

倉岡 将平 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

PKD1-dependent renal cystogenesis in human induced pluripotent stem cell-derived ureteric bud/collecting duct organoids

(*PKD1* 変異を有するヒト iPS 細胞由来尿管芽/集合管オルガノイドにおける腎嚢胞再現)

常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) は最も頻度の高い遺伝性腎疾患であり、60 歳までに約半数が腎不全に至る。ADPKD ではネフロン全ての領域から嚢胞が形成されるが、発生学的に糸球体・尿細管と集合管はそれぞれネフロン前駆細胞と尿管芽という異なる前駆細胞集団から派生する。近年の幹細胞学の進歩により、ADPKD の原因遺伝子である *PKD1* や *PKD2* を欠損した細胞を用いてネフロンオルガノイドを誘導する研究が進んでいるが、ADPKD でみられる嚢胞の主体と考えられる尿管芽/集合管由来の嚢胞再現はまだ達成されていない。本研究は、ヒト iPS 細胞を用いて *PKD1* 遺伝子変異を導入後、尿管芽/集合管オルガノイドを誘導して嚢胞形成を検討し、病態を再現することを目的とした。

方法として、CRISPR/Cas9 技術を用いてヒト iPS 細胞の *PKD1* 遺伝子に変異を導入した。この細胞からネフロンオルガノイドと尿管芽オルガノイドをそれぞれ誘導し、嚢胞形成について検討した。また、*PKD1* 変異を有する ADPKD 患者由来 iPS 細胞からも尿管芽オルガノイドを誘導、嚢胞形成について検討を行った。

その結果、*PKD1* ホモ変異を有するヒト iPS 細胞から誘導されたネフロンオルガノイドは、野生型と差異を認めず嚢胞も形成されなかったが、cAMP 活性化剤添加によって嚢胞形成が誘導された。ヘテロ変異を有するネフロンオルガノイドでも一部に嚢胞が形成された。一方、*PKD1* ホモ変異を有する尿管芽オルガノイドでは、無刺激では嚢胞を認めなかったが、やはり cAMP 活性化によって明らかな嚢胞形成を認めた。*PKD1* ヘテロ変異を有する尿管芽オルガノイドでも嚢胞形成を認めたが、ネフロンオルガノイドと異なり野生型からは嚢胞が形成されなかった。また、バソプレシン受容体 (AVPR1A) は尿管芽オルガノイドでのみ発現が確認され、*PKD1* ホモ変異を有する尿管芽オルガノイドのみがバソプレシン添加にて嚢胞を形成した。さらに、*PKD1* ヘテロ変異を有する ADPKD 患者由来 iPS 細胞から誘導した尿管芽オルガノイドからも、cAMP 活性化によって嚢胞が形成された。

このように、*PKD1* 変異を導入した iPS 細胞及び患者由来 iPS 細胞から誘導した尿管芽オルガノイドにおいて、嚢胞形成を再現することが可能となった。これらの iPS 細胞由来尿管芽オルガノイドは、従来のネフロンオルガノイドと比べヒト ADPKD の病態をより正確に反映している可能性が示唆され、ADPKD の病態解析及び治療法開発のモデルとして有用であると考えられた。

審査では、1) 遺伝子編集の方法と異常 polycystin-1 (PC1) の発現、2) 本モデルにおける Ca シグナルの関与、3) 患者由来細胞からのオルガノイド誘導効率と再現性、4) 集合管由来と尿細管由来嚢胞の差異、5) 変異による微細構造変化の有無、6) 若年期の病態との関係、7) PC1 の作用とその解析への応用、8) AVP 受容体の経時的発現と臨床的意義、9) オルガノイドを用いた in vivo 解析、10) 他臓器の病態解析への応用、11) 本モデルを用いた創薬への展開、などについて質問がなされ、申請者から概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、ヒトにおける ADPKD の有用なモデルを開発しその病態を詳細に検討したものであり、今後の病因・病態解明、治療法進展のために重要な研究と考えられ、学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 腎臓内科学担当教授

向山 政志