

## 腎臓再生へ向けた成体腎臓幹/前駆細胞様細胞を用いた再生医療の可能性

喜多村真治

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

キーワード：傷害尿管，腎臓再生，幹/前駆細胞，細胞治療

### はじめに

2005年末の時点で末期腎不全により透析医療にかかっている患者数は25万人を越え，年に1万人のペースで増加しており，今後も人口の高齢化や糖尿病，高血圧などの生活習慣病患者数が増加している状況から腎不全患者数はさらに増加することが予想され，これらの疾患に対する新たな対策が求められている。

現在腎疾患に対する治療法として，ステロイドホルモンなどの免疫抑制療法に加え，アンギオテンシン変換酵素阻害剤，アンギオテンシン受容体拮抗薬などの降圧剤による腎保護作用が報告されているものの，いずれもが腎疾患の進行，腎機能の低下速度を緩徐にする効果があるにすぎず，腎不全からの回復を目指した治療法は腎移植において他に存在しない。しかし腎移植に関しては移植ドナーの絶対的不足から個々数年逆減少傾向にあり年々増加する腎不全患者対応することは不可能である。

そのような中，各臓器分野において再生医療が脚光をあび，活発に研究が行われている。再生医療とは，元来自然には自己再生できない臓器・組織に対して再生を促し，機能を回復させる医療である。心臓や肝臓，骨，皮膚など様々な分野において再生医療が臨牀に応用されてきているが，未だ腎臓の分野においては実用化されていない。

これまで，糖尿病性腎症を含む慢性腎疾患は緩序に進行する不可逆性の病態と考えられ，再生しない臓器として考えられてきた。しかし Fioretto ら<sup>1)</sup>は，糖尿病性腎症に対し血糖管理などをより厳密に行う腎移植により血糖を正常化すると腎障害の変化が再生方向に働き，腎症が改善することを示した。この報告は，一度障害された腎臓組織も本来保持する再生能力によって再生可能であることを示していると考えられる。このことから腎臓分野においても再生医療といった新たな治療法の開発が可能と思われ，腎臓再生に対する可能性が模索されている。

### 尿管細管再生機序

約26種類の細胞からなる腎臓の再生は，腎臓特有の複雑な形態や機能の面から非常に難しいと考えられている。

平成19年1月受理

UCSD 9500 Gilman Dr. La Jolla, CA 92093-0693

電話：858-822-3382 FAX：858-822-3483

E-mail：skitamura@ucsd.edu

プロフィール



平成10年岡山大学医学部卒，同年岡山大学大学院入学（第三内科 榎野博史教授御指導）。臨床研修の後，平成12年より山崎康司先生の下，研究の基礎を学びました。その頃より再生医学に興味を持ち，再生に活用可能な細胞株の樹立を学外研究員の菅谷健先生の協力を得ながら試み，腎臓由来未分化細胞樹立に成功しました。上記内容が企業も興味を持ち，特許取得。上記の研究により平成16年日本再生医療学会優秀演題賞，平成17年岡山医学会砂田賞，同年イーライリリー インターナショナル フェロウシップ受賞。平成17年よりUCSDにて Sanjay Nigam 教授の下，腎臓発生についての研究を行っています。平成19年3月より厚労省ヒトゲノム再生医療等研究事業に派生するヒューマンサイエンス財団日本人海外派遣研究員になりました。サイエンスとしての研究の奥深さ，辛さを経験しつつ，ベッドサイドに応用でき，慢性腎不全から人工透析への移行を少しでも減らせるような研究を行いたいと考えております。

しかし、臨床的に腎尿細管は、さまざまな要因（虚血、薬剤性など）により傷害を受け、広範囲に壊死を起こすが、一過性の腎機能障害は認めるものの、その後自然回復することが知られている。その機序として尿細管壊死が生じている部位では細胞傷害がおり、その微小環境（Niche）が変化し、その周囲の尿細管細胞、‘腎臓幹/前駆細胞’が増殖・遊走・分化し、壊死した部位で生着した細胞が機能し新たな尿細管が再構築されると考えられている（図1）。腎臓において再生に働く細胞は現在議論されており、未だ結論はでない。

