

腎臓再生研究の最前線

—2022—

藤本俊成 横尾 隆

東京慈恵会医科大学腎臓・高血圧内科

key words : 胎生臓器補完法, 多能性幹細胞, 異種移植, 後腎移植, 前駆細胞置換

要 旨

末期腎不全に対する唯一の根本的治療は移植療法である。しかし世界的に移植臓器不足は深刻であり、この問題を克服する新規治療が求められている。人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) が樹立されて以降、幹細胞研究は飛躍的な発展を遂げており、iPS 細胞から各腎臓前駆細胞の誘導、さらにこれらを組み合わせた腎オルガノイドの作成が報告されている。しかし疾患モデル等には有用なツールであるが、小さく未熟な組織であり、成体内で機能を果たすには課題が多い。別のアプローチとして異種移植に注目が集まっている。ブタサル間では長期にわたるライフサポータティブな腎移植に成功している。最近の米国でのヒト脳死患者に対するブタ腎移植試験は記憶に新しい。しかし現段階では強力な免疫抑制薬が必要となるため、臨床応用には課題も残る。異種臓器の強い拒絶反応の克服のため、抗原性の少ない異種胎生腎移植が古くから提唱されている。胎生腎臓は移植後に自立的に成熟し、その機能を果たすことが可能で、臓器再生の足場としても有用である。我々の目指す胎生臓器補完法による腎臓再生は、異種胎生腎を足場にキメラ技術を用いてヒト腎臓を再生する試みである。同法は再生医療と異種移植の利点を兼ね備えた新規手法で、我々は異種再生医療として提唱している。本稿では iPS 細胞からの腎誘導研究、胎生腎移植を含む異種腎移植に言及するとともに、我々が提唱する異種腎臓再生戦略について概説する。

1 腎前駆細胞の分化誘導と腎オルガノイド

胎生期に発生する腎臓原基の後腎にはネフロン前駆細胞 (nephron progenitor cell; NPC), 尿管芽 (Ureteric bud; UB), 間質前駆細胞 (stromal progenitor cell; SPC) の三つの前駆細胞が存在し、これらが相互作用しながら高次構造を形成していく。NPC は尿細管や糸球体へ、UB は集合管や尿管へ、そして SPC は間質細胞へと分化することで腎臓を形成する。多能性幹細胞に誘導因子を段階的に加えて腎発生過程を模倣することで、複数のグループから腎前駆細胞の誘導が報告されている。2014 年に Taguchi らはマウス ES 細胞およびヒト iPS 細胞から NPC の特異的な誘導に成功している¹⁾。さらに 2017 年にはブランチング能と NPC の維持・分化能を持つ UB の誘導に成功し、マウス ES 細胞から誘導した NPC, UB とマウス胎仔から分離した SPC を混ぜ合わせることで、三次元立体構造を持った腎オルガノイドの作成に成功している²⁾。2020 年に Tsujimoto らはヒト iPS 細胞から高純度で NPC と UB を誘導する方法を見出し、各々を凝集、分化させることで、糸球体から集合管までを含むヒト由来腎オルガノイドを生成した。この腎オルガノイドは成体マウスの腎被膜下に移植することで、ホストからの血管をひきつけ濾過能を有することが示されている³⁾。しかしヒト由来腎オルガノイドは UB の分岐がいびつであるなど、正常な立体構造を再現したとは言い難く、恐らくは支持組織である間質細胞の欠如のためと思われる。三つの腎前駆細胞から成る完全な腎オルガノイ

ド生成のために長らく SPC の誘導が望まれていたが、とうとう 2022 年 1 月に Tanigawa らによってマウス ES 細胞から SPC の誘導方法が報告された⁴⁾。これにより誘導細胞のみからなる高次構造を持った腎オルガノイドの生成が初めて報告された。誘導した SPC は皮質・髄質間質細胞、メサングウム細胞、レニン産生細胞などに分化したことが確認されている。現時点ではヒト iPS 細胞からの SPC 誘導は示されておらず、今後のヒト iPS 細胞への応用が待たれる。

