

## 腎集合管オルガノイドを用いた多発性嚢胞腎モデルの作製 iPS 創薬により治療薬候補を発見、治験開始へ

### ポイント

- iPS 細胞から作製した腎集合管<sup>注1</sup>オルガノイド<sup>注2</sup>を使って、多発性嚢胞腎モデルの作製に成功した
- 疾患モデルを活用して多発性嚢胞腎の治療薬候補を見出した
- 京大発スタートアップ企業のリジェネフロ社が近く治験を開始する

### 1. 要旨

前伸一特定拠点講師(CiRA 増殖分化機構研究部門)および長船健二教授(CiRA 同部門)らの研究グループは、iPS 細胞から集合管を作製し、難病である多発性嚢胞腎の病態モデルを作製することに成功しました。また、このモデルを活用して、治療薬候補の物質を見出しました。

多発性嚢胞腎は、腎臓に水が溜まった袋(嚢胞)が多数形成され、腎臓の機能が低下してしまう難病です。中でも、常染色体顕性(優性)多発性嚢胞腎(ADPKD)<sup>注3</sup>では、主に集合管から嚢胞ができます。しかし、ヒト細胞を用いて、この症状を再現したモデルはありませんでした。これまでの報告では、ヒト iPS 細胞から作製した尿管芽細胞モデルが作製されていましたが、ADPKD の治療薬候補は見つかっていませんでした。本研究では、集合管を形成する前駆体である尿管芽<sup>注4</sup>を利用しました。ヒト iPS 細胞から作製した尿管芽細胞の拡大培養を行い、集合管オルガノイドの発生段階を進めることに成功しました。ゲノム編集により PKD1 遺伝子を働かない状態にしたヒト iPS 細胞を作製し、その iPS 細胞由来の集合管オルガノイドがすべて自発的に多数の嚢胞を形成することを示し、嚢胞形成の開始メカニズムを明らかにしました。さらに、嚢胞形成を有意に抑制する薬剤の候補として、レチノイン酸受容体(RAR)作動薬を同定することに成功し、その治療効果を ADPKD マウスモデルで確認しました。今回開発した、集合管嚢胞モデルは、ADPKD の疾患メカニズムの解明と創薬に貢献すると期待できます。

この研究成果は 2023 年 12 月 1 日(日本時間)に「Cell Reports」で公開されます。

### 2. 研究の背景

ADPKD は、腎臓内に多数の嚢胞を形成する進行性の難病で、人工透析や腎移植を必要とする末期腎不全に至ります。1,000-4,000 人に 1 人が罹患し、世界の腎不全の 5~10%を占めています。ADPKD 患者さんの腎嚢胞は、糸球体や尿管上皮より発生することありますが、主に集合管から発生します。集合管で特異的に発現するアルギニン・バソプレシン受容体 2(AVPR2)の拮抗阻害剤であるトルバプタンは、ADPKD の治療薬として唯一承認されていますが、疾患の進行を止めることはできません。

これまでの研究で、ADPKD 患者さん由来の iPS 細胞から作製した腎尿管囊胞モデルがいくつか報告されています。これらのモデルを用いて囊胞形成を抑制する候補化合物が同定されたものの、ADPKD 動物モデルに対する治療効果は示されていません。ヒト iPS 細胞から集合管オルガノイドを作製した報告もありますが、AVPR2 など ADPKD の集合管囊胞形成に関与する分子を発現する発生段階に達していませんでした。さらに、集合管オルガノイドを用いて ADPKD の囊胞形成やトルバプタンの治療効果を再現した報告はありませんでした。

腎集合管の発生過程において、前駆組織である尿管芽(UB)は分枝を繰り返し、先端と幹という2つの異なるドメインを含む樹木状の構造を形成します。この過程で、先端が新たな先端と幹を生み出すことから、先端にある細胞が幹細胞として機能していることが示されています。これまでに研究グループは、ヒト iPS 細胞を効率的に尿管芽オルガノイド(UBO)に分化させ、UBO を再構成することができる能力を持った UB 先端細胞(UBTC)コロニーを作製することに成功しています(CiRA ニュース 2020 年 7 月 29 日)。

