

## ▶第5回日本再生医療学会

### 脱分化脂肪細胞による腎再生医療の可能性示す

日本大学大学院総合科学研究科生命科学/内科学講座腎臓内分泌部門の福田昇・助教授らは、成熟脂肪細胞を脱分化させることにより多分化能を有する脱分化脂肪細胞(DFAT)を用いて、進行性腎障害の再生医療への応用を試みている。岡山市で開かれた第5回日本再生医療学会(会長＝岡山大学大学院消化器・腫瘍外科学・田中紀章教授)で、DFATから尿細管上皮細胞へ分化誘導しうることを同部門の山元智衣氏が報告。さらに糸球体硬化を認める慢性腎不全モデルを確立し、DFAT移植により糸球体硬化および腎機能が改善したことを福田助教授が発表した。

#### 尿細管上皮細胞の管腔形成が促進

腎臓発生過程では後腎の間葉細胞が上皮化する現象(Mesenchymal to Epithelial Transition; MET)が重要であり、その現象にはWnt-4, bone morphogenetic protein (BMP)-7などが関与することが明らかになっている。山元氏は、DFATの尿細管上皮細胞への分化転換能を検討するため、マウスDFATをWnt-4遺伝子導入、rhBMP-7刺激、Wnt-4遺伝子導入+BMP-7刺激の各条件下で培養し、無刺激をコントロールとして上皮細胞マーカーであるE-Cadherin, 尿細管マーカーであるAquaporin (AQP)-2, 間葉系細胞マーカーであるVimentinの各mRNA発現を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)法で比較検討した。

その結果、E-Cadherin mRNA発現量はWnt-4遺伝子導入+BMP-7刺激の条件下で経時的に増加し、METが誘導された可能性が示唆された。AQP-2 mRNA発現量はBMP-7刺激に

より経時的に増加した。一方、Vimentin mRNA発現量はいずれの条件下でも明らかな変化はなかった。

そこで、コラーゲンゲル3次元培養下において肝細胞増殖因子(HGF)により管腔を形成することが知られている尿細管上皮細胞株MDCK細胞を用い、type1コラーゲンゲル内でGreen fluorescent protein(GFP)マウス由来DFATとともに3次元培養し、形態学的変化を比較検討した。その結果、MDCK細胞はHGF非存在下でもDFATとの共培養により管腔を形成することが認められた。また、一部のDFATはMDCK細胞の管腔構造に取り込まれ、DFATが一部尿細管上皮細胞へ分化している可能性が認められた。

以上から、同氏は「DFATから尿細管上皮細胞を分化誘導できる可能性がある」とし、「DFATは少量の脂肪組織から多分化能を持った均一の細胞を大量に調製することができるため、高齢者などこれまで細胞移植療法の適応とならなかった症例に対する再生医療用ドナー細胞として期待できる」と述べた。

#### 慢性腎不全モデルへの移植で糸球体硬化、腎機能が改善

福田助教授らは、ハブ毒がメサンギウム融解性腎炎を引き起こすことから、メサンギウム基質であるTenascin-Cノックアウト(KO)マウスにハブ毒を投与し、糸球体硬化を示す慢性腎不全モデルを確立した。

DFAT細胞移植の効果を検討するため、GRS/AマウスのTenascin-C KOマウスにハブ毒を尾静脈から投与後、GFP-DFATを尾静脈から移植し、野生型マウスおよびTenascin-C

KOマウスにそれぞれハブ毒を投与してコントロールとし、糸球体の組織変化、血中尿素窒素(BUN)の変化、Nephrosclerosis score, RT-PCR法による腎皮質でのTenascin-C mRNA, TGF- $\beta_1$  mRNA発現を比較検討し、またGFP免疫染色により腎糸球体へのDFAT取り込みを観察した。

その結果、野生型マウスではハブ毒投与後1日目でメサンギウム融解、7, 14日目に糸球体硬化を示したものの21日目には自己修復し、血中BUNの上昇も一過性であった。Tenascin-C KOマウスではハブ毒により持続性の糸球体硬化を示し、

TGF- $\beta_1$  mRNA発現が上昇、BUNも持続的に上昇した。一方、DFAT移植マウスでは、糸球体硬化の軽減が認められた。血中BUNおよびNephrosclerosis scoreはハブ毒投与Tenascin-C KOマウスに比べ有意に低下、腎皮質でのTenascin-C mRNA発現が有意に上昇、TGF- $\beta_1$  mRNA発現は有意に低下した。また、DFATの糸球体への取り込みも認められた。

以上から、同助教授は「糸球体硬化を認めた慢性腎不全モデルにおいてDFAT移植により糸球体硬化および腎機能の改善が認められ、今後DFAT移植の腎再生医療への可能性が期待される」と述べた。