

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08699

研究課題名(和文) 疾患特異的iPS細胞を用いた急性腎障害に対する腎修復機序の解明

研究課題名(英文) Research for kidney repair mechanisms in acute kidney injury using disease specific iPS cells

研究代表者

古市 賢吾 (FURUICHI, Kengo)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：50432125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、急性腎障害の慢性障害への移行を阻止することを目標に、修復機序の解明を目指した研究である。腎発生に重要なPax2遺伝子に異常を持つ腎コロボーマ症候群症例から、疾患特異的iPS細胞を作成し、腎系譜細胞へ誘導した。得られたサンプルからCAGE法およびChip-Seq解析を進め、修復に関わると考えられる候補分子を同定した。これらのデータとマウス胎仔腎のオープンデータベースから17遺伝子(28プロモータ領域の活性)を確認した。また、マウス虚血再灌流モデルなどのサンプルを用いて、最終的に、PBX1, POSTN, ITGA9の3遺伝子をPAX2関連の再生・修復に関する因子として同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎再生や修復機序の解明は、これまでも試みられてきたが、腎発生との関連の研究は限られていた。今回、非常に稀な遺伝性疾患であるPax2遺伝子変異を伴った腎コロボーマ症候群症例の疾患特異的iPS細胞を腎系譜細胞へ分化させ、その関連分子を同定できたことは、本分野における重要なマイルストーンと考える(Sci Rep. 2021; 11:9123.)。今回同定された腎再生・修復に関わると考えられる候補分子には、これまで腎障害や修復への関与は報告されていないものも含まれている。直接的な修復に果たす意義は更なる解析が必要だが、バイオマーカーや治療薬開発に向けた重要な足がかりになる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study aims to elucidate the repair mechanism. And the goal of this study is preventing the transition of acute kidney injury to chronic kidney disease.

Disease-specific iPS cells were created from renal coloboma syndrome cases with Pax2 gene mutation that play an important role in kidney development. The cells were induced into kidney lineage cells. From the cells, we evaluate gene expression with the CAGE method and Chip-Seq analysis, and identified candidate molecules that are considered to be involved in kidney repair after the injury. The candidate genes (17 genes with 28 promoter regions) were confirmed from the open database of mouse fetal kidney. Using samples such as the mouse ischemia-reperfusion model in kidney, the three genes (PBX1, POSTN, and ITGA9) were finally identified as kidney repair factors regulated by PAX2 gene.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：急性腎障害 疾患特異的iPS細胞 腎修復 CAGE解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究課題は、疾患特異的 iPS 細胞を用いた急性腎障害に対する修復機序解明であった。近年、急性腎障害(acute kidney injury; AKI)が、慢性腎臓病の原因としても重要であることが示されてきていた。その理由は、主に以下の3点にあった。

- 急性腎障害は、軽微な障害も含めた概念であり、臨床的に見過ごされている症例も含めて、その症例数は膨大である。
- 急性腎障害は、障害の原因が解除されると修復に向かうが、その修復は完全ではない。
- 急性腎障害後の不完全な修復の蓄積により、慢性腎臓病に移行する。

しかしながら、AKIの根本的な治療法は無かった。さらに、AKIは病態が経時的に刻々と変化するにもかかわらず、その病態を的確に把握する指標が無いことも、医学的な大きな問題であった。我々は、これまでにAKIの病態解明に向けて、臨床および基礎の両面から検討を重ね、多くの成果を報告していた。それらを背景に、独自性の高い新たな本課題を提案した。

### 2. 研究の目的

これまで、我々は挑戦的萌芽研究により、腎コロボーマ症候群症例より作成したヒト疾患特異的 iPS 細胞を用いて、腎系譜細胞への分化誘導を行ってきた。本研究課題は、これまでの研究成果を背景に、転写因子である PAX2 が、いかに機能蛋白発現を調整し、急性腎障害後の修復に関与するかを解明する事を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究課題の目的を解決するために、以下に示す、3つの学術的独自性と創造性を最大限に生かした研究計画を立てた。