腎オルガノイドを用いることで新規薬剤の有効性・毒性試験を簡便に行える可能性がある他、CRISPR-Cas9 をはじめとする迅速な遺伝子改変システムと合わせれば、機能欠失実験による発生学的遺伝子機構の解明や、変異導入による病態再現研究などに応用可能であり、基礎研究から臨床応用研究まで様々な方向での活用が期待できる。しかし腎オルガノイド研究の延長として、生体で機能を果たす腎臓を再生するというのは、現時点では困難である。一つはサイズの問題で、*in vitro* で培養されたオルガノイドは、酸素や栄養素、その他の体液性因子の受動的拡散に限界があるため、数 mm 以上の大きさには成長できない。また腎高次構造が再現されたとはいえ、尿排泄路の構築はなされておらず、仮に移植したとしても水腎症となり自壊してしまう。生体を維持するには何らかの方法で大幅なスケールアップを行い、なおかつ尿排泄路を構築する必要がある。そこで後述の通り、我々は多能性幹細胞から誘導した腎前駆細胞を細胞源として、異種動物を足場に腎臓再生を行う手法を提言している。誘導後の前駆細胞を腎再生の細胞源として利用するには、誘導細胞を大量に維持する必要があるが、最近では NPC、UB の効率的な維持および拡大培養の方法が示されている。また我々は血液透析患者から樹立した iPS 細胞が、健常者由来のものと遜色なく NPC に分化し、血管誘導能を維持していることを確認しており、腎不全患者由来の細胞で腎臓再生ができる可能性を示している⁵⁾。

2 異種腎臓移植と異種胎生腎移植

2-1 異種腎移植

2021 年 10 月米国ニューヨーク大学にて、2022 年 1 月には米国アラバマ大学にて、ヒト脳死患者に対してブタ腎臓の移植を行ったという衝撃的な報告が立て続

けになされた⁶⁾。報告ではレシピエントの血清クレアチニン値の改善は得られなかったものの、移植したブタ腎臓は尿を産生し、後述する超急性拒絶反応を認めなかったという。実施者らは、脳死という補体活性化環境や昇圧剤を要する非生理的環境が、完全なグラフト機能回復を得られなかった要因と考察している。今後どのように安全を担保しながら、さらなる臨床研究に繋げていくのか、倫理的なハードルが多いが、目の離せない分野である。

異種移植は移植臓器不足を解決する画期的な手段の一つであり、その概念は 100 年以上前から存在する。1906 年に初の異種腎臓移植が行われ、ブタの腎臓が腎不全女性に移植されたが、3 日後には血栓による移植腎の廃絶を認めた。同様の試みが続いたがいずれも失敗に終わり、一時その試みは途絶えている。その後、免疫抑制薬の開発に伴い、1964 年にチンパンジーからヒトへの腎臓移植が施行され、9 カ月間の長期生着に成功した。霊長類、ヒト間の concordant 移植では免疫バリアが少なく一見有用にも思われるが、霊長類の臓器を移植する試みは、倫理的問題、限りのある個体数、近い種間での感染のリスクなどから、施行されることはなくなった。現在ではブタが臓器供給源として適していると考えられているが、これはブタの腎臓サイズや生理学的機能がヒトと類似していること、家畜として飼育されているため倫理的問題が少ないこと、多産であり個体数の供給が安定していること、種々の遺伝子改変操作が可能であることなど、様々な利点のためである。

異種移植において人畜共通感染の可能性は無視できないが、ブタは微生物のない環境下で飼育することが可能であり、人畜共通感染のリスクを限りなく少なくすることができる。染色体に存在するブタ内在性ウイルス PERV は *in vitro* でのヒト細胞感染が報告されているためその対処が必要であるが、2017 年には CRISPR-Cas9 によるブタのゲノム内の PERV 遺伝子ノックアウトによる PERV フリーブタの作出も報告されており⁷⁾、移植感染の問題については一定の解決を得ている。ブタ-ヒト移植における最大の問題は、遠い種間による discordant な移植のため超急性拒絶反応が生じ、数時間で移植臓器は廃絶されてしまうことである。これはブタ血管内皮細胞に発現する α -galactose-1,3-galactose (α Gal) 抗原の存在による。ブタは α -1,3-galacto-

