

オルガノイド由来細胞を用いた腎近位尿細管モデルチップを開発

～ヒト iPS 細胞を用いた高機能 Microphysiological systems (MPS)～

概要

京都大学大学院工学研究科 横川隆司 教授、Ramin Banan Sadeghian 特定准教授らの研究グループは、理化学研究所生命機能科学研究センター 高里実チームリーダー、京都大学 iPS 細胞研究所荒岡利和特命助教らと共同で、ヒト iPS 細胞から作製した腎オルガノイド由来の細胞を用いて、腎近位尿細管における糖の再吸収機構や薬剤の排泄機構を再現し、それらの阻害剤の評価を *in vitro* で検証可能な生体模倣システム (Microphysiological systems (MPS)) を開発しました。

腎近位尿細管は、血液をろ過した原尿から生体に必要な成分を再吸収し、不要なものを遠位尿細管や集合管へ導くことで、生体恒常性の維持に重要な役割を担っています。しかし、近位尿細管上皮細胞による物質輸送機能の評価は動物実験や培養皿での実験に限られており、よりヒト近位尿細管の機能を模倣した定量的な評価系が必要とされてきました。本研究では、ヒト iPS 細胞由来のオルガノイドが高機能な細胞を含むこと、およびマイクロ流体デバイス (チップ) を用いた培養により細胞機能が上昇することに着目して、オルガノイド由来細胞と不死化細胞 RPTEC をチップ内で共培養する技術を開発しました。これにより、膜タンパク質である SGLT-2 および P-gp の細胞極性に従った輸送能を計測することに成功しました。その結果、2 種類の細胞の共培養と灌流培養によるせん断応力刺激が、いずれも SGLT-2 と P-gp の輸送能を上昇させることがわかりました。

近位尿細管上皮組織の MPS モデルは、再吸収や薬物排泄に関わる様々な薬剤評価を生体外で実施できるため、動物実験の低減に貢献します。今後は、様々な膜タンパク質の輸送評価や腎毒性評価に本 MPS モデルを展開し、新規に開発された薬剤のスクリーニングツールとして社会に貢献していくことが期待されます。

本研究成果は 2023 年 5 月 4 日に国際学術誌「*Communications Biology*」のオンライン版に掲載されました。

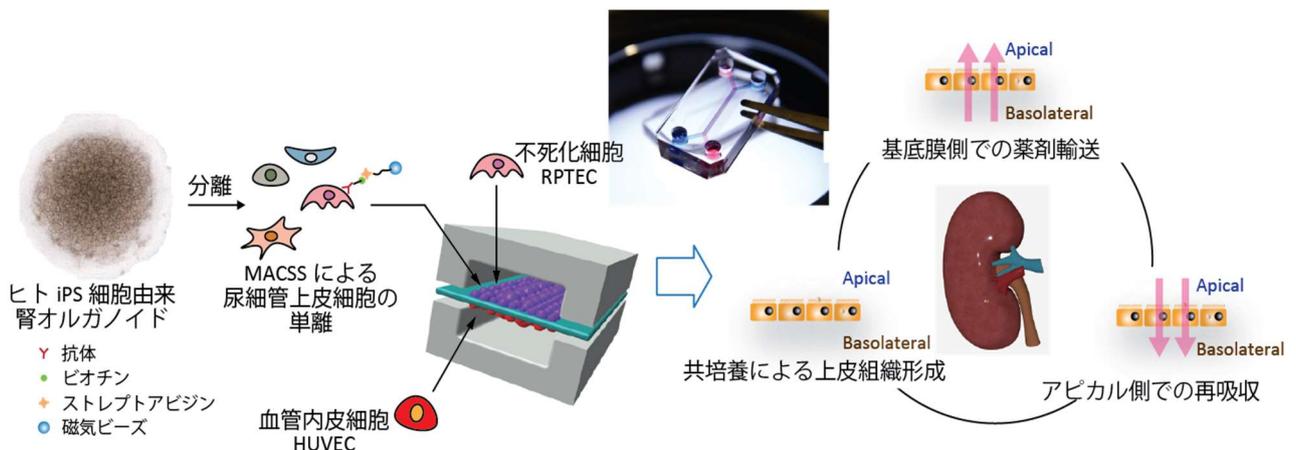


図 1: ヒト iPS 細胞由来腎オルガノイドから単離した細胞を用いて、高機能な近位尿細管の Microphysiological systems (MPS) を作製し、糖の再吸収機構や薬剤の排泄機構を再現

<本研究のポイント>

- ◆ ヒト iPS 細胞を用いたオルガノイド由来細胞と不死化細胞 RPTEC を共培養することで、近位尿細管の上皮組織を形成できることを見出した。
- ◆ 共培養によりグルコーストランスポーターである SGLT-2 とアルブミントランスポーターである LRP2 の遺伝子発現量がそれぞれ 2 倍と 400 倍に上昇し、MPS を用いることでグルコースとアルブミンの輸送量が 2 倍になることを示した。
- ◆ マイクロ流体デバイス（チップ）を用いた培地の灌流や血管内皮細胞の共培養により、微絨毛の増加やトランスポーターの局在など近位尿細管上皮細胞の形態が見られるようになり、グルコースとアルブミンの輸送量も増加することが明らかになった。