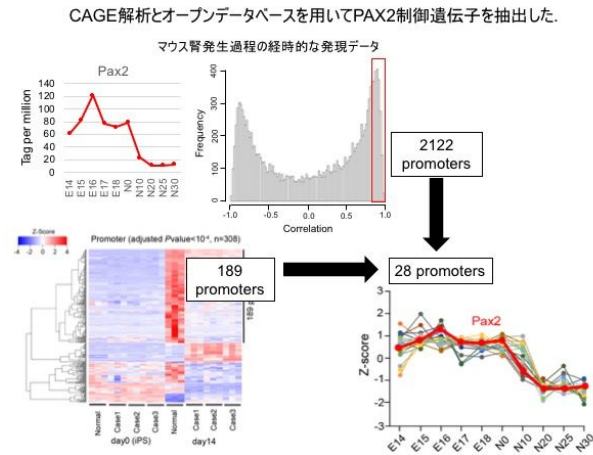
本研究計画の根底には、“修復は発生を模倣する”という考え方が流れている。この考えのもと、AKIモデルマウスの検討とともに、疾患特異的 iPS 細胞による腎系譜細胞誘導、胎仔マウスデータおよび腎虚血再還流モデルによる解析を行う計画とした。また、その解析に、転写部位活性化評価法の一つである CAGE (Cap Analysis of Gene Expression) 法および Chip-Seq による解析という網羅的および効率的で最新かつ本解析に最適な手法を用いる計画とした。

### 4. 研究成果

- (1) 腎発生に重要な役割を果たす Pax2 遺伝子異常を持つ腎コロボーマ症候群症例から、疾患由来 iPS 細胞を得た。健常者・疾患由来 iPS 細胞は、いずれも iPS 細胞の特徴である多能性幹細胞としての性質を有していた。いずれの iPS 細胞も、ネフロン前駆細胞や尿細管・糸球体類似の組織へと分化誘導することが可能であった。

- (2) 腎コロボーマ症候群症例由来 iPS 細胞および健常者由来 iPS 細胞からネフロン前駆細胞に誘導して得られたサンプルから CAGE 法および Chip-Seq 解析の解析を進め、修復に関わると考えられる候補分子を同定した。

- (3) ネフロン前駆細胞の検討から得られた候補分子およびマウス胎仔腎のオープンデータベースから得られた候補分子から、17 遺伝子(28 プロモーター領域の活性)を確認した。



- (4) マウス虚血再還流モデルを用いて、腎修復にかかる分子の検証を行った。最終的に、PBX1、POSTN、ITGA9 の 3 遺伝子を PAX2 関連の再生・修復に関する因子として同定した。

以上のように、疾患特異的 iPS 細胞による腎系譜細胞誘導、胎仔マウスデータおよび腎虚血再還流モデルによる解析により腎臓への分化誘導過程における遺伝子発現解析を実施した。腎発生・修復において転写因子 PAX2 に制御されると推測される複数の候補遺伝子が同定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamamura Y, Furuichi K, Murakawa Y, Hirabayashi S, Yoshihara M, Sako K, Kitajima S, Toyama T, Iwata Y, Sakai N, Hosomichi K, Murphy PM, Tajima A, Okita K, Osafune K, Kaneko S, Wada T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of candidate PAX2-regulated genes implicated in human kidney development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 9123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-88743-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sako K, Furuichi K, Makiishi S, Yamamura Y, Okumura T, Le HT, Kitajima S, Toyama T, Hara A, Iwata Y, Sakai N, Shimizu M, Niimura F, Matsusaka T, Kaneko S, Wada T.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Cyclin-dependent kinase 4-related tubular epithelial cell proliferation is regulated by Paired box gene 2 in kidney ischemia-reperfusion injury.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney Int.	6. 最初と最後の頁 Online ahead
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2022.03.022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 迫 恵輔, Thu Le, 牧石 祥平, 山村 雄太, 奥村 利矢, 岩田 恭宜, 坂井 宣彦, 清水 美保, 古市 賢吾, 和田 隆志
2. 発表標題 Pax2の再活性化はCDK4を介して尿細管再生に關与する
3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山村 雄太, 奥村 利矢, 坂井 宣彦, 古市 賢吾, 和田 隆志
2. 発表標題 腎コロボーマ症候群の遺伝子解析と新規原因遺伝子の同定(
3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古市賢吾、横山仁、和田隆志
2. 発表標題 稀少遺伝性疾患からの腎病態解析； 腎コロボーマ症候群を通して
3. 学会等名 東部腎臓学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古市賢吾、和田隆志
2. 発表標題 急性腎障害における線維化，リモデリング機序と 新規治療の可能性
3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019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 分担 者	和田 隆志  (WADA Takashi)  (40334784)	金沢大学・医学系・教授   (13301)	

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
---------	---------