sytransferase (α GalT) を持ち、ブタ細胞表面に糖鎖抗原である α Gal が付与されるが、ヒトや旧世界ザルなどの霊長類は α GalT を持たず、自然抗体として抗 α Gal 抗体を持つ。故にブタ移植片を霊長類に移植した場合、既存抗体による超急性拒絶反応が起こる。さらにブタ移植片表面にあるブタ補体制御因子が霊長類の補体を制御することができず、ヒト補体の活性化による拒絶反応が惹起される。これらは免疫抑制薬のみでは制御できない。このような超急性拒絶を克服するために、遺伝子組換えにより α GalT ノックアウト (α GalT-KO) ブタが開発され⁸⁾、さらにはヒト補体制御因子である hCD55⁹⁾ を発現させたブタ、凝固活性制御因子であるヒトロンボモジュリンを発現させたブタ¹⁰⁾ などが開発されている。現在、 α GalT-KO ブタに複数のヒト補体制御因子、凝固活性制御因子を発現させたブタが利用可能となっており、腎臓移植に最適な遺伝子組み換え個体が検討されている。また異種移植時の免疫抑制プロトコルへの CD40/CD154 の共刺激経路遮断薬である抗 CD40 抗体の導入も相まって、異種移植は不可能なものではなくなってきた¹¹⁾。抗 CD40 抗体は現在同種腎移植での臨床試験も実施されており、今後臨床使用可能となれば異種移植の臨床応用に向けて追い風になるだろう。Kim らは hCD55 発現した GalT-KO ブタからアカゲザルへの腎移植で 499 日間ものライフサポータティブな長期生着の成功を報告している¹²⁾。このような異種腎移植の進歩から、冒頭のヒト脳死患者へのブタ腎移植試験が行われたわけである。実際には抗 α Gal 抗体による超急性拒絶の克服は見えてきたが、non- α Gal 抗体による遅発性拒絶の制御が問題となっている。また依然として強力な免疫抑制によるレシピエント死亡は臨床応用に向けての課題であり、長期生着を考慮した場合には、今後いかに免疫抑制療法を減ずるかを検討していく必要がある。

2-2 異種胎生腎移植

異種腎臓移植の強い拒絶反応の克服のため、抗原性が低いと考えられている異種胎生腎臓の移植が以前より考案されている。胎生腎は未熟な状態で移植されるが、生体内で自立的に成熟して、その機能を果たすことが可能で、臓器再生の足場としても有用である。胎生期の腎臓である後腎には前述の三つの前駆細胞が既に存在するため、機能的な腎臓を生成する能力が備わ

っている。移植された後腎はレシピエントからの血管侵入を受け、レシピエントの血管網で構築された腎臓が形成される。分化した後腎はレシピエントの血流から尿を産生し、さらにはエリスロポエチンやレニン産生など内分泌機能を有する。既にドナー由来の血管が発達している成体腎移植に比べて、レシピエントの血管が侵入した後腎移植は血管内皮細胞への拒絶反応が生じにくいと考えられている。

ヒトへの臨床応用を考えた場合には異種腎臓移植と同様に、ドナー動物としてブタが理想的である。ブタ後腎の同種移植では、妊娠 28 日齢 (E28) の後腎が免疫抑制薬なしで生着、分化したことが報告されており、後腎の免疫原性の低さが見て取れる¹³⁾。E28 ブタ後腎では移植後に成熟腎を呈した一方で、E21~25 の後腎では骨など腎と異なる系譜に分化したことが報告されており、幼若すぎる後腎はその運命決定が不十分であると思われる¹⁴⁾。逆に遅い時期の後腎は拒絶が強まることが知られており、後腎移植においては分化の方向性が定まり、かつまだ免疫原性の低い適切な後腎の胎齢が存在するといえる。過去の報告からはラットで E15、ブタで E28 が適切なようである。異種移植では、ブタの成体腎臓と E28 のブタ後腎をラットへ移植したところ、2 週間後には両群ともに拒絶されたが、両群に短期間アバタセプトを追加したところ、成体腎臓は拒絶されたが後腎は分化成長したと報告されている¹⁴⁾。このように直接比較でも成体腎に対する後腎の免疫学的優位性が示唆されている。

