

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：15301
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011 ～ 2012
 課題番号：23700537
 研究課題名（和文） 成体腎臓幹前駆細胞からの腎臓様構造物と胎生腎を使用した発生・再生的機能解析
 研究課題名（英文） The gene expression analysis in kidney-like structure compared to Embryonic kidney and adult kidney.
 研究代表者
 喜多村 真治 (KITAMURA SHINJI)
 岡山大学・岡山大学病院・助教
 研究者番号：70467752

研究成果の概要（和文）：

我々は、成体腎臓から得られた腎臓幹/前駆細胞を使用して三次元培養することにより腎臓の最小構成単位であるネフロン構造を試験管内で作成することに成功したが、遺伝子学的にも胎生腎臓との比較検討をすることにより、再生研究の基礎的な検討を行うものである。成体腎臓幹/前駆細胞から腎臓構造再構築と発生腎である胎生13日腎、胎生17日腎、成体腎との遺伝子発現についてDNAアレイにて解析を行った。遺伝子学的に発生腎とほぼ同じ程度の一致率が見いだされ、顕微鏡レベルの構築のみならず、遺伝子発現などにおいても発生と同様の遺伝子発現と近似していることが確認された。しかし、形態構築過程との相違もあり、更なる検討が必要と考える。

研究成果の概要（英文）：

We have succeeded to reconstitute the renal structure from renal stem/progenitor cells in Vitro. However, it is unknown whether the gene expression in kidney-like structure from renal stem/progenitor cells, in embryonic kidney and in adult kidney is close or not. Here we performed to elucidate the concordance rate between the gene expression in kidney-like structure and the gene expression in embryonic kidney and adult kidney by DNA analysis. The gene expression of kidney-like structure was very close to the embryonic kidney, and was on the time course of kidney development. However, it should be analyze more detail.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：腎臓、再生、臓器構築、遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

我々は以前成体腎臓幹/前駆細胞についての発表を行った (FASEBJ, 2005)。その後、各種腎臓幹細胞様細胞の同様の結果が報告

されてきたが (Gupta S et al. J Am Soc Nephrol. 2006 他)、細胞療法における効果は有意な差こそあれ、決定的な腎不全に対する効果は認められず、現在の腎臓再生研究にお

いて行き詰まっている感がある。

そこで、我々が今回提唱するのは、腎臓再生医療に対する新たなアプローチである腎臓作成メカニズムの解明である。元々幹細胞は臓器を作る元の細胞であるはずであるが、その様な細胞を用いて実質臓器の再生が行われたという報告は今までなく、今回我々は以前作成した腎臓幹/前駆細胞を用いて、腎臓の再構築を行い、その基礎的な解析を行うことにより、腎臓再生機構を解明し、腎臓再生医療への新たな道筋をつくるものである。

2. 研究の目的

本研究は、成体腎臓から得られた腎臓幹/前駆細胞を使用し、三次元培養することにより腎臓の最小構成単位であるネフロン構造を作成することに成功したが、その各部セグメントへの分化について基礎的な解析を行い、胎生腎臓との比較検討をすることにより、発生・再生との相違点を見出し、再生研究の基礎的な検討を行うものである。

3. 研究の方法

成体腎臓幹/前駆細胞 (KS細胞) から腎臓構造再構築を行い、その遺伝子発現と発生腎である胎生13日腎、胎生17日腎、成体腎 (12週齢ラット腎) との遺伝子発現についてDNAアレイにて解析を行った。

4. 研究成果

遺伝子発現は成体腎臓に発現する腎臓関連遺伝子9265遺伝子を基準とし、構築経過において、胎生13日腎では56.9%の一致率、胎生17日腎では60.7%の一致率であるのに対し、腎臓構造体培養3Wでは64.3%の一致率であった。また、NephrinやAQP-1,2など腎機能的遺伝子発現も発生腎と同じく腎臓構造体における遺伝子発現も向上しており、顕微鏡レベルの構築のみならず、遺伝子発現などにおいても発

生と同様の遺伝子発現と近似していることが確認された。

本結果により、発生過程での遺伝子発現と発生過程での遺伝子発現は近似していることが認められた。しかし、個々の遺伝子発現についての検討はまだであり、今後とも詳細な検討が必要と考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① 腹膜透析患者への腹膜機能重症化防止を目指した腹膜再生療法, 喜多村真治, 辻憲二, 堀元直哉, 杉山斉, 槇野博史, the journal of Japanese Society for Dialysis Therapy Vol.46, (2) 163-5, 2013. 査読: 無
- ② Right hypoplastic kidney. Ayu Ogawa, Shinji Kitamura, Kazunori Nakayama, Hitoshi Sugiyama, Naoya Morisada, Kazumoto Iijima and Hirofumi Makino. Kidney Int. 2012 Nov;82(9):1037. 査読: 有
- ③ The frequency of Fabry disease with the E66Q variant in the α -galactosidase A gene in Japanese dialysis patients: a case report and a literature review. Kikumoto Y, Sugiyama H, Morinaga H, Inoue T, Takiue K, Kitagawa M, Saito D, Takatori Y, Kinomura M, Kitamura S, Akagi S, Sada K, Nakao K, Maeshima Y, Kitayama H, Makino H. Clin Nephrol. 2012 Sep;78(3):224-9. 査読: 有
- ④ A case of focal segmental

