

【目的】我々は新たな腎代替療法の開発のため、自己の細胞から生体内で機能し得る腎臓の再生を研究している。腎臓の幹細胞を異種胎仔の腎臓発生領域に移植し、腎臓発生に必須である複雑かつ精密な発生プログラムをそのまま借り受けることで、新たに腎を構築させるという戦略である。薬剤誘導性にネフロン前駆細胞のみが除去可能な遺伝子改変マウスを作製し、ネフロン前駆細胞の除去と同時に外来性のネフロン前駆細胞を移植することで、遺伝子改変マウスの腎発生領域内部で前駆細胞の置換をおこさせ、移植細胞由来のネフロンを再生する現象を2017年に報告した(前駆細胞置換法)。しかし報告時には異種間での *in vivo* 腎再生までは示せておらず、再生ネフロンが生体内で生理的機能を持つかは不明であった。そこで本研究ではラットの体内でマウスの腎臓を足場にラットのネフロン再生を試み、ラット-マウスの異種間における *in vivo* での生理機能を持った腎臓再生の検討を行った。

【方法】Six2-GFP-Cre マウス (Six2 マウス) 及び C57BL/6-Gt (ROSA) 26Sor[tm1 (HBEGF) Awai]/J マウス (iDTR マウス) を交配させ、その胎仔 (Six2-iDTR マウス) の胎生期腎臓の皮下膜下に抽出したラットの腎前駆細胞と自殺誘導因子となるジフテリアトキシンを混合し移植した。細胞移植された“膀胱付き腎臓(再生用腎芽)”をホストの成獣ラット大動脈近傍へ移植した。ホストの成獣ラットへ移植時に免疫抑制剤を使用した(タクロリムス 2 mg/kg 皮下注とメチルプレドニゾン 5 mg/kg 腹腔内注、移植前日から評価日まで連日投与)。移植後2週間で、一般染色、免疫染色、電子顕微鏡観察で腎の形態学的評価を行った。再生腎からの産生尿を蛍光デキストラン投与による膀胱内残存を観察することで評価を行った。

【結果】免疫抑制剤使用下の成獣ラットから回収した移植3週間後の再生用腎芽を解析したところ、ラット前駆細胞由来のGFPを発現する糸球体構造を認め、Nephrinを発現する上皮細胞の内側にCD31陽性の血管内皮細胞が裏打ちされていた。電子顕微鏡観察では糸球体係蹄内に赤血球を認め、糸球体に血流があることが示唆された。また、蛍光標識デキストランをホスト成獣ラットに尾静脈投与したところ、再生糸球体のボウマン腔内とMegalinを発現する近医尿管管腔に蛍光標識デキストランを認めた。ホストの血流を濾過し尿細管腔まで原尿が通過していることが示された。ラットのNative腎前駆細胞から、前駆細胞置換法を用いたラット-マウス異種間における濾過能を持った *in vivo* での腎臓再生を示した。

再生ネフロンの濾過能評価