後腎の低い抗原性に関しては主にげっ歯類への後腎移植実験で示されているが、ヒト臨床応用を考えるならば、ブタ後腎の霊長類への移植研究が絶対的に必要になる。臨床使用可能な免疫抑制薬のみでは、 α GalT-KO を含む複数の遺伝子を改変したブタを使用しても、成体腎ではサルへの長期生着が不可能であることが報告されている¹⁵⁾。最近、我々はブタ後腎のサルへの移植において、遺伝子改変のないブタ後腎を使用し、なおかつ臨床使用可能な免疫抑制薬のみで、ブタ後腎が拒絶なく長期生着可能であることを示した。また発育したブタ後腎にはレシピエントサル由来の血管が侵入していた¹⁶⁾。ブタ後腎移植は後述する異種腎臓再生法である「胎生臓器補完法」の基盤技術であり、同法の臨床応用可能性を示した結果である。

移植した後腎は尿産生能を有するが、産生した尿を

排泄する経路がないため、1 カ月以内に自己尿による水腎症のため廃絶してしまう。たとえ移植後腎とレシピエント尿管を人工チューブなどで繋いでも、後腎からの尿流出は得られない。胎生初期から尿管は蠕動運動を行っているが、これが膀胱内へ尿を排泄するのに極めて重要なためである。そこで我々は胎生期の尿管と膀胱が付属した状態の後腎 (metanephros with bladder; MNB) を移植する方法を確立した。これにより MNB の尿管の蠕動運動により後腎の水腎症を回避可能となった。さらには、レシピエントの尿管と発育した MNB の膀胱を繋げることで持続的に尿の排泄が可能な、段階的尿路排泄 (stepwise peristaltic ureter system; SWPU) システムを開発した¹⁷⁾。SWPU を行うことで、移植 8 週後においても水腎症を呈することなく、持続的な発育が可能であり、また無腎ラットの生命予後の延長も可能であった。このシステムはブタを用いた大型動物実験でも実施可能なことを確認している。

3 異種腎臓再生：キメラ技術を用いた臓器再生

幹細胞由来の腎オルガノイド研究の延長として腎臓再生を行うのはハードルが高く、より実現化に近いアイデアとして異種動物とのキメラ技術を応用した腎臓再生戦略がある。具体的には異種動物にもととなる細胞を移植し、その発生プログラムを借り与えることで、移植細胞由来の臓器を再生する試みである。これは胚発生初期の胚盤胞に対して幹細胞を注入する胚盤胞補完法と、胚発生中期の器官形成期の動物胎仔に対して臓器前駆細胞を注入する胎生臓器補完法に大別される。特に胎生臓器補完法はヒトキメラ再生技術による抗原性の低下と異種尿路系の利用が可能という、再生医療と異種移植の利点を合わせ持った手法であり、このような方法を我々は異種再生医療という新たな概念として提唱している¹⁸⁾。

3-1 胚盤胞補完法

胚盤胞補完法は全身のキメラ形成技術を応用した手法である。胚盤胞に多能性幹細胞を移植すると、胚盤胞側由来の細胞と注入した幹細胞由来の細胞の 2 系統の細胞からなる全身キメラ個体が形成される。ここで標的臓器が欠損するように遺伝子改変した胚盤胞を用いると、本来発生し得ない臓器が移植した多能性幹細胞

により補完され再生する。腎臓領域では、腎欠損 (Sall1-KO) マウスの胚盤胞にこの手法を適用することで、他マウス iPS 細胞からの腎臓の再生に成功している。この際、異種であるラット iPS 細胞を移植しても腎臓再生に至らなかったと報告されていたが、その後 Sall1-KO ラット胚盤胞にマウス iPS 細胞を移植することで、マウス腎臓の再生が可能であることが報告された¹⁹⁾。受け手と細胞源の逆転により補完の可否が決まる理由は分かっていないが、大変興味深い現象である。なお Sall1 は腎臓の後腎間葉由来の組織に発現する遺伝子であり、Sall1 系譜の細胞はすべて移植細胞由来であったが、尿管芽由来である集合管や血管はホストの細胞が混在したキメラであった。また腎補完後のマウス、ラットは出生後すぐに死亡してしまい、直接的な腎機能の解析はできていない。同法で再生した臓器の血管は移植細胞とホストとのキメラとなるため、移植に際しては異種移植と同様の強い拒絶反応が想定される。そのような懸念に対して、血管に対する胚盤胞補完の報告もある。血管内皮および血球細胞を欠損した Flk-1 ノックアウトマウスの胚盤胞に、マウス iPS 細胞を移植することで血管内皮、血球細胞の再生が報告されている²⁰⁾。さらには Pdx-1 (膵臓発生の必須遺伝子) と KDR (マウスの Fl-1 に相当) をダブルノックアウトした、膵臓、血管内皮および血球の同時欠損ブタの胚盤胞に正常ブタの卵割細胞を注入することで、膵臓、血管系の同時再生に成功している²¹⁾。ブタという大型動物において支配血管と標的臓器を移植細胞から再生したとあって、同法の臨床応用に向けた重要な成果である。