本研究では ADPKD の原因遺伝子である PKD1 をゲノム編集により変異体(PKD1<sup>-/-</sup>)にした iPS 細胞から集合管オルガノイドを作製し、ADPKD における集合管で囊胞が形成されるモデルを構築しました。

### 3. 研究結果

#### 1. 集合管オルガノイドを利用した ADPKD モデルの作製

Pkd1<sup>-/-</sup>変異を持つマウス胚は、UB の後期分枝期から集合管囊胞を形成することが報告されています。ヒトでも同様であれば PKD1<sup>-/-</sup>を持つ UBTC から対応する発生段階で集合管へと誘導することで、集合管囊胞を再現できると考えられます。以前の研究で作製していた、健常人由来ヒト iPS 細胞を、ゲノム編集により PKD1<sup>-/-</sup>とした iPS 細胞を用いて、集合管オルガノイドにおける囊胞の形成を調べました。すると、6 週間以上拡大培養後に集合管へと誘導すると、囊胞が自然に発生しました(Fig. 1)。

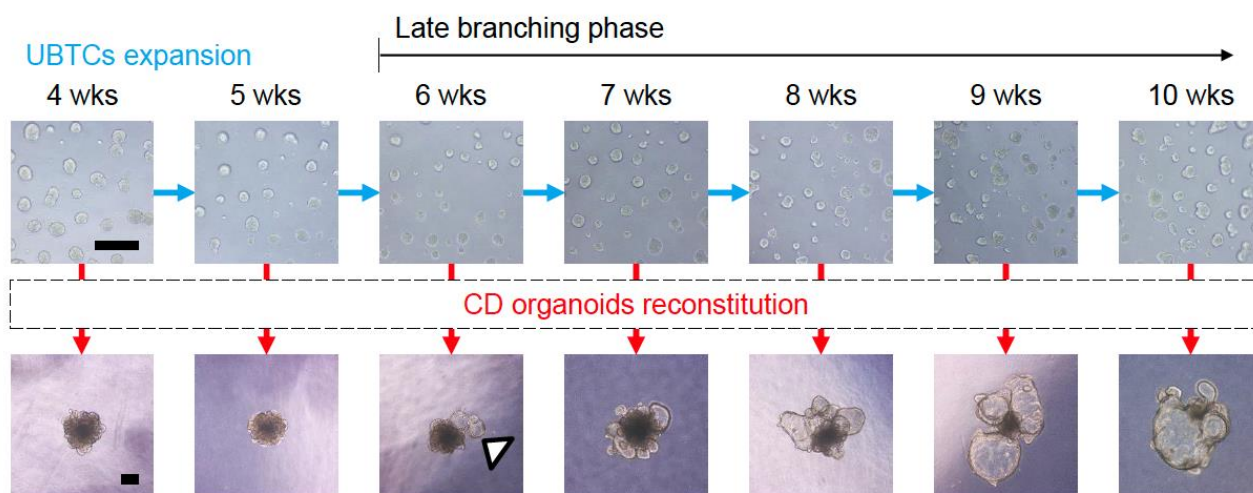


Fig. 1 拡大培養した UTBC と各培養期間から誘導した集合管オルガノイドの顕微鏡観察像

この集合管オルガノイドに、現在 ADPKD の治療薬として使われているトルバプタンを作用させると、囊胞のサイズは小さくなりました。

また、こうした集合管オルガノイドを活用した ADPKD モデルを使って、一度に 96 種の薬剤の効果を測定することができるスクリーニング系を確立しました。

## 2. RAR 作動薬は嚢胞増大を抑制する (*in vitro*)

確立したスクリーニング系を用いて、AVP により拡大した嚢胞のサイズを、強力な RAR 作動薬である TTNPB や、オールトランス型レチノイン酸 (ATRA) での処理が抑制することがわかりました (Fig. 2)。嚢胞抑制は RAR シグナルを介していることが示唆されました。

