

令和元年 7 月 26 日

報道機関各位

国立大学法人 熊本大学

## 【プレスリリースのご案内】

ヒト iPS 細胞からつくった腎臓の元細胞を増やすことに成功  
～腎臓の再生医療に向け前進～

### 【ポイント】

- ◆ ヒト iPS 細胞<sup>\*1</sup> から作成した腎臓前駆細胞<sup>\*2</sup> を、アクチビン<sup>\*3</sup> を使って試験管内で増やすことに成功した。
- ◆ 増やした腎臓前駆細胞は、腎臓の重要な組織である糸球体<sup>\*4</sup> と尿細管を形成した。
- ◆ 増やした腎臓前駆細胞は凍結保存でき、融解後も糸球体と尿細管を形成した。
- ◆ iPS 細胞から作成した腎臓前駆細胞を増幅し凍結保存することで、病態再現や薬剤開発の研究に発展することが期待できる。

### 【要旨】

熊本大学発生医学研究所の研究グループ（谷川俊祐助教、西中村隆一教授ら）は、ヒト iPS 細胞から誘導した腎臓前駆細胞を試験管内で増やす方法を開発しました。

尿の産生や血圧の調節など生命の維持に必須の器官である腎臓は一度機能を失うと再生しません。胎児期には尿を産生する重要な組織であるネフロン（糸球体と尿細管）が腎臓前駆細胞から作り出されます。しかし、その細胞はヒトの腎臓が出来上がる出生前に消失してしまうため、そのことが腎臓が再生しない理由の一つとされています。西中村隆一教授らの研究グループは 2014 年に、ヒト iPS 細胞から腎臓前駆細胞を誘導する方法を報告しました。さらに 2016 年には、iPS 細胞から誘導した腎臓前駆細胞をマウスに移植すると糸球体のポドサイト<sup>\*5</sup> が成熟することを証明し、2018 年には患者由来の iPS 細胞にこれらの方法を応用して小児腎臓病の初期状態再現を報告しました。これらの方法を薬剤開発や再生医療に応用するためには、前駆細胞を大量に増やす必要があります。2016 年に谷川助教らはマウスの胎仔から単離した腎臓前駆

細胞の増幅法を報告しましたが、ヒト iPS 細胞から誘導した腎臓前駆細胞の増幅には限界がありました。

今回、谷川助教らは、ヒト iPS 細胞から作成した腎臓前駆細胞を試験管内で増やす際にアクチビンが有効であることを発見しました。さらに、増やした腎臓前駆細胞は凍結保存でき、融解後も腎臓組織を形成する能力を保っていることを示しました。これによりヒト iPS 細胞から腎臓前駆細胞を誘導する 2 週間の時間と複雑な操作を省略し、これらの技術を習得せずとも腎臓組織を作ることが原理的に可能となりました。

本研究は、ヒト腎臓前駆細胞を iPS 細胞から作成し、腎臓組織を作る能力を保持しながら増幅させ、さらに凍結保存することを可能にしたものです。この成果は、患者由来 iPS 細胞から作成した腎臓組織の病態解明や薬剤開発の研究、さらに腎臓組織を再構築する再生医療につながることで期待されます。

本研究成果は、科学雑誌「*Stem Cell Reports*」オンライン版に8月1日 11:00 AM (アメリカ東部時間) 【日本時間の8月2日 0:00 AM】に掲載されます。

※本研究は、熊本大学の江良択実教授と広島大学の山本卓教授らとの共同研究です。文部科学省科学研究費補助金及び日本医療研究開発機構の支援を受けました。

## [研究の背景]

腎臓は一度機能を失うと再生しない臓器です。透析患者数は増加を辿り代替法の開発が待たれています。腎臓は血液をろ過して尿を産生するネフロン、尿を集めて排出する集合管・尿管から構成されています。その中で特に重要なネフロンを作る前駆細胞をヒト iPS 細胞から誘導する方法が、西中村教授らの研究グループによって報告されました。さらに、先天性ネフローゼ症候群<sup>※6</sup>の患者さんから iPS 細胞を樹立し、そこから腎臓組織を作成することによって、小児腎臓病の病態を再現できることが同グループによって報告されました。これにより、ヒト iPS 細胞から作った腎臓組織の再生医療への応用や、先天性腎臓病の病態解明、さらに薬剤開発への発展が期待されます。しかし、それには大量の腎臓前駆細胞が必要で、かつヒト iPS 細胞から腎臓前駆細胞を誘導する約 2 週間の時間と技術の習得が必須です。もし、iPS 細胞から作成した腎臓前駆細胞を増やして凍結保存することが可能になれば、患者さん由来の iPS 細胞から作成した腎臓前駆細胞を凍結保存し、薬剤開発のための研究材料として供給することが可能になり、研究の加速が期待されます。これまでに我々を含む複数のグループがマウスやヒトの腎臓前駆細胞を増やす方法を報告してきましたが、ヒト iPS 細胞から誘導した腎臓前駆細胞の維持が不完全であり、凍結保存法も確立されていませんでした。そこで今回は、腎臓前駆細胞が緑色に光るヒト iPS 細胞を作成し、最適な培養条件を検索することで腎臓前駆細胞の増幅培養法と凍結保存法を確立することを目的としました。

