

### YIA 受賞記念講演 3

## 再生腎臓における尿排泄路機構の構築

Urine excretion strategy for stem cell-generated embryonic kidneys

横手伸也

Shinya YOKOTE

過去にわれわれは、ヒト由来幹細胞をラットの腎発生領域に注入し、発育した腎原器をラットの体網に移植することで、ラット体内から移植腎原器に血管が侵入し発育が継続し、ヒト幹細胞由来の腎組織を再生することができることを報告し<sup>1,2)</sup>、この臓器再生法を胎生臓器ニッチ法と名づけた<sup>3)</sup>。この方法で作られた腎組織は、糸球体・尿細管構造を持つことで尿を産生するだけでなく、レシピエント動物を貧血や低血圧に誘導することにより、エリスロポエチンやレニンを産生する能力を有していることも明らかとなっている<sup>4,5)</sup>。この方法のメリットは、レシピエント側から再生腎臓に血管が侵入し血管ネットワークを形成するために、血管吻合をする必要がない点である。しかし、この再生腎臓は、尿排泄路がないために水腎症化し、発育が継続しないことが問題であった。そこでわれわれは、ヒト臨床応用に向けて、再生腎臓の尿排泄路構築が可能かどうか後腎移植モデルを用いて検討した。

今回の研究では、まず、大型動物であるブタを用いて、再生腎臓の大型化が可能かどうかを検討した。移植による拒絶反応の影響を完全に排除するため、体細胞核移植法を用いてクローンブタを作製し、syngenic なブタ間での新規腎臓を作製した。胎生 30 日ブタ胎仔から腎原器を取り出し、syngenic なブタの大網に移植し、組織学的に新規腎臓の発育を検討した。移植した腎臓は、ラット同様にレシピエント動物から血管が侵入し血管ネットワークを構築することで発育を継続し、移植後 3 週目で糸球体・尿細管構造を保持していた。その後、移植後 8 週目では長径約 3 cm 大まで成長し尿産生を確認したが、組織学的には皮質の菲薄

化を認め水腎症化していた。この結果から、大型動物を用いることで新規腎臓の大型化は可能であるが、発育の継続には水腎症を防ぐための尿排泄路の構築が不可欠であると思われた。

そこで次に、ラットを用いて尿排泄路構築が可能かどうか検討した。ここでは、より胎生期に生理的に近い、膀胱付腎原器(以下、クロアカ)を用いて発育の検討を行った。Lewis ラット胎生 15 日の胎仔からクロアカを摘出後同種ラットへ移植した群と、クロアカの尿管を切断して断端は処理をせず尿管の切れた 2 つの後腎と膀胱を移植した群(コントロール群)とでの、発育腎臓の腎組織を比較検討した。移植 4 週間後のクロアカ由来の発育腎臓は、コントロール群に比べ有意に尿管拡張および間質の線維化が抑制されており、また、尿産生および尿中 UN, Cr 排泄量もコントロール群に比べ有意に増加していた。以上より、クロアカ移植は腎原器移植に比べて水腎症予防に適しているだけでなく、組織の発育に優れていることがわかった。

次に、クロアカ膀胱内に溜まった尿を排泄するため、移植 4 週間後に新規腎臓の膀胱とレシピエントの尿管吻合術を施行、この尿排泄路方法を step-wise peristaltic ureter (SWPU) system(図)と名づけた。その結果、移植後 8 週間経過しても、新規腎臓が産生した尿がレシピエントの尿管を通して膀胱に排泄されることを経静脈的尿路造影および肉眼所見にて確認でき、組織学的にも糸球体・尿細管構造が保たれていた。また、SWPU system にて尿排泄路構築を行った無腎ラットは、コントロール群の無腎ラットに比べて有意に生命時間が延長することが明らかとなった。以上より、SWPU system はラットにおける新規腎臓の尿排泄路構築に有用であることがわかった。

