の腎臓再生を行い(ラット-マウス異種間)、種特異的 PCR にてラット EPO 産生を検出することを考えた。しかし設定した免疫抑制プロトコールでは、拒絶により胎生腎成熟までの期間の定着を維持できず、EPO の検出が困難であり、再生腎の EPO 産生能の証明には至らなかった。</p> <p>今後は NPC の誘導時期の検証などを行い、誘導ヒト NPC からの効率的な腎臓再生を目指す。また近年樹立報告がでている免疫不全ラットを導入するなどして、EPO 産生能の検証を進めていきたい。</p>	