



京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA)  
アステラス製薬株式会社

## ヒト iPS 細胞由来の腎前駆細胞をつかった細胞移植で 急性腎障害(急性腎不全)マウスに効果

京都大学 iPS 細胞研究所(所在地:京都、所長:山中 伸弥、英名:Center for iPS Cell Research and Application、以下「CiRA」)の長船健二教授グループとアステラス製薬株式会社(本社:東京、社長:畑中好彦、以下「アステラス製薬」)による、腎臓の再生医療に関する両者の共同研究の研究成果が、2015年7月21日9:00(米国東部時間)に「Stem Cells Translational Medicine」でオンライン公開されました。

### ポイント

- ヒト iPS 細胞から腎臓の前駆細胞を作製する方法を確立した。
- 急性腎障害<sup>注1</sup>のマウスに腎臓の前駆細胞を移植することで治療効果が認められた。
- 腎疾患にも細胞移植療法が開発できる可能性がある。

### 1. 要旨

両者の研究グループは、腎臓の再生医療に関する共同研究において、人工多能性幹細胞(iPS細胞)から作製した腎前駆細胞の移植により、マウスの急性腎障害(Acute Kidney Injury; AKI)による腎機能障害や腎組織障害が軽減することを発見しました。

今回の研究において、ヒト iPS 細胞から OSR1 と SIX2 というタンパク質を指標に腎臓の前駆細胞を作製し、その細胞が腎臓の尿細管様の3次元の管構造を作る能力を持っていることを明らかにしました。さらに、虚血再灌流<sup>注2</sup>により急性腎障害を生じたマウスに、この腎臓の前駆細胞を移植したところ、症状を緩和することを確認しました。特に腎機能の指標である血中尿素窒素(BUN)と血清クレアチニンの検査値の上昇が顕著に抑えられ、組織学的な変化も抑えられました。

### 2. 研究の背景

腎臓の機能が急激に低下することを急性腎障害といいます。処置を行った患者さんでも60%程度は死に至ります。これまでの方法ではこの急性腎障害により受けた腎臓のダメージを軽減することはできず、ヒト iPS 細胞を使った細胞移植が新しい治療の選択肢の一つとして期待されています。本年2月には、イタリアの研究グループにより、薬剤によって急性腎障害を起こしたマウスに、ヒト iPS 細胞から作製した腎臓細胞を尾静脈から注射し、治療効果があると報告されました。

また、既に OSR1 と SIX2 という2つのタンパク質を指標にすることで、腎臓の前駆細胞を見分けられることが明らかにされていました。豊原敬文研究員・長船教授らの研究グループは今回、ヒト iPS 細胞から OSR1 と SIX2 を発現している腎臓の前駆細胞へと分化させ、虚血性の腎障害を起こしたマウスの腎被膜<sup>注</sup>

<sup>3</sup> 下へ移植し、治療効果を検証しました。

### 3. 研究結果

#### 1) ヒト iPS 細胞から腎臓の前駆細胞を誘導する方法の確立

ヒト iPS 細胞に、腎前駆細胞の指標となる OSR1 遺伝子の発現に伴い GFP(緑色蛍光タンパク質)が、SIX2 遺伝子の発現とともに tdTomato(赤色蛍光タンパク質)が発現する系を構築しました。この系を用いて緑と赤の蛍光を目印に、ヒト iPS 細胞から腎前駆細胞へと分化誘導する方法を確立しました。

この方法で誘導した細胞は、マウスの後腎細胞と共培養や、あるいは免疫不全マウスの精巣周囲の脂肪内に移植したところ、いずれも尿細管様の管構造をつくり、腎臓の前駆細胞として十分に機能することを明らかにしました。

#### 2) 急性腎障害のマウスへの細胞移植

虚血再灌流により腎障害を引き起こしたマウスの腎被膜下に、1 の方法で作製した腎臓の前駆細胞を移植し、その効果を検証しました。その結果、腎機能の検査値である血中尿素窒素(BUN)値や血清クレアチニン値は細胞を移植しなかったマウスと比べて顕著に低下していることが分かりました。また腎臓の組織切片を観察したところ、尿細管の壊死や線維化<sup>注4</sup>など、腎臓が障害を受けた時に発生する現象についても、かなり小さく抑えられていました(Fig. 1)。

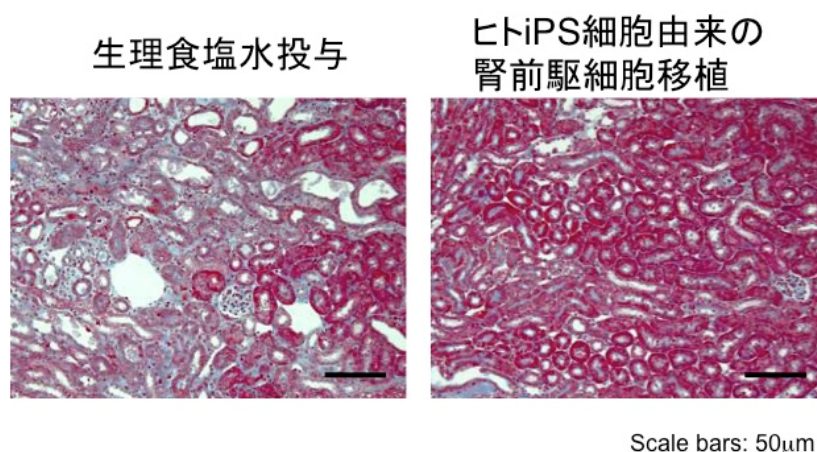


Fig. 1 細胞移植から12日後の組織切片の観察像(Masson's Trichrome 染色)  
青い部分は線維化が起きていることを示している。  
赤:細胞質、青:コラーゲン線維