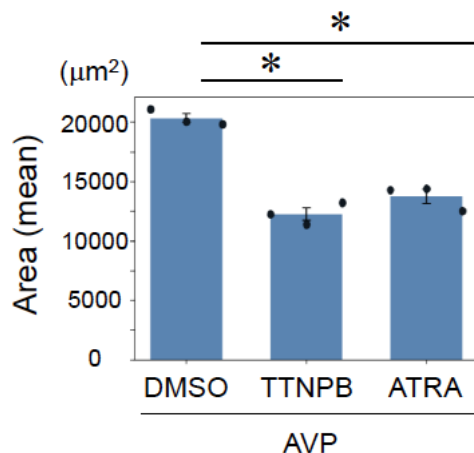


Fig. 2 嚢胞サイズの比較

## 3. ATRA は ADPKD の進行を抑制する (*in vivo*)

ATRA はすでに急性前骨髄球性白血病 (APL) 患者の治療薬として使用されています。ADPKD モデルマウスにおいて ATRA が有効かどうかを検討しました。ADPKD モデルマウスは重篤な腎嚢胞を発症し、それに伴う腎不全により生後 14 日程度で死亡します。生後 3 日目のマウスに 5 または 10 mg/kg の ATRA を腹腔内注射し、生後 9 日目に解析を行いました。ATRA 投与による体重減少は観察されませんでした。体重に対する腎臓の重さの割合 (2KW/BW) は、ATRA 投与群で対照群と比較して有意に減少しました (Fig. 3)。

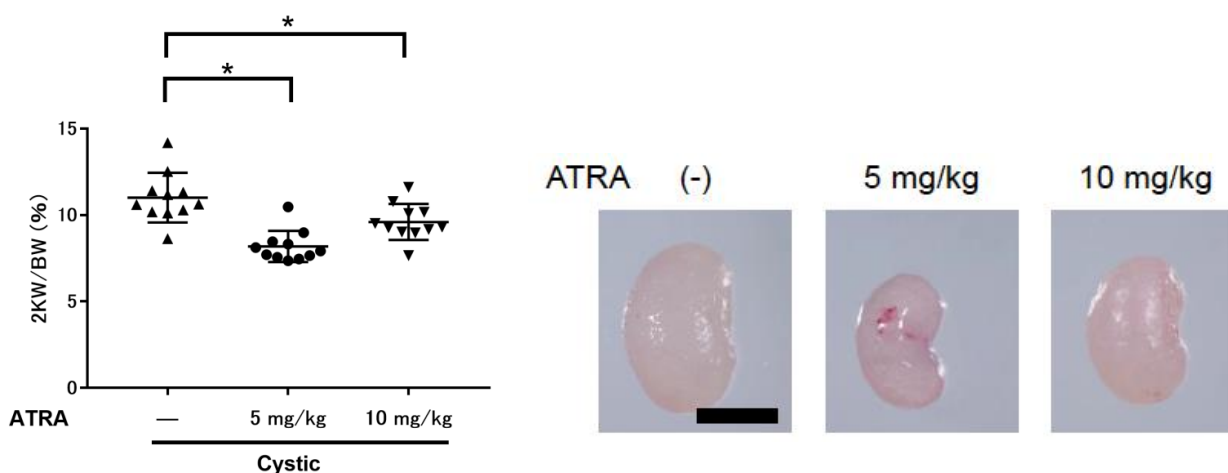


Fig. 3 腎臓のサイズと全体重に締める割合

また、腎臓の断面を観察すると、10 mg/kg の ATRA 処理群は対照群と比べて一部嚢胞の形成が抑制されていました (Fig. 4)。

さらに、マウスの血液検査において、10 mg/kg の ATRA 処理群は対照群と比べて腎機能の指標である血中尿素窒素値 (BUN) の上昇が有意に抑制されていました。