## [研究の内容]

腎臓の主要器官であるネフロンは、腎臓前駆細胞が維持されながら分化することによって作られます。2016年4月、熊本地震当日に谷川俊祐助教、西中村隆一教授らはWNT、FGF、LIF、BMPという4つの成長因子を加えることによって、マウスの腎臓前駆細胞の維持と増幅ができることを報告しましたが、ヒトiPS細胞から誘導した腎臓前駆細胞の増幅には限界がありました。そこで、今回、谷川助教らは腎臓前駆細胞が緑色に光るヒトiPS細胞を作成し、WNT、FGF、LIFという条件にBMPではなくアクチビンというタンパク質を加えることがヒトiPS細胞由来の腎臓前駆細胞の増幅に有効であることを見出しました(図1)。アクチビンを加えた腎臓前駆細胞は1週間で5倍に増え、90%以上の純度を保っており、最大2週間の増幅が可能でした(図2、A~C)。増幅した腎臓前駆細胞は試験管内で腎臓組織(糸球体と尿細管)を作ることができ、マウスに移植すると、糸球体が血管と繋がり、糸球体の成熟も進みました(図2、D)。増やした腎臓前駆細胞は凍結保存でき、融解後も腎臓組織を作ることができました(図3)。さらに、緑色に光るといった遺伝子操作を加えていないiPS細胞からでも、アクチビンによって腎臓前駆細胞を増やせることを示しました。これによりヒトiPS細胞から腎臓前駆細胞を誘導する2週間の時間を省略し、腎臓前駆細胞誘導法の技術を習得せずとも腎臓組織を作ることが原理的に可能となりました。

これまで報告された腎臓前駆細胞の増幅培養法はすべてBMPを使っていましたが、ヒトiPS細胞から誘導した腎臓前駆細胞の増幅には予想外にアクチビンが有効であることを見つけたのが成功の鍵でした。今回開発した腎臓前駆細胞の増幅法と凍結保存法は、再生医療への応用や、患者さん由来iPS細胞による病態解明や薬剤開発への応用が期待されます。

## [今後の展開]

再生医療には臓器を構成するために大量の細胞数が必要です。今回の成果は腎臓前駆細胞を人為的に増幅するもので腎疾患の病態解明、創薬及び細胞治療など大量に細胞を必要とする再生医療に向けた前進です。さらに、増幅させた腎臓前駆細胞の凍結保存を可能としたことで、iPS細胞から腎臓前駆細胞を誘導する約2週間の時間を省略でき、研究材料として供給できるようになります(図4)。

西中村隆一教授のグループは、先天性腎臓病の患者さん由来のiPS細胞から初期病態を再現できることを昨年報告しています。さらに最近、ヒトiPS細胞から作成した腎臓前駆細胞から糸球体(ポドサイト)を高効率で誘導することにも成功しています。患者さん由来のiPS細胞から作った腎臓前駆細胞を増やして凍結し、その後に最適なタイミングで腎臓組織や糸球体(ポドサイト)に誘導できるようになれば、病態解明や治療薬開発の基盤技術になるでしょう。また将来の移植可能な腎臓作製に向けた腎臓前駆細胞の調整と凍結ストック整備にも貢献が期待されます。

[参考図]