1. 背景

腎近位尿細管は、血液をろ過した原尿から生体に必要な成分を再吸収し、不要なものを遠位尿細管や集合管へ導くことで、生体恒常性の維持に重要な役割を担っています。また、血液側から尿側への薬剤排泄と逆方向の薬剤吸収の双方の機能を担っていることから、薬剤による腎障害を受けやすい器官です。しかし、このような近位尿細管の高次機能の評価は動物実験や培養皿での実験に限られており、よりヒト近位尿細管の機能を模倣した定量的な評価系が必要とされてきました。そのひとつがマイクロ流体デバイス内に臓器細胞を培養した生体模倣システムあるいは Microphysiological systems (MPS)の技術であり、これまでも近位尿細管モデルが提案されてきたものの不死化細胞を用いた場合には再吸収や薬剤排泄を十分に測定できませんでした。

一方、近年の研究開発が目覚ましいヒト iPS 細胞を用いたオルガノイド技術では、所望の臓器機能を有する三次元組織を作製することができます。腎オルガノイドでは、尿生成における最小単位であるネフロンに含まれる糸球体、近位尿細管、遠位尿細管、集合管などの複数種の細胞を分化誘導し、形態と機能を再現することができますが、このような技術が MPS には十分活用されていませんでした。

2. 研究手法・成果

まず、ヒト iPS 細胞由来のオルガノイドが高機能な細胞を含むことから、グルコーストランスポーターである SGLT-2 や、薬剤排泄を担う P-gp などの膜タンパク質を維持したまま近位尿細管上皮細胞を単離しました。単離した細胞は、三次元化しやすい性質を有しており単層の組織を形成させることは困難でしたが、不死化細胞 RPTEC と混合しチップ内で共培養することにより単層の上皮組織を作製できることを見出しました。その結果、共培養により RPTEC のみの場合よりも SGLT-2 と P-gp の輸送能を上昇させることがわかりました。

次に、チップ内で培地の灌流によるせん断応力刺激を付与して、さらに細胞機能の向上を実証しました。3日間の灌流によりオルガノイド由来細胞の SGLT-2 および P-gp の機能向上が見られるだけでなく、RPTEC のみの場合にも同様の効果が見られました。さらに、血管内皮細胞を共培養することによってもさらなる機能向上を確認しました。

2種類の細胞の共培養やせん断応力刺激により、近位尿細管上皮細胞内の膜タンパク質が頂端膜側や基底膜側に局在したり、細胞表面の微絨毛が長く高密度になるなど細胞形態的にも生体内の近位尿細管上皮組織に近くなりました。

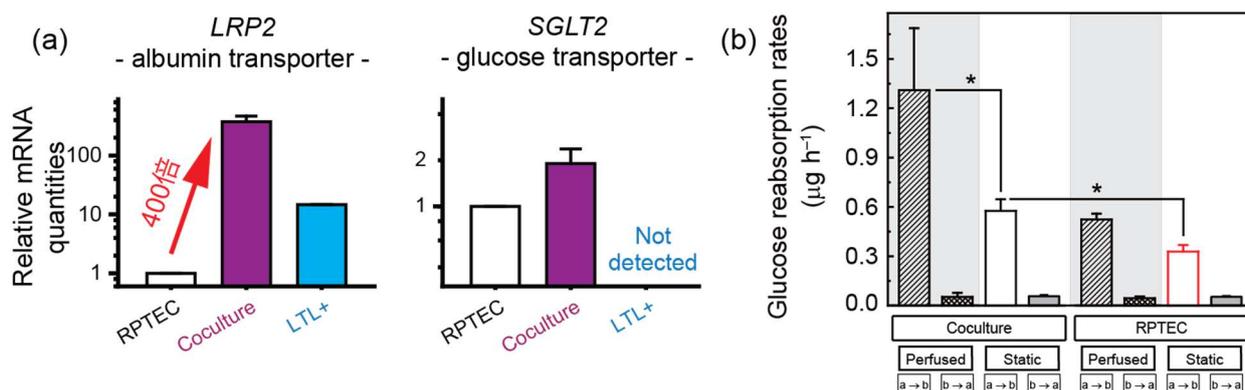


図2：(a) ヒト iPS 細胞を用いることでトランスポーターの発現量が上昇。(b) 近位尿細管におけるグルコースの再吸収量が、iPS 細胞の使用、灌流培養によって増加することがわかり、MPS が高機能化した。

3. 波及効果, 今後の予定

このような近位尿細管上皮組織の MPS モデルは、様々な膜タンパク質の物質輸送や腎毒性の評価に展開することができ、再吸収や薬物排泄に関わる薬剤評価を生体外で実施できるため、動物実験の低減に貢献します。また、疾患特異的 iPS 細胞を用いて同様のプロトコルを適用すれば、疾患状態を再現した MPS モデルが実現でき病態解明につながります。今後は、新規に開発された薬剤のスクリーニングにおける活用を通して社会に貢献していくことが期待されます。

4. 資料提供

本研究成果に関連する画像や動画資料は下記 URL よりご利用いただけます。報道で使用される場合、提供元は「横川隆司 京都大学工学研究科教授」と明記するようお願いいたします。

<https://www.nature.com/articles/s42003-023-04862-7>

5. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学技術振興機構 (JST) Center of Innovation Program (COI) (JPMJCE1307)、日本医療研究開発機構 (AMED) MPS プロジェクト (JP22be1004204, JP17be0304205)、文部科学省「ナノテクノロジープラットフォーム」事業 (JPMXP09F19KT0107) の支援を受けました。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Cells sorted off hiPSC-derived kidney organoids coupled with immortalized cells reliably model the proximal tubule

著者：Ramin Banan Sadeghian, 上野遼平, 高田裕司, 川上瑛彦, Cheng Ma, 荒岡利和, 高里実, 横川隆司

掲載誌： *Communications Biology*

DOI : 10.1038/s42003-023-04862-7