

腎臓オルガノイドの概要を学ぶ

慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease: CKD) は世界的に重大な健康問題の一つで、医療システムの高い経済的コストに関連します。CKD はネフロンが不可逆的に損傷して段階的に腎機能を喪失する状態であり、全世界の成人人口の約 10% に影響を及ぼしています。

ヒト多能性幹細胞 (hPSC) を機能的な腎臓組織に分化させることで、腎臓病の進行を抑えるための新規治療法を開発する新たな手段になります。さらに、いくつかの側面で *in vivo* の腎細胞と似た機能的な腎細胞型を含む、自己組織化する 3D 構造体である腎臓オルガノイドの発見は、一般的な単層培養系における細胞相互作用のモデリングに対する課題を克服します。腎臓オルガノイドは、患者固有の腎臓病のモデル化、腎臓発達の研究、そして腎毒性化合物スクリーニングに向けてより良いツールを提案します。

近年、いくつかのグループが hPSC を後期原始線条細胞、中間中胚葉、後腎中胚葉に段階的に誘導させ、尿細管前凝集体、次いで生じる腎小胞を経て、最終的に腎臓オル

ガノイドを形成する直接分化のプロトコルを確立しました (Fig. 26)。ただし、腎臓オルガノイド形成のプロトコルの多くは、分化した細胞をいったんシングルセル化して再凝集させる工程があるため、分化効率とオルガノイド収量が低下し、結果のばらつきが大きくなるという課題があります。

参考文献

1. Takasato M et al. (2015) Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature* 526, 564-568
2. Freedman BS et al. (2015) Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids. *Nat Commun* 6: 8715.
3. Czerniecki SM et al. (2018) High-Throughput Screening Enhances Kidney Organoid Differentiation from Human Pluripotent Stem Cells and Enables Automated Multidimensional Phenotyping. *Cell Stem Cell* 22(6): 929-40.e4