### 骨髄幹細胞

当初、骨髄幹細胞による腎臓への再生の可能性が模索されていた。Sakai ら<sup>2)</sup>が IgA 腎症の経過中に慢性骨髄性白血病を併発し、骨髄移植を施行したところ、IgA 腎症が改善した症例を報告している。これは腎臓再生に骨髄細胞からの免疫細胞や腎臓構成細胞への再構築が関与した可能性を示唆している。動物実験においては、伊藤らは<sup>3)</sup>ラットに同種骨髄移植を行った後に抗 Thy-1 腎炎を発症させると自然治癒後の糸球体にはドナー骨髄由来のメサンギウム細胞が観察されることを報告している。しかし、幹細胞と分化した細胞との細胞融合が報告されており<sup>4)</sup>、骨髄細胞の腎臓再生への関与についてまだまだ更なる究明が必要である。

### 腎臓由来組織幹細胞は存在するか

腎臓発生・再生に関する研究は、近年急速に進展しており、成体腎臓内の幹細胞の存在の可能性に関する検討もなされてきている<sup>5)</sup>。幹細胞は非対称性に分裂し、自己複製をする能力や多分化能、再生能などを有するものと考えられている。前嶋らは、腎臓において 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を保持し続け非対称性分裂を呈すると考えられている slow cycling cell, すなわち幹細胞の存在を報告した<sup>6)</sup>。

我々は、そのような再生に応用可能な細胞の樹立を試みた。まず、ラット急性尿細管壊死モデルの回復期に BrdU を投与し、増殖する細胞の分布を確認した。その結果、腎臓皮質・髄質境界付近に比較的 BrdU 陽性細胞が存在することを確認した。次にそのような部分より未分化で増殖能を有する細胞を取り出すことを試みた。マイクロダイセクション法を用い、成体腎臓

ネフロン各セグメントを培養した。各セグメントより細胞群が得られたが、ヘテロな細胞群であるため、限界希釈法にてシングルセルにし、細胞の増殖を確認した。すると BrdU 染色と同じように腎臓皮質・髄質境界部である S3 セグメントから 1% 以下の確率で高度増殖能を有する細胞株を取り出すことに成功した。その後、この細胞株は不等分裂能を有する可能性が示唆され、培養条件の変化により各種腎臓構成細胞への多分化能を有する単細胞系 (rKS56 細胞: rat kidney stem/progenitor like cell 56) であることを見出した<sup>7)</sup>。

次にこの細胞の臓器構成能をみるため、同種ラットに移植したところ、移植後 4 週後に筋肉内移植部に尿細管様管腔構造が確認された。更にこの細胞を用いて急性尿細管壊死モデルに移植したところ、rKS56 細胞は移動、生着、分化し、直接再生に寄与する可能性が考えられた（図2）。成体腎臓においても皮質髄質境界部は虚血などに対し脆弱である一方、急性腎不全からの回復期には高度な細胞増殖を示す。この部位には、生直後に複製されてそれ以後の分裂が抑制された幹/前駆細胞が存在し、障害などの必要時に細胞供給源となる可能性が示唆される。最近、ミネソタ大学のグループも同様の細胞を樹立しており<sup>8)</sup>、rKS56 細胞と同種の細胞が存在することは間違いないと思われる。

今後、本細胞を解析することにより腎臓組織幹細胞の形質/機能の同定・腎臓再生医療が可能となるものと期待される。

### 問題点

遺伝子治療などと同じく、新たな治療法の最大の問題点はその安全性にあると思われる。心筋梗塞などの疾患に対し骨髄細胞等の移植による治療効果が報告されているが、一方、致死的な不整脈などの合併症が発生する危険性も含んでいる。また未分化細胞を取り扱うため未分化細胞が癌化する可能性も否定できない。