胚盤胞補完法では標的臓器以外は移植細胞とのキメラとなるため、ヒト応用の場合には神経細胞、生殖細胞などにヒト細胞が混入する危険があり、倫理的課題となっている。この解決策としては移植細胞の分化の方向性を制御する方法が検討されている。例えばマウス ES 細胞に内胚葉系の分化にかかわる Mixl1 遺伝子を発現させることで、胚盤胞補完法において内胚葉系にのみ寄与させることに成功している²²⁾。同様の手法で移植する多能性幹細胞が寄与する組織を限定することができれば、目的臓器のみを特異的に再生することが可能かもしれない。胚盤胞補完法の根本的な問題としてヒト iPS 細胞がキメラ形成能を持たないことがあげられる。多能性幹細胞には生殖細胞分化能を持つ着

床前胚に類似したナイーブ型と、発生が進んだ着床後胚に類似したプライム型がある。同じ多能性幹細胞でありながらマウス iPS 細胞はナイーブ型でキメラ形成能があるのに対して、ヒト iPS 細胞はプライム型でキメラ形成能を持たない。ヒト iPS 細胞をナイーブ化する方法は幾つか報告されているが、ナイーブ化後もブタ胚へのキメラ寄与は不十分なものであった²³⁾。ヒト iPS 細胞を胚盤胞に注入した場合、早期にアポトーシス誘導が起こる現象が知られており、これがキメラ形成の起こらない一因と考えられている。近年、抗アポトーシス遺伝子 BCL-2 を導入したヒト iPS 細胞と血管内皮欠損ブタ (ETV2 ノックアウト) での胚盤胞補完や、アポトーシス誘導遺伝子 TP53 をノックアウトしたヒト iPS 細胞と骨格筋欠損ブタ (MYF5/MYOD/MYF6 ノックアウト) での胚盤胞補完が報告され、早期胚ではあるがヒト由来血管や骨格筋の再生が報告されている^{24, 25)}。今後どこまでヒト iPS 細胞のキメラ寄与率を上げられるか、そして癌遺伝子でもあるアポトーシス遺伝子の操作に対する長期的な安全性の懸念はあるが、ヒト-ブタ間での臓器再生が着実に進んでいる。

3-2 胎生臓器補完法

もう一つの異種腎臓再生の手法として我々は、胎生臓器補完法を開発した。これは胚発生中期の胎仔腎発生領域に外部からヒト腎前駆細胞を移植し、その発生環境を利用することでヒト細胞由来の腎臓を再生する手法である。胚発生の初期と後期は種間での発生シグナルの相違が大きいものに対して、胚発生中期、特に器官形成期は種間の発生シグナルの相同性が比較的維持されており、この時期においては種間キメラが形成されやすいと考えられる。また臓器特異的に分化をする前駆細胞を発生領域に局限して移植するため、キメラ形成が腎に局限し、神経細胞や生殖細胞を含む全身キメラ形成を起こさずに、倫理的懸念が少ないという利点がある。

我々はグリア細胞由来神経成長因子 (GDNF) を発現させたヒト間葉系幹細胞 (human mesenchymal stem cell; hMSC) をラット胎仔 (E11.5) の尿管芽出芽部位に注入すると、hMSC がラット後腎に統合してヒト由来の腎組織へ分化することを示した。さらにヒト由来後腎組織を成体ラット大網へ移植すると、ホス

ト血管の侵入を受けて発育し、尿を産生することを確認した。またホストの貧血に応答したエリスロポエチンの分泌能を認めた。すなわち、外来性のヒト細胞から尿産生・内分泌機能を合わせ持ったヒト腎臓を再生することに成功した²⁶⁾。