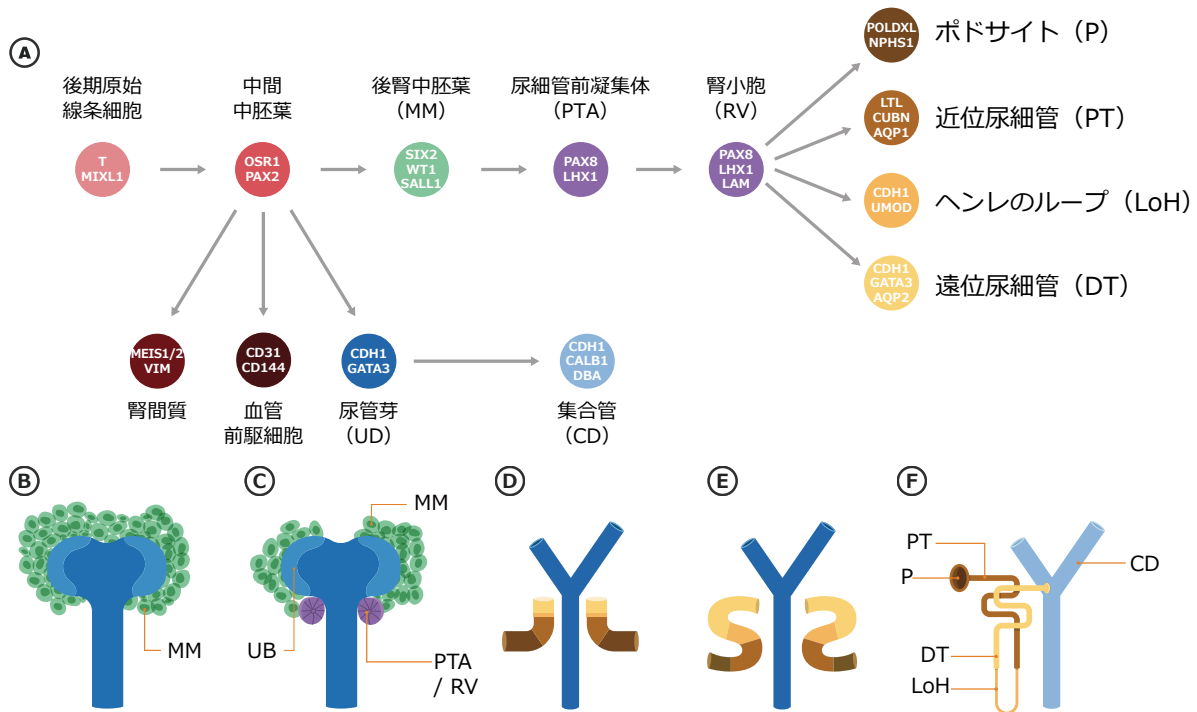


Fig. 26 哺乳類の腎臓発生

(A) ネフロンは後期原始線条細胞から後方中間中胚葉、後腎中胚葉 (MM)、尿細管前凝集体 (PTA)、およびポドサイト (たこ足細胞) (P)、近位尿細管 (PT)、ヘンレのループ (LoH)、遠位尿細管 (DT) にさらに分化する腎胞 (RV) への連続的な分化系列決定により形成されます。中間中胚葉からは他の腎臓細胞型である腎臓間質、血管前駆細胞、尿管芽 (UB) も生じます。後者は集合管 (CD) を形成します。各発達段階の典型的なマーカーを円内に示します。(B) 後腎間質は尿管芽の先端周囲に凝縮し、(C) 尿細管前凝集体に次いで腎胞を形成し、(D) コママ字体、(E) S 字体の解剖学的段階を経て、(F) 機能的なネフロンへと発達します。

ヒト多能性幹細胞から腎臓オルガノイドを作る

STEMdiff™ によるヒト腎臓オルガノイド作製手順

STEMdiff™ Kidney Organoid Kit (商品コード: ST-05160) は、ヒト多能性幹細胞 (hPSC) から腎臓オルガノイドを高効率かつ再現性高く樹立する無血清培地です。腎臓オルガノイドはシンプルな2段階の分化プロトコルで生成されます (Fig. 27)。はじめに hPSC を播種し、Matrigel® で覆い、空洞のあるスフェロイドを形成します。翌日 (0 日目)、培地を mTeSR™ 1 から STEMdiff™ Kidney Organoid Kit に交換することでスフェロイドの分化を開始します。次の18日間で、細胞は後期原始線条、中間中胚葉、後腎中胚葉の段階を経て、有足細胞、近位尿細管、遠位尿細管、および関連する内皮と間葉から構成される腎臓オルガノイドとなります (Fig. 28)。

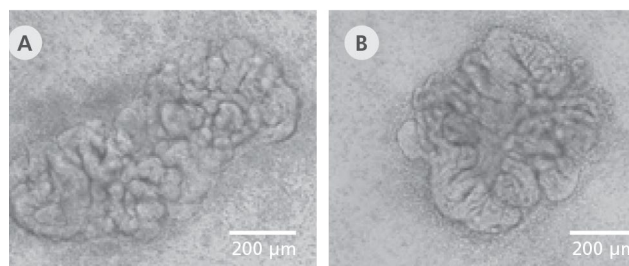


Fig. 27 STEMdiff™ Kidney Organoid Kit で作製した腎臓オルガノイド

(A) iPS 細胞 (WLS-1C 株、分化後 12 日)、(B) ES 細胞 (H9 株、分化後 18 日) から作製した腎臓オルガノイドの典型的な形態です。

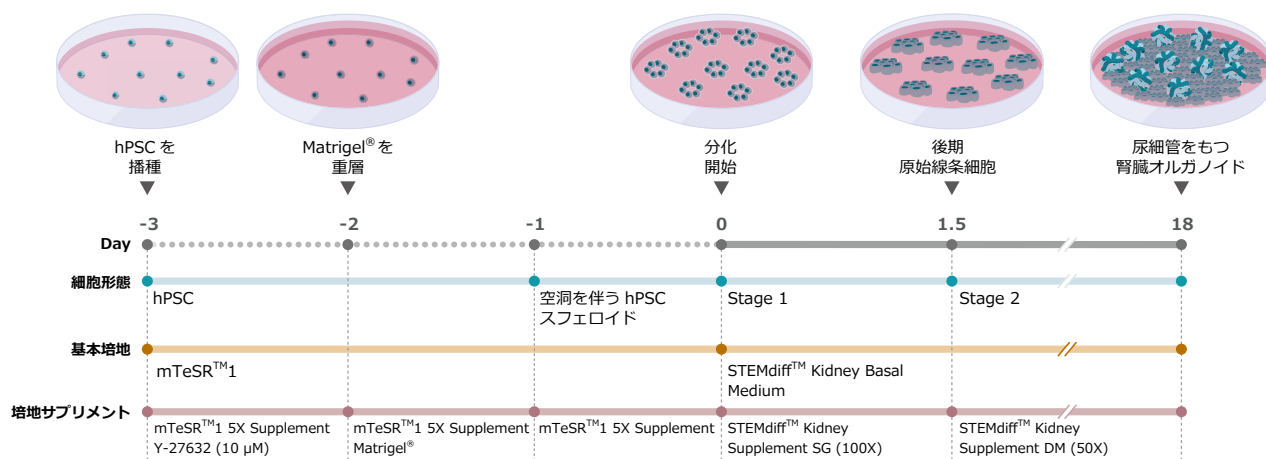


Fig. 28 STEMdiff™ Kidney Organoid Kit による腎臓オルガノイドの作製手順