また、Houghton ら<sup>9)</sup>は移植した細胞が既存の細胞と細胞融合することにより腫瘍細胞などに形質転換し、また癌奇形性を惹起する可能性があることを報告している。

さらに細胞治療によって生着した細胞が腎臓のネフロンを構成する各部位に固有の機能を発揮する必要があり、単に細胞移植を行えば良いという訳ではない。さらに ES 細胞においては倫理的な問題点も存在して

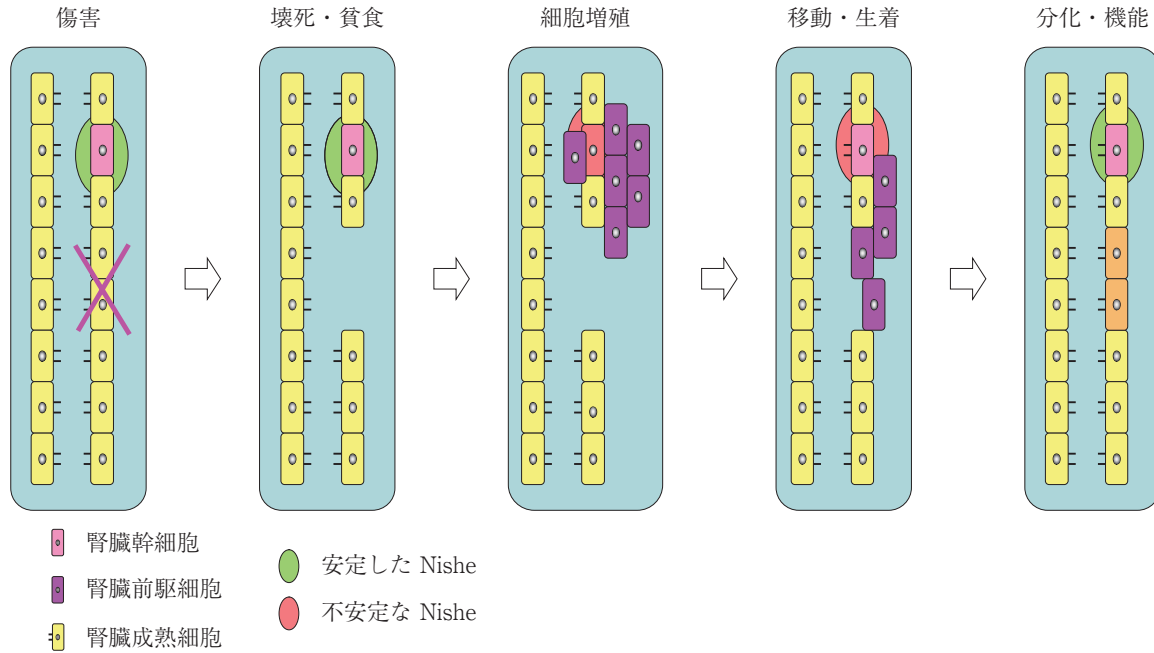


図1 障害腎における尿細管再生メカニズム

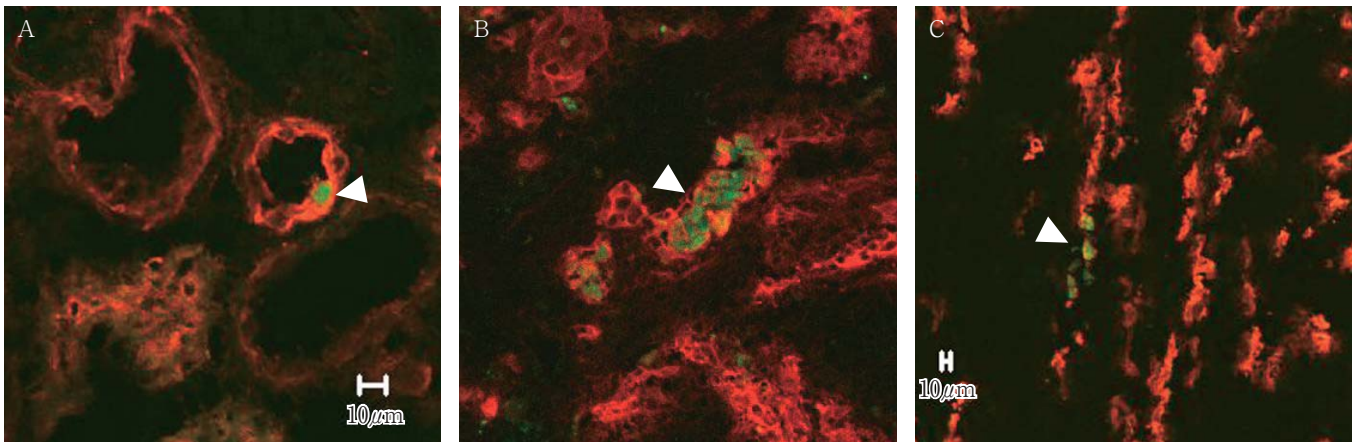
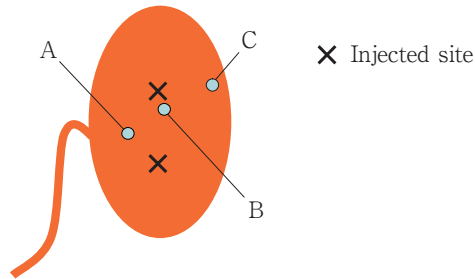


図2 rKS56細胞を用いた急性尿細管壊死モデルに対する細胞療法  
SD ラット（8～10週齢）を用い虚血・再還流モデルを作成し、障害腎臓に rKS56細胞を Di-O にて標識し移植を行った。A：髓質部 [AQP-1 染色 (red) と rKS56-Di-O (green) の merge]、B：皮髄質部 [AQP-1 染色 (red) と rKS56-Di-O (green) の merge]、C：皮質部 [AQP-1 染色 (red) と rKS56-Di-O (green) の merge]、×：移植部、矢頭：rKS56-Di-O 細胞生着部。

おり，臨床応用を実施可能にするうえで解決すべき課題が多く存在する。

## 終わりに

現在腎臓分野においても盛んに細胞・臓器再生への取り組みがなされているが，構成細胞の種類の高さや疾患多様性のため腎疾患治療への臨床応用までには解決しなければならない問題点が多数存在する。そのためには腎臓尿細管形成機序に関する研究に基づき，腎臓再生因子・腎臓幹/前駆細胞・Niche等の探索を行っていかなければならない。今後更に腎臓発生・再生の研究が進展することにより腎再生医療が可能となり，ベッドサイドでの身近な臨床応用が実現することが期待される。

## 文 献

- 1) Fioretto P, et al. : Reversal of Lesions of Diabetic Nephropathy after Pancreas Transplantation. *N Engl J Med* (1998) **339**, 69-75.
- 2) Sakai O : IgA nephropathy : Current concepts and future trends. *Nephrology* (1997) **3**, 2-3.
- 3) Ito T, et al. : Bone marrow is a reservoir of repopulating mesangial cells during glomerular remodeling. *J Am Soc Nephrol* (2001) **12**(12), 2625-2635.
- 4) Terada N, et al. : Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* (2002) **416**(6880), 542-545.
- 5) Oliver JA, et al. : The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* (2004) **114**(6), 795-804.
- 6) Maeshima A, Yamashita S, Nojima Y : Identification of renal progenitor-like tubular cells that participate in the regeneration processes of the kidney. *J Am Soc Nephrol* (2003) **14**, 3138-3146.
- 7) Kitamura S, et al. : Establishment and characterization of renal progenitor like cells from S3 segment of nephron in rat adult kidney. *FASEB J* (2005) **19**(13), 1789-1797.
- 8) Gupta S, et al. : Isolation and characterization of kidney-derived stem cells. *J Am Soc Nephrol* (2006) **17**(11), 3028-3040.
- 9) Houghton J, et al. : Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* (2004) **306**, 1568-1571.