glomerulosclerosis in an adult patient with hypogammaglobulinemia superimposed on membranoproliferative glomerulonephritis in childhood. Tsuji K, Uchida HA, Ono T, Inoue T, Shinagawa K, Kitamura S, Maeshima Y, Sugiyama H, Makino H. BMC Nephrol. 2012 Jun 24;13(1):46. 査読：有

- ⑤ Suppression of adiponectin by aberrantly glycosylated IgA1 in glomerular mesangial cells in vitro and in vivo. Inoue T, Sugiyama H, Kitagawa M, Takiue K, Morinaga H, Ogawa A, Kikumoto Y, Kitamura S, Maeshima Y, Makino H. PLoS One. 2012;7(3):e33965. Epub 2012 Mar 23. 査読：有
- ⑥ Acatlasemic mice are mildly susceptible to adriamycin nephropathy and exhibit increased albuminuria and glomerulosclerosis. Takiue K, Sugiyama H, Inoue T, Morinaga H, Kikumoto Y, Kitagawa M, Kitamura S, Maeshima Y, Wang DH, Masuoka N, Ogino K, Makino H. BMC Nephrol. 2012 Mar 25;13(1):14. 査読：有

[学会発表] (計 8 件)

- ① 喜多村真治、成体腎臓幹/前駆細胞からの腎臓構造再構築とその解析、日本動物実験代替法学会、平成 24 年 12 月 8、9 日、慶應義塾大学薬学部 芝共立キャンパス
- ② 喜多村真治、腎臓幹/前駆細胞からの In Vitro における三次元的な腎臓構造再構

築 第三回分子腎フォーラム 優秀賞
平成 24 年 9 月 1 日、東京

- ③ 喜多村真治 ; a cluster of adult kidney stem/progenitor cells reconstitute 3-dimensional nephron structures *in vitro*. 第 11 回 日本再生医療学会学術集会 若手研究者受賞者講演 (YIA) 平成 24 年 6 月 12 日火曜日 横浜、パシフィコ横浜
- ④ 喜多村真治、成体腎臓幹/前駆細胞を使用した腎臓再構築の機能解析：尿細管機能を中心に、日本再生医療学会学術集会 平成 24 年 6 月 12 日 横浜、パシフィコ横浜
- ⑤ 喜多村真治、辻憲二、榎野博史、成体腎臓幹/前駆細胞を使用した腎臓再構築の機能解析：尿細管機能を中心に、第 55 回日本腎臓学会学術総会 平成 24 年 6 月 1-3 日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑥ 堀元直哉、喜多村真治、辻憲二、榎野博史、免疫抑制剤による腎臓の発生・再生過程に及ぼす検討 第 54 回日本腎臓学会学術総会 平成 23 年 6 月 16 日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑦ 喜多村真治 ; 包括的な腎臓領域再生治療~臨床応用に向けて 日本医工学治療学会学術集会 平成 23 年 4 月 23 日、岡山コンベンションセンター、岡山市
- ⑧ 喜多村真治、杉山斉、榎野博史 ; 腹膜透析を含めた腹膜再生療法の開発 日本医工学治療学会 平成 23 年 4 月 23 日、岡山コンベンションセンター、岡

山市

〔図書〕（計2件）

- ① 大橋俊孝、喜多村真治、日本臨床社、先天代謝異常症候群（第2版）下-病因・病態研究、診断・治療の進歩-XIV 結合組織異常 アルポート症候群、別冊先天代謝異常症候群（下） 2012年12月、page700-704.
- ② 喜多村真治、技術情報協会誌、先端医療に関する医療ニーズ／製品開発戦略と臨床で使わなくなる（であろう）薬剤・製品 予測、分担：腎臓領域における再生医療実用化の手ごたえと使わなくなるであろう薬剤・機器・治療法、2012年5月

〔その他〕

学外講義

- ①腎臓の機能評価の基礎及び臨床
喜多村 真治
日本たばこ産業株式会社
医薬総合研究所 安全性研究所
秦野、神奈川県、平成24年11月21日
- ②腎疾患再生医療の方向性
喜多村真治
鳥取大学染色工学センター、平成23年4月15日

6. 研究組織

(1)研究代表者

喜多村 真治 (KITAMURA SHINJI)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：70467752

(2)研究分担者

(3)連携研究者