

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17258

研究課題名（和文）腎臓再生医療を目指した異種後腎移植における血管侵入の解析

研究課題名（英文）Analysis of vascular invasion in xenogeneic metanephros transplantation for kidney regeneration.

研究代表者

松本 啓 (Matsumoto, Kei)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：30439799

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は腎臓再生医療を目指し、発達段階の新規腎を移植している。新規腎を効率よく機能させるためには、十分な血流をもつレシピエント血管が新規腎に引き込まれる必要があるが、これまで侵入血管による血流は十分でなかった。本研究で血管内皮増殖因子(VEGF)により、新規腎への血管侵入が改善するか検証をラットモデルで行った。VEGF群では侵入血管の最大径が2倍程度に増大し、侵入する血管数も増大し、皮髄境界が明瞭化した。次にレシピエントラットに HIF-PH阻害薬を投与し、比較検討を行った。その結果、HIF-PH阻害薬投与群の方が腎が大きく、尿管腔も大きい傾向があった。現在さらなる追加の検討を行なっている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病は8人に1人の国民病と認知され、日本における患者数は1330万人にのぼる。現在日本国内に約35万人の透析患者がおり、腎臓再生医療の開発は喫緊の課題である。本研究は腎臓再生医療を開発する上で、移植した幼弱腎をより大きくするために、より良い血管侵入をもたらすために遂行した。その結果、VEGFを使用するとより良い傾向が得られたため、VEGFを誘導する作戦として、近年ヒト臨床に上市されているHIF-PH阻害薬を投与することに着想し、実際に腎臓の一部のサイズや機能を大きくすることに成功した。統計学的有意差を得るために現在追加実験中であるが、腎臓再生医療実現へ一歩を進めることができた。

研究成果の概要（英文）：In our study, kidneys in the developmental stage are transplanted for renal regenerative medicine. In order for the new kidney to function efficiently, recipient blood vessels with sufficient blood flow need to be drawn into the new kidney, but blood flow by the invading vessels has been insufficient so far. In this study, we examined whether vascular endothelial growth factor (VEGF) improves vascular invasion into the new kidney in a rat model. In the VEGF group, the maximum diameter of invading vessels was increased by about 2-fold, the number of invading vessels increased, and the corticomedullary boundary became clearer. Next, HIF-PH inhibitors were administered to the recipient rats for comparison. The results showed that the HIF-PH inhibitor group tended to have larger kidneys and larger tubular lumens. Additional studies are currently underway.

研究分野：腎臓再生医療

キーワード：再生医療 慢性腎不全 異種移植 血管侵入 後腎移植

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々が目指す腎再生医療の骨格となる技術として、胎仔発達過程の腎である“後腎”を移植し新しい腎を発生させる後腎移植と、そこにヒトネフロン前駆細胞を打ち込んで発生継続させ、異種移植を基盤とした再生医療(異種再生医療)である胎生臓器補完法とがあり、腎代替療法に使用可能となるヒト細胞由来の新規発生腎を作成することを最終目標にしている。動物において後腎を成獣レシピエントに移植するとレシピエントから血管を引き込み発達継続していくが、臓器をより大きく育てるための良い血流をもたらす血管侵入の条件検討が必要であった。

### 2. 研究の目的

新規発生腎を効率よく機能させるためには、後腎を移植したのちに、レシピエントの血管が後腎内部に十分に引き込まれる必要があるが、これまでの検討では侵入血管による血流は十分でないことが問題となっていた。そこで本研究ではげっ歯類モデルにおいて、膀胱付き胎仔後腎や単離した胎仔後腎を移植した時の侵入血管の太さと生理機能の検討を行い、最適な後腎移植の条件を確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

はじめに、血管内皮増殖因子(VEGF)により、新規発生腎の足場となる膀胱付き胎仔後腎(クロアカ)への血管侵入が改善するか検証を行った。

・方法(1) E15 妊娠 Lewis ラット胎仔のクロアカを実体顕微鏡下で摘出し、別の Lewis 成獣雄ラットの大動脈近傍の後腹膜腔に移植した。2 週間発達継続させた後に回収し、血管侵入に関して組織学的解析を行った。移植時に VEGF を投与する群(N = 5)と投与しない群(N = 5)に分けた。組織学的解析では、HE 染色及び血管内皮細胞を標的とした CD31 免疫染色を行った。

次に上記実験の検討結果を踏まえて VEGF 投与に変わり、ヒト臨床応用を想定したものとして、近年ヒト臨床で上市されている腎性貧血治療薬である HIF-PH 阻害薬をレシピエント動物に投与することにより、移植した後腎がどのように変化するかを検討した。HIF-PH 阻害薬はその転写先に VEGF 配列が含まれることが知られており、ヒト臨床においても血管新生を促す可能性が考えられている。

