

85. 医工農連携による抜本的腎不全治療法の開発

横尾 隆

東京慈恵会医科大学 医学部 腎臓・高血圧内科学講座

Key words : 腎臓再生, 尿路形成, 尿排泄腔

緒言

腎臓は最も再生が難しい臓器とされ、実現化が懐疑的に扱われている数少ない臓器のひとつである。しかし我々はこの複雑で精巧な臓器を発生過程で間違えることなく作り上げることができる。したがって哺乳類である我々は、完成された成人の腎臓を途中から作り直す再生法でなく、新たに初めから作る再生法が必要になると考える。したがって究極の腎臓再生法とは、この発生過程で遂行されるプログラムを全て解き明かし、腎臓幹細胞にこのプログラムを与え一から腎臓を作り上げてしまうことであろう。我々はこの概念に則りこれまで自己間葉系幹細胞を発生中の異種胎仔の腎臓発生ニッチに注入することにより腎臓系譜に分化させ尿生成能を獲得した再生腎臓の作製に成功している¹⁻³⁾。しかしこの再生腎臓は尿路がないため尿生成量が多くなるにつれ水腎症に陥り、約4週後から徐々に腎機能が廃絶してしまうことが問題となっていた。そこで今回再生腎臓が生成した尿を効率良く排泄させる経路の開発を行った。

方法、結果および考察

1. クローンブタを用いた自家後腎移植

移植による免疫拒絶の影響を完全に排除するために、クローンブタを作製しこの胎仔後腎を母体大網に移植した。クローンブタ同士であるため、子から母への移植であるが自家移植となる。5週後に再度開腹したところ、移植後腎は約30グラムまで成長し尿の生成が確認されたが、組織学的検討では著しい水腎症で皮質が非薄し線維化が進行していることが確認された(図1)。



図1. 大網内移植後に成熟した後腎組織

クローンブタ胎仔の後腎を母体の大網に移植5週後に開腹し、成長した後腎組織を確認した。尿の生成が開始しているため水腎症、水尿管になっていることが観察される。

したがって拒絶がない状態でも5週以上再生腎臓の機能維持が難しいことが示され、効率良い尿排泄系が必要であることが示された。

2. ラット後腎移植とクロアカグラフト移植の比較

発生過程に尿管原基は後腎が生成する尿量に応じた蠕動運動を開始することが報告され⁴⁾ これにより後腎の成長がさらに促されることが明らかとなった。この現象が移植再生腎臓の環境でも当てはまるか検討するため、ラットを用い

尿管原基と尿排泄腔ごと後腎（クロアカグラフト）を移植し、後腎単体で移植した場合と比較した。移植4週間後、クロアカグラフトは後腎と比べて重量に有意差は認められなかった。しかし組織学的検討では後腎移植では3週目から尿管の拡張が始まり4週にかけて拡大していくが、クロアカグラフトでは尿管拡張は4週目でも認められなかった。間質線維化および糸球体数減少も有意差をもってクロアカグラフトが軽度であり腎機能が保持されていることが確認された。さらに排泄尿はクロアカをリザーバーとして貯留できるため尿量が有意差を持って多いことが示された。しかし、5週間後には徐々に水腎症となることが明らかとなり、尿排泄腔の容量の許容範囲を超えないうちにさらに尿排泄させる必要があることが示された。

3. SWPU システムの開発

クロアカグラフト移植により4週まで水腎症を起こさず後腎がほぼ正常に発育することが確認されたため、4週の段階で尿排泄腔に貯留した再生腎臓からの尿を自己尿管と接続することにより自己膀胱に導くことで途中から自己の尿排泄系を利用できないか検討した。つまり移植後腎が生成した尿は中継地点となる尿排泄腔まで尿管原基による小さな蠕動運動にて能動的に移動し、尿排泄腔からは自己尿管による大きな蠕動運動により自己膀胱に導かれる。このような段階的蠕動運動機能をもった排泄系（SWPU システム: Stepwise peristaltic ureter system、図2）を試行したところ、後腎は水腎症を形成することなく、また生成された尿は効率良く体外に排泄されることが確認された。造影剤を用いたCT scan でも血液中の造影剤が成熟した後腎組織を介して尿路に排泄される像が確認された。

