

## 公募助成「CKD（慢性腎臓病）病態研究助成」研究サマリー

研究名	間質前駆細胞置換によるエリスロポエチン産生能を備えた腎臓再生法の検討
所属機関	東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科
氏名	齊藤 弥積
<p>本研究の目的は、異種動物の腎臓発生機構にヒトの腎前駆細胞を移植し、異種動物胎仔の腎発生機構を利用してヒト細胞から構成される腎臓を再生する胎生臓器補完法を用いて、将来的にヒト EPO 産生能を有したヒト腎臓を作成するために、エリスロポエチン(EPO)産生細胞を含む腎間質領域を再生することである。はじめに、移植用腎間質前駆細胞を採取するため、妊娠 15 日齢の GFP ラットから胎仔を取り出し、さらに胎仔より腎原基を採取した。採取した腎原基は Accutase 処理により single cell にした。その細胞をビオチン標識 PDGFR<math>\alpha</math> 抗体と抗ビオチンマイクロビーズと反応させた後、Ms Column および MiniMACS セパレータを用いて PDGFR<math>\alpha</math> 陽性の間質前駆細胞を得ることが可能であった。Foxd1CreERT2 マウスと DTA-loxP マウスを交配させ、その Foxd1CreERT2-DTA マウス胎仔にタモキシフェンを投与することで、Cre-loxP システムにより Foxd1 陽性腎間質前駆細胞にジフテリアトキシン(DT)が発現し、腎間質前駆細胞を特異的に除去できる。実際に、In vitro で移植細胞の注入を行わずに器官培養を行い、蛍光免疫染色を行い、Foxd1 陽性の間質前駆細胞の除去を確認することが可能であった。しかし、その後、遺伝子改変マウス (Foxd1CreERT2 マウス、DTA-loxp マウス) の繁殖と交配がうまくいかなかった。そこで、B6;129S4-Foxd1<sup>tm1</sup>(GFP/cre)Amc/J マウス (Foxd1 マウス) と C57BL/6-Gt(ROSA)26Sor[<sup>tm1</sup>(HBEGF)Awai]/J マウス (DTR マウス) の交配を行い、Foxd1-DTR マウス胎仔を得て、この胎仔腎臓にジフテリアトキシンを投与することで、Cre-loxP システムにより Foxd1 陽性腎間質前駆細胞を特異的に除去できるマウスを作成した。妊娠 13 日齢の Foxd1Cre-DTR マウスから胎仔を取り出し、その再生用腎原基の被膜直下にマウスピペットを用いて先に調整した移植用腎間質前駆細胞を注入した。その後、膀胱尿管付き腎原基ごと単離した。間質前駆細胞置換システムを搭載した再生用腎原基を作成した。この再生用腎原基を NOG マウスの傍大動脈領域に移植した。移植 2 週間後にレシピエントを開腹し、再生腎臓を回収し組織解析を行ったところ、蛍光免疫染色でメサンギウム細胞、間質性繊維芽細胞、レニン産生細胞、血管周皮細胞、EPO 産生細胞などの成熟した間質系細胞への分化を確認した。今後は、尿排泄路の確立、再生腎の EPO 産生能の蛋白解析を行う必要がある。</p>	