### 4. まとめ

今回、ヒト iPS 細胞から作製した腎前駆細胞を、急性腎障害のマウスに移植し、回復効果が見られることを明らかにしました(Fig. 2)。移植した細胞は、マウスの腎臓の一部にはなりませんが、周りの細胞の回復を助ける働きがあり、また腎臓の保護因子も分泌していることが確認されました。腎移植を必要とするような人工透析を受けている慢性腎不全の方の場合、腎臓の細胞がほとんど壊れているため、治療には腎臓そのものを作製して移植することが必要であり、今回の方法だけでは治療は困難です。しかし、急性腎障害を負った方の腎機能を回復し、腎障害の慢性化を防げる可能性を示しており、腎疾患にも細胞移植を使った治療が適応できることを示しました。

今後、今回の方法を活用した臨床応用の可能性を探りながら、慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease; CKD)や慢性腎不全の治療に向けた研究も進める予定です。

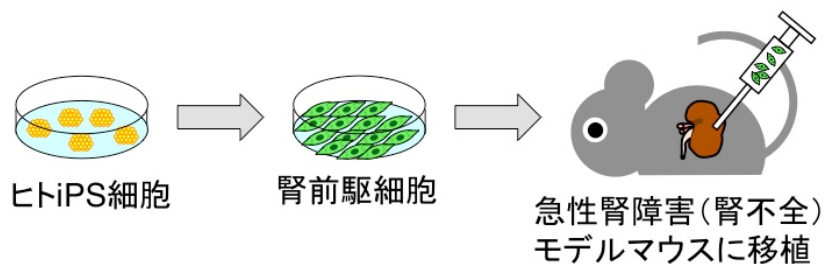


Fig. 2 今回の研究の流れ

## 5. 論文名と著者

### ○ 論文名

“Cell therapy using human induced pluripotent stem cell-derived renal progenitors ameliorates acute kidney injury in mice”

### ○ ジャーナル名

Stem Cells Translational Medicine

### ○ 著者

Takafumi Toyohara<sup>1</sup>, Shin-Ichi Mae<sup>1</sup>, Shin-Ichi Sueta<sup>1</sup>, Tatsuyuki Inoue<sup>1</sup>, Yukiko Yamagishi<sup>2</sup>, Tatsuya Kawamoto<sup>2</sup>, Tomoko Kasahara<sup>1</sup>, Azusa Hoshina<sup>1</sup>, Taro Toyoda<sup>1</sup>, Hiromi Tanaka<sup>1</sup>, Toshikazu Araoka<sup>1</sup>, Aiko Sato-Otsubo<sup>3</sup>, Kazutoshi Takahashi<sup>1</sup>, Yasunori Sato<sup>4</sup>, Noboru Yamaji<sup>2</sup>, Seishi Ogawa<sup>3</sup>, Shinya Yamanaka<sup>1,5</sup> and Kenji Osafune<sup>1\*</sup>

### ○ 著者の所属機関

1. 京都大学 iPS 細胞研究所
2. アステラス製薬
3. 京都大学大学院医学研究科
4. 千葉大学医学部附属病院
5. グラッドストーン研究所

## 6. 本研究への支援

本研究の実施に際し、CiRA は下記機関より資金的支援を受けました。

- 文部科学省 再生医療の実現化プロジェクト
- 内閣府 最先端研究開発支援プログラム (FIRST)
- 日本学術振興会 科学研究費補助金 (若手研究 B)
- 科学技術振興機構 さきがけ
- 科学技術振興機構 山中 iPS 細胞特別プロジェクト
- 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 技術開発個別課題
- 上原記念生命科学財団
- 武田科学振興財団
- iPS 細胞研究基金

## 7. 用語説明

注 1) 急性腎障害 (AKI)

何らかの原因により急激に腎臓が働かなくなる状態のこと。以前は急性腎不全と呼ばれていた。

#### 注 2) 虚血再灌流

何らかの理由により血管が狭くなる(狭窄)、あるいは塞がってしまう(閉塞)ことで血流が減少し、組織に血液が供給されない状態を虚血という。また、その後血管の閉塞を解消し、酸素を多く含んだ血液が再び供給されることを再灌流という。虚血再灌流が生じることで、細胞がダメージを受けることが知られている。

#### 注 3) 腎被膜

腎臓を覆っている膜のこと。腎被膜下は腎臓の中で血液等によって細胞が流されにくいところであり、細胞等の移植場所として使われている。

#### 注 4) 線維化

線維芽細胞が増殖し、コラーゲンなどを作って障害を受けた部分を補う反応。細胞の機能までは補えないため、線維化した部分が多くなってしまうと、組織として機能しなくなる。

### 8. CiRA およびアステラス製薬について

#### 【CiRA における再生医療研究の取り組み】

CiRA では医療に利用できる品質の iPS 細胞を予め備蓄しておく、iPS 細胞ストックプロジェクトを進め、iPS 細胞を使った再生医療の実現を目指した基盤の整備に取り組んでいます。また、iPS 細胞を利用した再生医療研究にも取り組み、パーキンソン病や血液疾患等を対象とした研究を中心に、臨床応用に向けて着実に研究を進めています。

#### 【アステラス製薬における再生医療研究の取り組み】

アステラス製薬は、iPS 細胞に加えて、体性幹細胞を対象とした研究に取り組んでいます。iPS 細胞に早期から着目し、iPS 細胞医療応用加速化プロジェクトへの参画やベンチャー投資などを積極的に行ってきました。今後も、つくば研究センターにある再生医療研究所をハブとして、大学・研究機関等との共同研究を推進し、早期に細胞医療を具現化することを目指していきます。