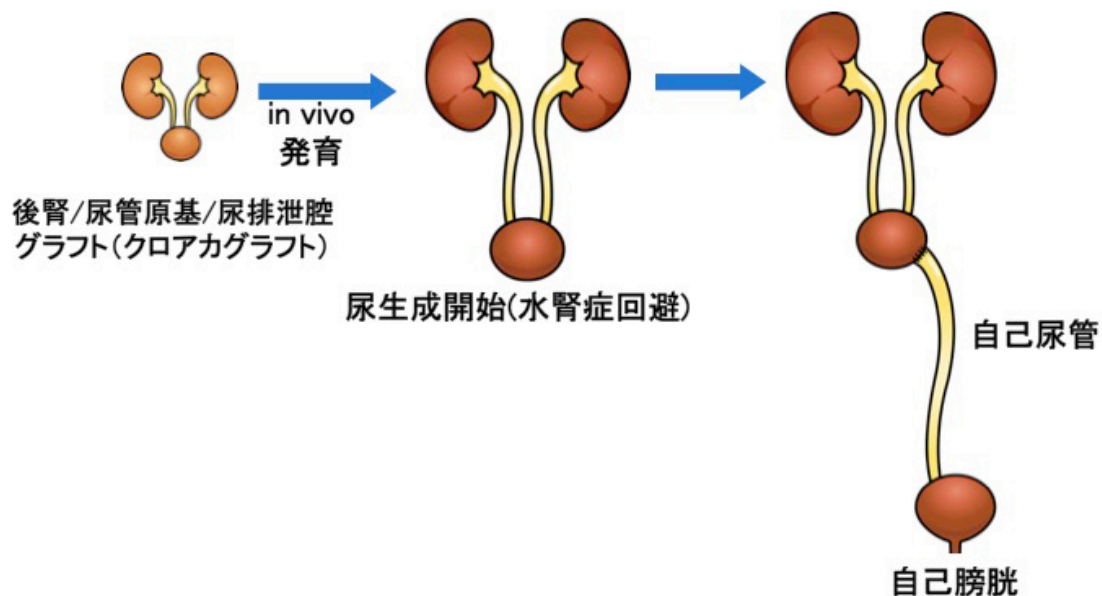


図2. Stepwise peristaltic ureter (SWPU) システム

後腎・尿管原器・尿排泄腔を一塊として移植（クロアカグラフト）して、尿排泄腔に尿の貯留が開始されてから自己尿管を接続することにより、尿排泄腔前後でスケールの違う蠕動運動が生じ効率良く尿を膀胱へ導くことができる。

移植8週間後のクロアカグラフトから排泄された尿を回収しBUN およびクレアチニン濃度を測定し自己尿と比較したところ、自己尿の30%を超える濃度であることが確認された。このため自己腎臓を摘出したところ生命予後の改善効果があることも確認された。このSWPUシステムが大型動物でも機能するか確認するために、クローンブタのクロアカグラフトを母体に移植したところ、後腎移植に比較して大きく成熟し組織学的にも水腎症を回避できていることが確認された（図3）。

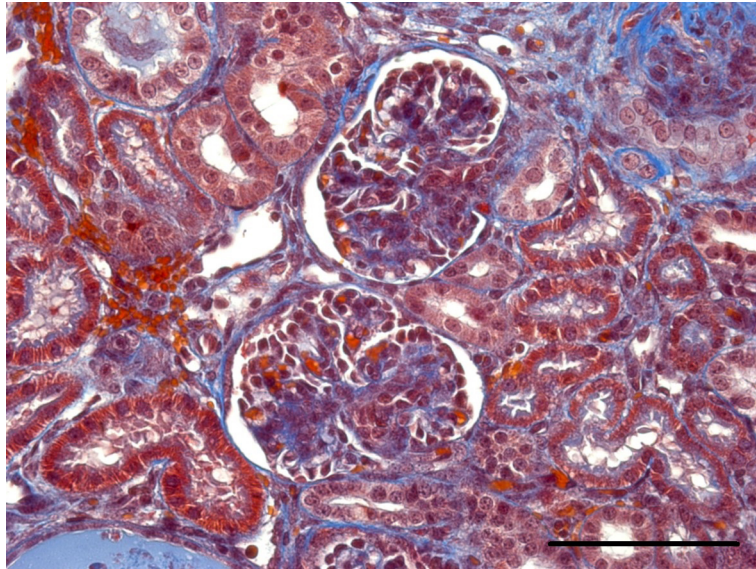


図3. クローンブタ大網内で成長したクロアカグラフト

免疫寛容状態で発育したブタクロアカグラフトは尿を効率良く排泄できるので、組織の障害が抑えられていることが確認される。Scale Bar: 100 μ m.

本法は再生腎臓の尿排泄系として他のシステムで再生された腎臓にも活用可能であり汎用性が高いと考えられ、腎臓再生医療の臨床応用に向けて一つの課題を克服できたと考えられる。

共同研究者

本研究の共同研究者は明治大学発生工学研究室長嶋比呂志教授である。

文 献

- 1) Yokoo T, Ohashi T, Shen JS, Sakurai K, Miyazaki Y, Utsunomiya Y, Takahashi M, Terada Y, Eto Y, Kawamura T, Osumi N, Hosoya T. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Mar 1;102(9):3296-300. Epub 2005 Feb 22. PMID: 15728383.
- 2) Yokoo T, Fukui A, Ohashi T, Miyazaki Y, Utsunomiya Y, Kawamura T, Hosoya T, Okabe M, Kobayashi E. Xenobiotic kidney organogenesis from human mesenchymal stem cells using a growing rodent embryo. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Apr;17(4):1026-34. Epub 2006 Mar 8. PMID: 16524947. DOI: 10.1681/ASN.2005101043.
- 3) Matsumoto K, Yokoo T, Matsunari H, Iwai S, Yokote S, Teratani T, Gheisari Y, Tsuji O, Okano H, Utsunomiya Y, Hosoya T, Okano HJ, Nagashima H, Kobayashi E. Xenotransplanted embryonic kidney provides a niche for endogenous mesenchymal stem cell differentiation into erythropoietin-producing tissue. *Stem Cells*. 2012 Jun;30(6):1228-35. doi: 10.1002/stem.1101. PMID: 22488594.
- 4) Cain JE, Islam E, Haxho F, Blake J, Rosenblum ND. GLI3 repressor controls functional development of the mouse ureter. *J Clin Invest*. 2011 Mar;121(3):1199-206. doi: 10.1172/JCI45523. Epub 2011 Feb 21. PMID: 21339645.