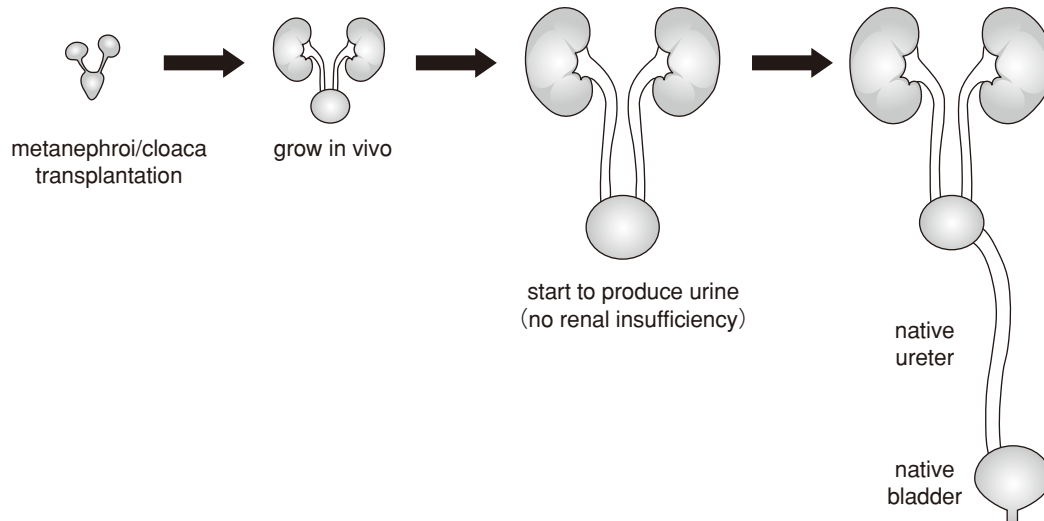


図1 Step-wise peristaltic ureter (SWPU) system の概要

次に、クローンブタ間でも SWPU system を用いた尿排泄路構築が可能かどうか実験を行った。ブタ胎生30日のブタ胎仔からクロアカを摘出し、syngenicなクローンブタの脾動脈付近に移植した。結果、移植3週目から新規腎臓の膀胱内に尿の蓄積を確認でき、発育継続につれてクロアカ膀胱内に貯留する尿量の増加を認めた。移植4週間後にレシピエント左尿管とクロアカ膀胱の吻合術を施行し、8週間後の新規腎臓を評価した。結果、移植8週間後の新規腎臓は、吻合しない場合に比べて水腎症化が抑制され腎組織の発育が保たれていた。これにより、SWPU system はブタのような大型動物においても適応可能であることが示唆された。

以上の結果より、クローンブタを用いた SWPU system による腎臓再生は、新規腎臓の巨大化および尿排泄路確保という腎臓再生医療に不可欠なステップをクリアすることを示しており、移植可能な腎臓再生という点において有用なツールとなりうることを示唆していた。

## 謝 辞

最後に、この研究を支えてくださった横尾隆先生はじめ、明治大学農学部長嶋比呂志先生、松成ひとみ先生、内倉鮎子先生、慶應義塾大学小林英司先生、北里大学獣医学部岩井聡美先生、聖マリアンナ医科大学藤本瑛介先生、また、東京慈恵会医科大学腎臓高血圧内科および再生医学研究部の先生方に心より感謝申し上げます。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

## 文 献

1. Yokoo T, et al. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102(9) : 3296-3300.
2. Yokoo T, et al. Xenobiotic kidney organogenesis from human mesenchymal stem cells using a growing rodent embryo. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17(4) : 1026-1034.
3. Yokoo T. Kidney regeneration with stem cells : an overview. *Nephron Exp Nephrol* 2014 ; 126(2) : 54-58.
4. Yokoo T, et al. Generation of a transplantable erythropoietin-producer derived from human mesenchymal stem cells. *Transplantation* 2008 ; 85(11) : 1654-1658.
5. Yokote S, et al. The effect of metanephros transplantation on blood pressure in anephric rats with induced acute hypotension. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27(9) : 3449-3455.