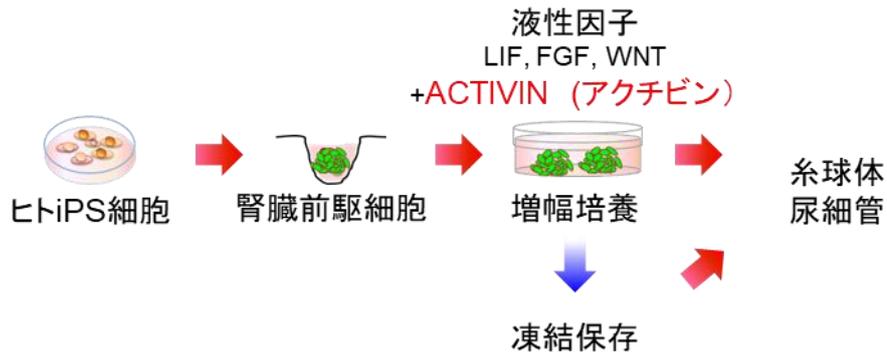


図 1. アクチビンは iPS 細胞から作った腎臓前駆細胞を増幅する。

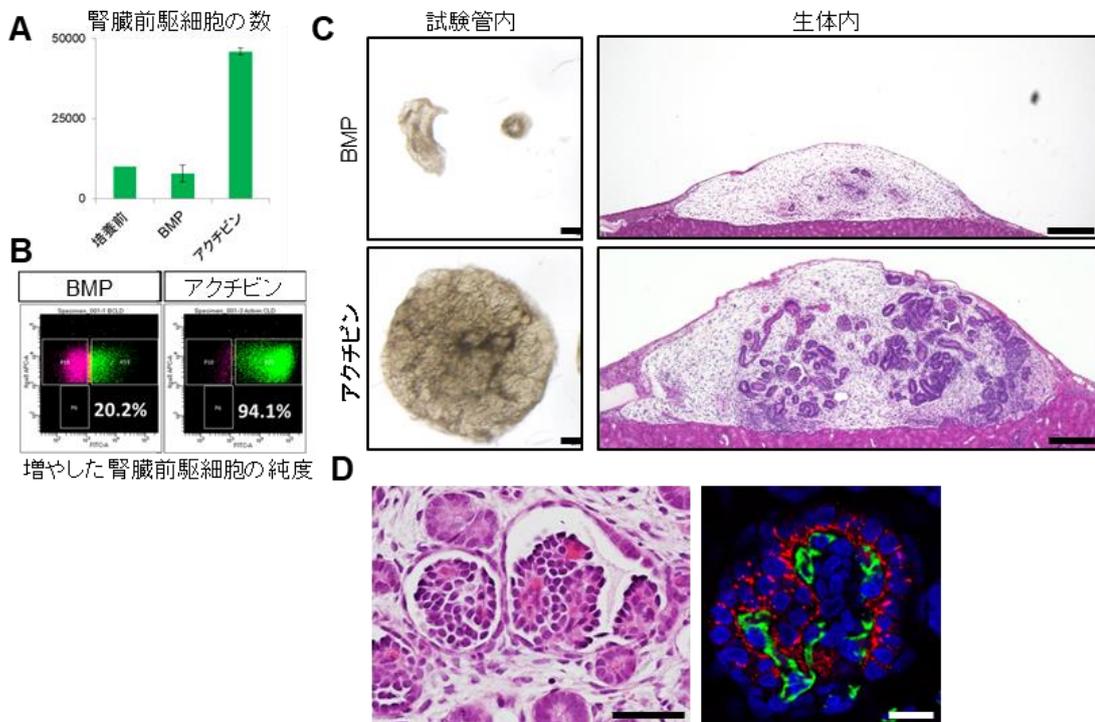


図 2. アクチビンは BMP よりも効率よく腎臓前駆細胞を維持しながら増幅でき、増やした細胞は腎臓組織を作ることができる。

- A: 1 週間増やした後の腎臓前駆細胞の数。アクチビンは BMP よりも腎臓前駆細胞を増幅する (BMP 1.3 倍、アクチビン 5 倍)。
- B: 増やした後の腎臓前駆細胞の純度。アクチビンは BMP よりも高純度の腎臓前駆細胞を維持できる (緑の部分)。
- C: アクチビンで増やした腎臓前駆細胞は BMP よりも効率よく腎臓組織を作る。(スケールバー: 200  $\mu\text{m}$ )
- D: アクチビンで増やした腎臓前駆細胞をマウス腎臓に移植すると、系球体が形成され、血管を取り込む。左図: 血管と繋がって拡張した系球体。右図: マウスの血管 (緑) が系球体に取り込まれ、ろ過膜の前駆体 (赤) が血管側に移動し成熟しつつある。(スケールバー: 左図 100  $\mu\text{m}$ 、右図 20  $\mu\text{m}$ )