この尿管芽発芽時期の胎仔は小さく、的確に細胞を移植することは困難であったため、より確実に前駆細胞を腎発生領域に届けるために、E13.5 のマウス胎仔 (ラット E15.5 相当) の後腎の腎被膜下に存在する nephrogenic zone に、ex vivo で外来前駆細胞を注入しネフロンへと分化させる手法を確立した。この際、単純な細胞移植では当然ながら既存のホスト細胞との競合によりその定着が障害されるため、移植と同時にホストの NPC を除去する手法を組み合わせることで新たな胎生臓器補完法を開発した²⁷⁾。この方法では Six2 という NPC に発現する転写因子に着目し、Six2 陽性 NPC にジフテリア毒素受容体 (diphtheria toxin receptor; DTR) を発現した遺伝子組換えマウス (Six2-iDTR マウス) の後腎を細胞の受け手として使用した。げっ歯類の細胞には DTR が発現していないため、ジフテリア毒素 (diphtheria toxin; DT) の投与により NPC の特異的な除去が可能である。実際に Six2-iDTR マウスの後腎に、ラットの NPC を移植してホストマウス NPC を除去すると、ラット NPC がホストマウス NPC と置換して定着し、100% ラットの細胞からなるネフロンの再生に成功した。驚くことに再生されたラットのネフロンは異種であるホストマウスの集合管と接続していた。ラット NPC から再生したネフロンを有する Six2-iDTR マウス後腎を、免疫抑制下の成獣のラット傍大動脈領域に移植したところ、移植後腎はホストからの血管侵入を受けて発育し、腎構造を再現した。蛍光標識デキストランをレシピエントラットに注射したところ、再生糸球体ボウマン腔および再生尿管腔内へ集積を認め、再生腎臓が濾過能を有することを確認した²⁸⁾。

ヒト細胞には恒常的に DTR が発現しているため、DTR を利用した細胞除去システムはヒト細胞移植に応用できなかった。そこで次にタモキシフェン投与下に NPC 特異的にジフテリア毒素 A (diphtheria toxin A; DTA) が発現し、NPC の細胞死を誘導する遺伝子組み換えマウス (Six2-DTA マウス) を作成した。同マウスにおいてもラット-マウス異種間での前駆細胞

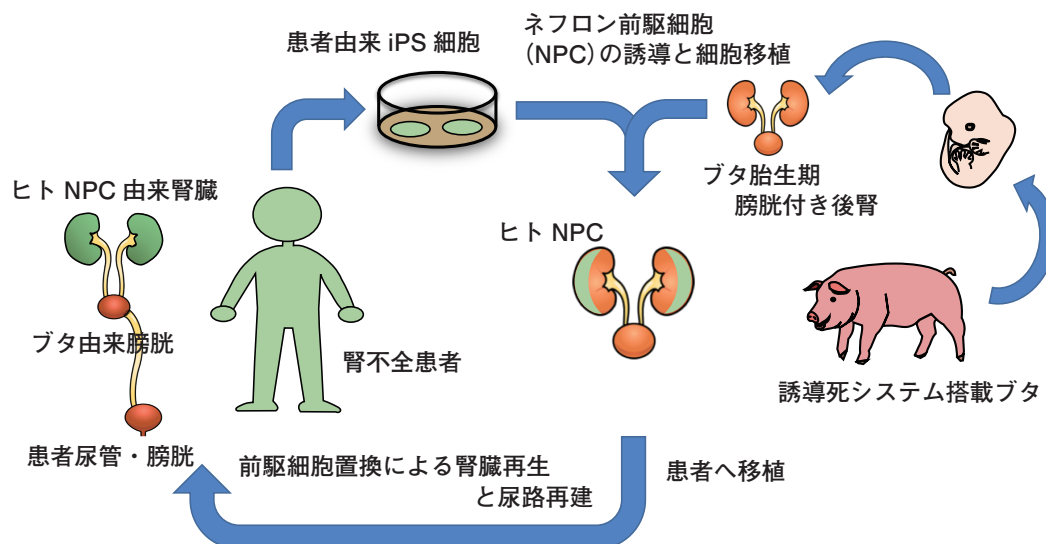


図1 胎生臓器補完法による腎臓再生の概略

- ① 腎不全患者より iPS 細胞を樹立し、ネフロン前駆細胞 (NPC) を誘導する。
 - ② ブタ胎仔後腎にヒト NPC を移植して、膀胱付きで患者の後腹膜腔に移植する。
 - ③ ブタ NPC は細胞死誘導を行い、ヒト NPC 由来の腎臓を再生する。
 - ④ ブタ由来移植膀胱と患者尿管を吻合して尿路再生を行う。
- (著者作成)