・方法(2) E15 Lewis ラット胎仔の後腎を実体顕微鏡下で単離し、Lewis 成獣ラットの大動脈近傍の後腹膜腔に移植し、2 週間後に回収し組織学的解析を行った。2 週間の発達継続中に HIF-PH 阻害薬である roxadustat を投与する群と投与しない群に分けた。組織学的解析では、HE 染色及び血管内皮細胞を標的とした CD31 免疫染色を行った。

### 4. 研究成果

(1) 移植後、2 週間発達継続した新規腎の組織解析において VEGF 群では侵入血管の最大径が 2 倍程度(図 1: 平均血管系比較にて VEGF (-) 群で 288.8 pixel: VEGF (+) 群で 1028.6 pixel、N=5 ずつ)に増大した。侵入する血管の数も増大する印象を得た。また、VEGF 群では新規腎の皮髄境界が明瞭化する傾向が見られた(図 2)。しかしながら、その結果に統計学的有意差はなかった。

5 検体の侵入血管血管最大径比較

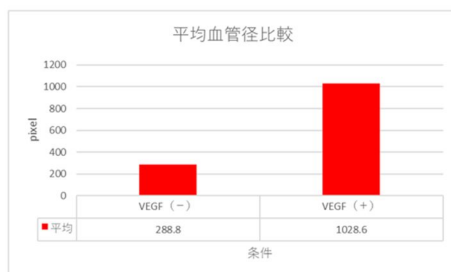


図 1: 平均血管径比較 VEGF 投与群で平均血管径は大きくなった。

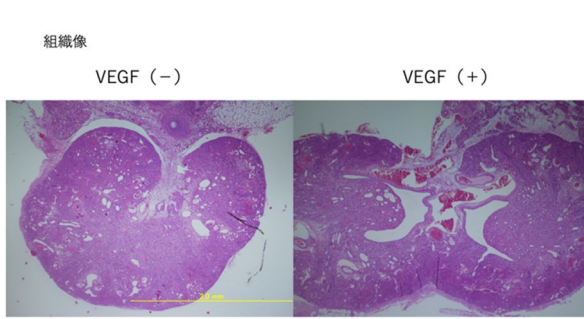


図 2 : VEGF 投与群 (右) にて皮髄境界が明瞭となり、組織の発育が良い印象を得た。

(2) HIF-PH 阻害薬の有用性の評価において、組織解析では HIF-PH 阻害薬投与群の方が腎サイズは腎長径、面積ともに大きく成長する傾向があり、糸球体数も多い傾向があった(図 3)。また、尿細管腔においても HIF-PH 阻害薬投与群の方が大きい傾向があり、尿産生に対して期待が持てる結果であった(プラセボ群 2.95mm<sup>2</sup>: HIF-PH 阻害薬投与群 4.27mm<sup>2</sup>, N=4 ずつ, いずれも 2024 年 5 月末時点)。これらは未だ結論付けられるデータではないため、現在更なる追加検討を行なっている。

Lewisラット間における後腎移植+HIF-PH阻害薬投与の結果

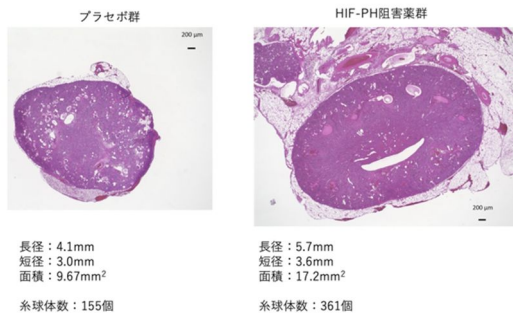


図 3 : 発達継続した腎組織の外観の例を示す。プラセボ群 (左) より HIF PH 阻害薬投与群 (右) の方が大きく、糸球体数も多い傾向が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤瑠惟、松本啓、斉藤弥積、藤本俊成、高村毅、松本直人、高瀬健太郎、田尻進、山中修一郎、横尾隆
2. 発表標題 血管新生能向上を目的としたラット胎仔総排泄腔移植モデルに対するVEGF効果の検討
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	加藤 瑠惟  (Kato Rui)	東京慈恵会医科大学・腎臓・高血圧内科・訪問研究員    (32651)	
研究協力者	向田 凧沙  (Koda Nagisa)	東京慈恵会医科大学・腎臓・高血圧内科・大学院生    (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------