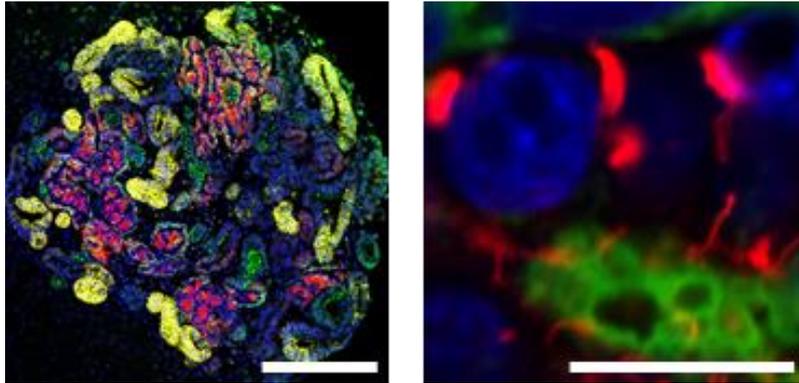


図 3. 凍結保存した腎臓前駆細胞から作製した腎臓組織。

左図：アクチビンで増やした後に凍結保存した腎臓前駆細胞によって作られた糸球体（赤）と尿細管（緑、黄）。

右図：ろ過膜の前駆体（赤）が形成されている（緑の部分は基底膜）。

（スケールバー：左図 200  $\mu\text{m}$ 、右図 10  $\mu\text{m}$ ）

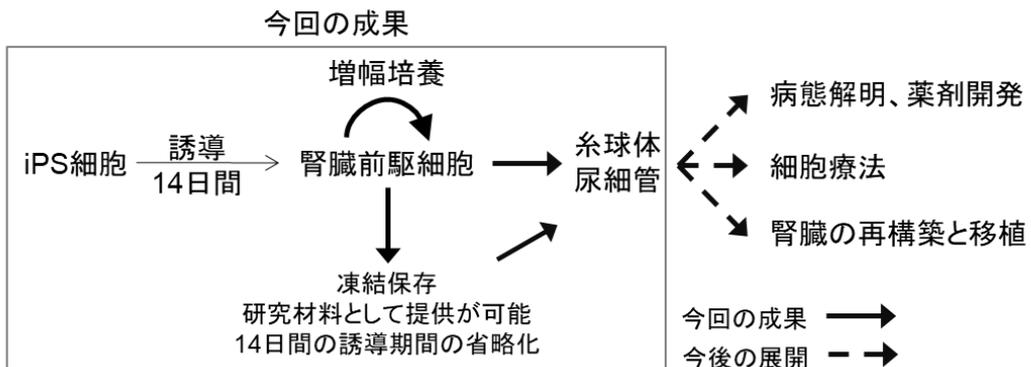


図 4. 今回の研究成果と今後期待されること

## [用語解説]

- ※1 **iPS細胞**：皮膚や血液などの体細胞から作られた万能細胞。
- ※2 **腎臓前駆細胞**：腎臓において尿を産生するネフロン（糸球体と尿細管）という組織を作り出す元の細胞。
- ※3 **アクチビン**：当初、卵胞刺激ホルモンを促進する因子として同定されたタンパク質で、中胚葉誘導を含め様々な生命現象に関わる。BMP と正反対の作用を持つことが多い
- ※4 **糸球体**：腎臓内で血液から尿をろ過する部位
- ※5 **ポドサイト**：糸球体のろ過機能を司る細胞。複雑な突起と特殊なる過膜をもつ。
- ※6 **ネフローゼ症候群**：糸球体の異常によって血液中の蛋白質が尿中に漏れ出てしまう病気。先天性の場合は、生後3ヶ月以内に大量の蛋白尿を呈し、血液中の蛋白質の低下によって全身の浮腫が起こり、2～3年以内に腎不全となることが多い。

## [論文情報]

**論文名**： **Activin is superior to BMP7 for efficient maintenance of human iPSC-derived nephron progenitors**

**掲載誌**： *Stem Cell Reports*, in press (2019)

**著者**： Shunsuke Tanigawa, Hidekazu Naganuma, Yusuke Kaku, Takumi Era, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Atsuhiko Taguchi, and Ryuichi Nishinakamura.

**doi**： [org/10.1016/j.stemcr.2019.07.003](https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.07.003)

**URL**： <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.07.003>

### 【お問い合わせ先】

熊本大学発生医学研究所 腎臓発生分野

助教 谷川 俊祐 (たにがわ しゅんすけ)

電話：096-373-6617

e-mail： [shunsuke@kumamoto-u.ac.jp](mailto:shunsuke@kumamoto-u.ac.jp)

教授 西中村 隆一 (にしなかむら りゅういち)

電話：096-373-6615

e-mail： [ryuichi@kumamoto-u.ac.jp](mailto:ryuichi@kumamoto-u.ac.jp)