置換に成功し、さらにはヒト iPS 細胞由来の誘導 NPC を移植することで、未熟ではあるがホストマウスの UB と接続する、ヒトネフロンの再生に成功した²⁹⁾。現在、再生腎臓の大型化のため、NPC 除去のシステムを搭載した遺伝子改変ブタの開発に取り組んでいる。

胎生臓器補完法の問題点として、レシピエントに由来する血管系と置換した NPC 系譜以外の間質、集合管領域が異種動物由来という点があった。しかし最近我々は、SPC 系譜を除去できるマウスを開発し、SPC も同様に移植細胞と置換が可能であり、置換した SPC がメサンギウムなど種々の間質系譜細胞に分化することを示した。また NPC と SPC は同時に置換可能であることも確認している (Saito Y, et al. accepted for publication)。将来的にヒト iPS 細胞からの SPC 誘導が可能となれば、集合管以外の血管、ネフロン、間質すべてをヒト由来にできる可能性がある。これまでに異種臓器移植と比較してキメラ臓器移植での拒絶反応軽減を確認しており³⁰⁾、胎生臓器補完法は後腎移植を基礎とした手法であることと合わせて、異種移植の課題である拒絶反応の低減が可能であると考えている。最終的には前駆細胞置換による腎臓再生と異種動物の尿路を利用した SWPU システムを組み合わせるとで、異種再生医療という新たな方法による腎代替療法を提供することを構想している (図 1)。

おわりに

本稿では我々の提唱している異種再生医療を軸に、腎臓再生研究の今を幅広く取り上げた。異種動物を利用した臓器再生研究の高まりを受けて、日本において動物とヒトによる動物性集合胚の動物胎内への移植が厳格な要件下ではあるが認められるなど、社会全体を通して臓器再生研究を推し進める流れが生じている。各方法論とも克服すべき課題はあるが、腎臓再生研究は日進月歩であり、一日でも早いヒト臨床応用の実現を期待している。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- 1) Taguchi A, Kaku Y, Ohmori T, et al. : Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2014; 14: 53–67.
- 2) Taguchi A, Nishinakamura R. : Higher-Order Kidney Organogenesis from Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2017; 21: 730–746.
- 3) Tsujimoto H, Kasahara T, Sueta S, et al. : A Modular Differentiation System Maps Multiple Human Kidney Lineages From Pluripotent Stem Cells. *Cell Rep* 2020; 31: 107476.
- 4) Tanigawa S, Tanaka E, Miike K. et al. : Generation of the or-

