

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11192

研究課題名（和文）腎不全進行克服に向けた腎臓における組織幹細胞階層構造解析

研究課題名（英文）Tissue stem cell hierarchical structure analysis in the kidney for overcoming the progression of renal failure

研究代表者

駒井 資弘（KOMAI, Yoshihiro）

関西医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：70368231

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：報告者らは腎臓における組織幹細胞を同定するために、種々の臓器で組織幹細胞と報告されているBmi1陽性細胞を解析した。細胞系譜追跡法と免疫組織学検査を用いた実験では、Bmi1陽性細胞は腎臓内で増殖と分化を行っていた。さらに、抗がん剤による腎障害時にはBmi1陽性細胞は速やかに腎臓内で細胞を供給していた。従って、Bmi1陽性細胞は腎臓における組織幹細胞に関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

透析患者増加は医療経済面からも大きな問題となっている。腎不全進行を遅らせることが重要課題であるが、腎臓再生研究に関しては、腎臓組織幹細胞を含め、未だ不明な点が多い。報告者らはレインボーマウスによる多色細胞系譜追跡法を用いて、Bmi1陽性細胞が腎臓組織幹細胞に関与していることを明らかにした。本研究により、慢性腎臓病の新しい治療法開発に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To identify tissue stem cells in the kidney, we analyzed Bmi1-positive cells reported as tissue stem cells in various organs. In experiments using lineage tracing study and immunohistochemistry, Bmi1-positive cells proliferated and differentiated in the kidney. Furthermore, Bmi1-positive cells rapidly supplied cells in the kidney during renal damage caused by anticancer drugs. Therefore, Bmi1-positive cells were considered to be involved in tissue stem cells in the kidney.

研究分野：組織幹細胞

キーワード：組織幹細胞 腎臓 Bmi1

1. 研究開始当初の背景

腎臓は生体内の恒常性を維持する上で重要な臓器である。現在、日本では1300万人以上の慢性腎臓病患者が存在すると推定されており、30万人以上の慢性腎不全患者が透析治療を受けている。腎移植は根治的な治療法として有用であるが、ドナー不足が非常に大きな問題となっている。また、医療経済面からも、透析患者増加は大きな問題となっており、腎不全の進行を遅らせることは腎疾患治療の重要な課題の一つである。

これを解決する方法として、腎臓再生医療の開発に期待が寄せられている。ヒト骨髄由来間葉系幹細胞やヒト iPS 細胞を使用した腎臓再生に関する報告がされている。しかし、腎臓はその解剖学的な複雑さから最も再生が難しいとされており、新たに腎臓を作製する de novo 腎臓再生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。従って、腎臓尿細管形成機序に関する研究に基づき、腎臓組織幹細胞を同定し、増殖・分化のメカニズムを解明することが腎臓再生医療の発展において重要である。

以前、S 期 (DNA 合成期) の細胞をラベルする BrdU ラベリング法で長期間 BrdU を保持し続ける細胞 (slow cycling cell) が腎臓、とくに尿細管内に存在し、この細胞が腎障害時に増殖細胞を供給し、再生に関与する腎臓組織幹細胞的な役割を果たすと報告され (A. Maeshima et al., J Am Soc Nephrol 2003)、近位尿細管 S3 セグメントに同様な細胞が存在すると報告された (S. Kitamura et al., FASEB J 2005)。しかし、腎臓組織幹細胞の有力なマーカーに関しては、未だ不明である。

2. 研究の目的

透析患者増加は医療経済面からも大きな問題となっている。腎不全進行を遅らせることが重要課題であるが、腎臓再生研究に関しては、腎臓組織幹細胞を含め、未だ不明な点が多い。

報告者らは研究分担者の上野らが開発したレインボーマウスによる多色細胞系譜追跡法を用いて、種々の臓器における組織幹細胞に発現している Bmi1 遺伝子が精子形成幹細胞や舌上皮幹細胞に発現していることを世界で初めて明らかにした。そこで、Bmi1 が腎臓組織幹細胞にも発現しているのではという着想に至った。本研究では、Bmi1 が腎臓に発現しているか解析し、腎臓組織幹細胞として機能しているか検討する。さらに、腎臓組織幹細胞の増殖・分化のメカニズムを明らかにする。これにより、慢性腎臓病の新しい治療法開発に貢献する。

3. 研究の方法

腎臓組織幹細胞の解明は慢性腎臓病の新しい治療法開発に繋がる。報告者らは種々の臓器における組織幹細胞に発現している Bmi1 遺伝子が精子形成幹細胞や舌上皮幹細胞に発現していることを明らかにした。そこで、研究分担者の上野らが開発したレインボーマウスを使用した多色細胞系譜追跡法を用いて Bmi1 が腎臓に発現しているか解析し、腎臓組織幹細胞として機能しているか解明するため、下記項目について研究を実施した。

- A. 定常状態における Bmi1 遺伝子と腎臓組織幹細胞の関係解明 (多色細胞系譜追跡法)
- B. Bmi1 陽性細胞の存在部位の同定
- C. 腎障害後の再生における Bmi1 陽性細胞の機能解析

4. 研究成果

定常状態における Bmi1 遺伝子と腎臓組織幹細胞の関係解明を多色細胞系譜追跡法で行った。具体的には、Bmi1CreER ノックインマウスとレインボーマウスを交配し、Bmi1creER/+ / Rosa26rbw/+ マウス (タモキシフェンを投与すると全身緑色の細胞から Bmi1 陽性細胞だけが、青色、オレンジ色、赤色にランダムに変わる) を作製し、このマウスにおいて多色細胞系譜追跡法を用いて、マウス腎臓組織内の Bmi1 陽性細胞の増殖・分化の過程を観察することである。報告者らの所属機関ですでに継代維持している上記マウスを使用する予定であったが、Bmi1CreER ノックインマウスが継代中止となり、再度、Jackson Laboratory から購入することとなった。そのため交配が遅れてしまったが、平成 30 年 3 月から交配を開始し、Bmi1creER/+ / Rosa26rbw/+ マウスにおいて多色細胞系譜追跡法を行い、腎臓における Bmi1 陽性細胞の短期、中期、長期ラベル細胞の確認を行ったところ、長期間経過後も Bmi1 陽性細胞から腎臓内に細胞が供給されていた。また Bmi1 陽性細胞の存在部位の同定を行った。具体的には、Bmi1creER/+ / Rosa26rbw/+ マウスにおける多色細胞系譜追跡法を用いて、タモキシフェン投与 2 日後のマウス腎臓組織内の initial ラベル Bmi1 陽性細胞と既知の腎臓組織マーカーを免疫組織学検査を用いて観察することである。その結果、Bmi1 陽性細胞は主に近位尿細管に存在していた。さらに腎障害後の再生における Bmi1 陽性細胞の機能解析を行った。具体的には、シスプラチンを投与し腎障害を発生させ、Bmi1creER/+ / Rosa26rbw/+ マウスにおい

て多色細胞系譜追跡法を用いて Bmi1 陽性細胞の増殖・分化の状態を定常状態と比較することである。腎障害後、定常状態よりも速やかに Bmi1 陽性細胞から細胞供給が行われた。マウス交配に問題が生じたために実験が遅れたため、現在解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	松田 公志 (MATSUDA Tadashi) (20192338)	関西医科大学・医学部・教授 (34417)	
研究分担者	上野 博夫 (UENO Hiroo) (60332368)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・客員 研究員 (84404)	

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