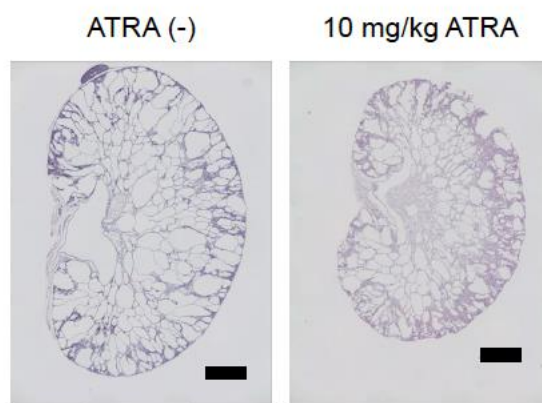


Fig. 4 腎臓の矢状断面図

以上の結果から、ATRA 投与が *in vitro* および *in vivo* ADPKD モデルの両方において嚢胞形成と腎機能増悪を抑制する治療効果を発揮することが示唆されました。

#### 4. まとめと展望

今回の研究により、ヒト iPS 細胞から作製した腎集合管オルガノイドを用いて ADPKD のモデルを作製することに成功しました。このモデルを用いて、ADPKD の治療薬候補として、RAR 作動薬を見出しました。実際に RAR 作動薬のなかでも、白血病治療で用いられている ATRA を用いて、マウスの ADPKD モデルで嚢胞形成と腎機能増悪を抑制する効果が確認されました。

今後、今回見出した薬剤候補を用いて、リジェネフロ社が近く治験を開始する見込みです。

#### 5. 論文名と著者

##### ○ 論文名

“Human iPSC-derived renal collecting duct organoids model cystogenesis in ADPKD”

##### ○ ジャーナル名

Cell Reports

##### ○ 著者

Shin-Ichi Mae<sup>1</sup>, Fumihiko Hattanda<sup>2</sup>, Hiroyoshi Morita<sup>1</sup>, Aya Nozaki<sup>1</sup>, Naoko Katagiri<sup>1</sup>, Hanako Ogawa<sup>3</sup>, Kaori Teranaka<sup>3</sup>, Yu Nishimura<sup>3</sup>, Aoi Kudoh<sup>4</sup>, Sanae Yamanaka<sup>5</sup>, Kyoko Matsuse<sup>1</sup>, Makoto Ryosaka<sup>1</sup>, Akira Watanabe<sup>3,4</sup>, Tomoyoshi Soga<sup>5</sup>, Saori Nishio<sup>2</sup> & Kenji Osafune<sup>1\*</sup>

\*責任著者

##### ○ 著者の所属機関

1. 京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA)
2. 北海道大学医学部・大学院医学研究科
3. 株式会社 CyberomiX
4. 京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター
5. 慶應義塾大学先端生命科学研究所

---

---

## 6. 本研究への支援

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。

- 大塚製薬株式会社
- 日本学術振興会 科研費 基盤研究 C (19K08703)
- 国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST) CREST(JPMJCR2123)
- 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構(AMED) (JP23bm0704072、JP22bm0104001、JP22bm0804013、JP23bm1123002)
- ムーンショット型研究開発制度
- iPS 細胞研究基金

## 7. 用語説明

### 注1) 集合管

ネフロンは腎臓の中で、集合管と呼ばれる構造と連結している。集合管では尿細管から流れてきた尿から水分の再吸収が行われ、その後、尿が尿管から膀胱へと排泄される。ネフロンは後腎ネフロン前駆細胞(NP)から分化し、集合管、尿管および、膀胱の一部は尿管芽(UB)から分化する。

### 注2) オルガノイド

3次元的に試験管内で作られた小さな臓器のこと。

### 注3) 常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)

両側の腎臓に多数の嚢胞が次第に発生・増大して、徐々に腎機能障害が進行する最も頻度の高い遺伝性嚢胞性腎疾患。腎臓以外にも、肝臓や膵臓などに嚢胞が生じることもある。全身の血管にも異常があり、高血圧、脳動脈瘤、心臓の弁異常を伴う頻度が高いことが分かっている。近年、トルバプタンという薬が嚢胞の増大を抑制することが注目されているが、根治的な治療法は現在のところない。

### 注4) 尿管芽

胎生期の腎臓前駆組織の一つで、生体内では多数の枝分かれを繰り返して成熟し、将来尿の排泄路である集合管、下部尿路系などに分化する。