- ganotypic kidney structure by integrating pluripotent stem cell-derived renal stroma. *Nat Commun* 2022; 13(1) : 611.
- 5) Tajiri S, Yamanaka S, Fujimoto T, et al. : Regenerative potential of induced pluripotent stem cells derived from patients undergoing haemodialysis in kidney regeneration. *Sci Rep* 2018; 8 : 14919.
 - 6) Porrett PM, Orandi BJ, Kumar V, et al. : First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model. *Am J Transplant* 2022; 22(4) : 1037-1053.
 - 7) Niu D, Wei HJ, Lin L, et al. : Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 2017; 357 : 1303-1307.
 - 8) Lai L, Kolber-Simonds D, Park KW, et al. : Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* 2002; 295 : 1089-1092.
 - 9) Cozzi E, White DJ : The generation of transgenic pigs as potential organ donors for humans. *Nat Med* 1995; 1 : 964-966.
 - 10) Miwa Y, Yamamoto K, Onishi A, et al. : Potential value of human thrombomodulin and DAF expression for coagulation control in pig-to-human xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2010; 17 : 26-37.
 - 11) Higginbotham L, Mathews D, Breeden CA, et al. : Pre-transplant antibody screening and anti-CD154 costimulation blockade promote long-term xenograft survival in a pig-to-primate kidney transplant model. *Xenotransplantation* 2015; 22 : 221-230.
 - 12) Kim SC, Mathews DV, Breeden CP, et al. : Long-term survival of pig-to-rhesus macaque renal xenografts is dependent on CD4 T cell depletion. *Am J Transplant* 2019; 19(8) : 2174-2185.
 - 13) Rogers SA, Talcott M, Hammerman MR : Transplantation of pig metanephroi. *ASAIO J* 2003; 49 : 48-52.
 - 14) Dekel B, Burakova T, Arditti FD, et al. : Human and porcine early kidney precursors as a new source for transplantation. *Nat Med* 2003; 9 : 53-60.
 - 15) Yamamoto T, Hara H, Foote J, et al. : Life-supporting kidney xenotransplantation from genetically engineered pigs in baboons : a comparison of two immunosuppressive regimens. *Transplantation* 2019; 103(10) : 2090-2104.
 - 16) Takamura T, Matsui K, Matsumoto N, et al. : In Vivo Development of Fetal Pig Kidneys in Mature Monkeys Under Clinically Approved Immunosuppressant Drugs. *Engineering* 2022; 10(3) : 65-73.
 - 17) Yokote S, Matsunari H, Iwai S, et al. : Urine excretion strategy for stem cell-generated embryonic kidneys. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(42) : 12980-12985.
 - 18) Yokoo T, Yamanaka S, Kobayashi E, et al. : Xeno-regenerative medicine : A novel concept for donor kidney fabrication. *Xenotransplantation* 2020 S; 27(5) : e12622.
 - 19) Goto T, Hara H, Sanbo M, et al. : Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in Sall1-targeted anephric rats. *Nat Commun* 2019; 10(1) : 451.
 - 20) Hamanaka S, Umino A, Sato H, et al. : Generation of Vascular Endothelial Cells and Hematopoietic Cells by Blastocyst Complementation. *Stem Cell Reports* 2019; 11(4) : 988-997.
 - 21) Matsunari H, Watanabe M, Hasegawa K, et al. : Compensation of disabled organogeneses in genetically modified pig fetuses by blastocyst complementation. *Stem Cell Reports* 2020; 14(1) : 21-33.
 - 22) Kobayashi T, Kato-Itoh M, Nakauchi H : Targeted organ generation using Mixl1-inducible mouse pluripotent stem cells in blastocyst complementation. *Stem Cells Dev* 2015; 24 : 182-189.
 - 23) Wu J, Platero-Luengo A, Sakurai M, et al. : Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells. *Cell* 2017; 168(3) : 473-486.
 - 24) Das S, Koyano-Nakagawa N, Gafni O, et al. : Generation of human endothelium in pig embryos deficient in ETV2. *Nat Biotechnol* 2020; 38(3) : 297-302.
 - 25) Maeng G, Das S, Greising SM, et al. : Humanized skeletal muscle in MYF5/MYOD/MYF6-null pig embryos. *Nat Biomed Eng* 2021; 5(8) : 805-814.
 - 26) Yokoo T, Fukui A, Ohashi T, et al. : Xenobiotic kidney organogenesis from human mesenchymal stem cells using a growing rodent embryo. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(4) : 1026-1034.
 - 27) Yamanaka S, Tajiri S, Fujimoto T, et al. : Generation of interspecies limited chimeric nephrons using a conditional nephron progenitor cell replacement system. *Nat Commun* 2017; 8(1) : 1719.
 - 28) Fujimoto T, Yamanaka S, Tajiri S, et al. : In vivo regeneration of interspecies chimeric kidneys using a nephron progenitor cell replacement system. *Sci Rep* 2019; 9(1) : 6965.
 - 29) Fujimoto T, Yamanaka S, Tajiri S, et al. : Generation of human renal vesicles in mouse organ niche using nephron progenitor cell replacement system. *Cell Reports* 2020; 32(11) : 108130.
 - 30) Saito Y, Matsumoto N, Yamanaka S, et al. : Beneficial Impact of Interspecies Chimeric Renal Organoids Against a Xenogenic Immune Response. *Front Immunol* 2022; 13 : 848433.