

# 腎集合管嚢胞モデルを用いた 新規iPS創薬プラットフォームの開発

京都大学iPS細胞研究所

増殖分化機構研究部門 長船研究室

特定拠点講師 前 伸一

2024年3月12日

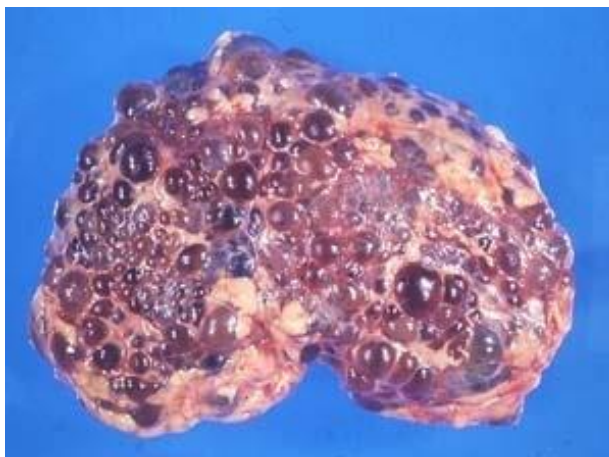
# 常染色体顕性(優性)多発性嚢胞腎(ADPKD)

## ◆ ADPKD:

両側の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

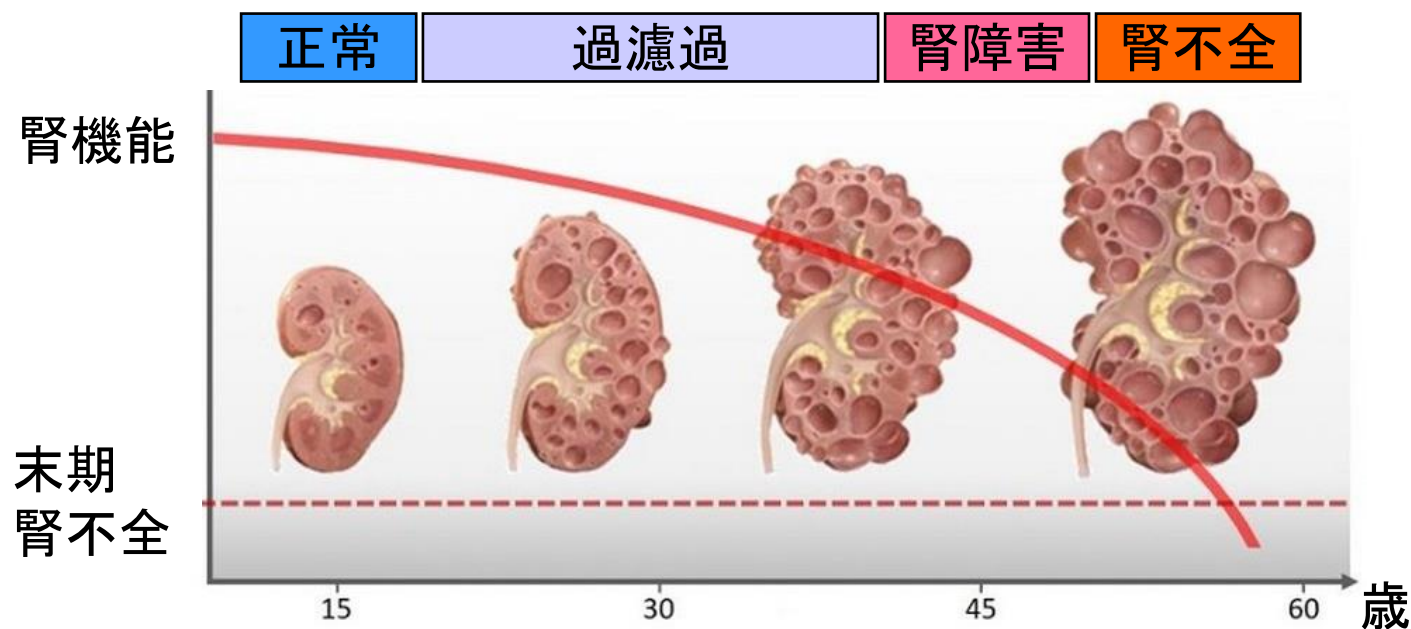
- 厚生労働省の指定する難病
- 患者総数は本邦約3.1万人、欧州約20万人、米国約12万人
- 約4,000人に1人が発症すると推定されている
- 単一の遺伝子の異常で生じる疾患(monogenic disorder)として最多

ADPKD患者腎臓



(写真提供 虎の門病院 乳原 善文 先生)

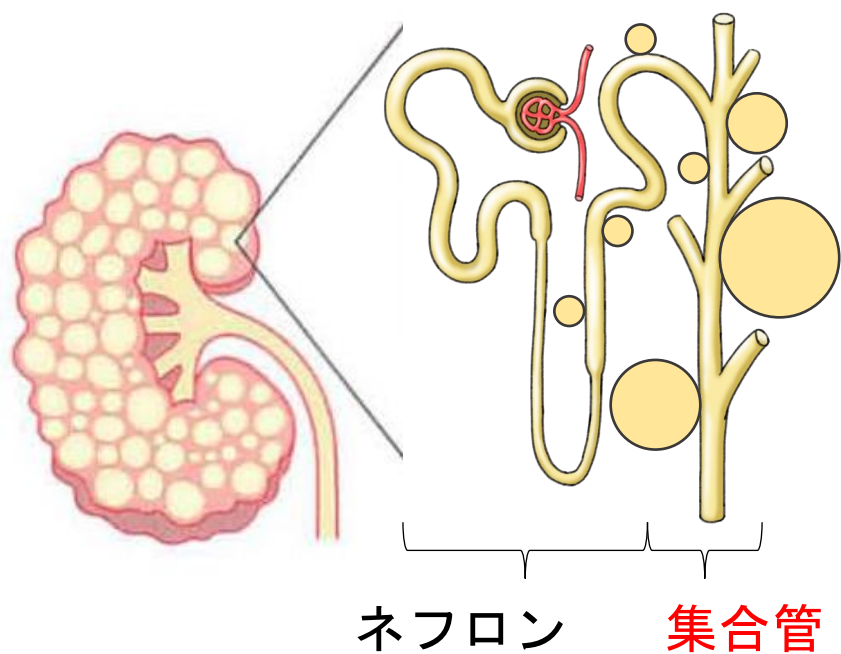
# 60歳までに約半数の患者が末期慢性腎不全となる



両側の腎臓に生じた多数の嚢胞が年齢と共に数が増えて大きくなる  
嚢胞増大により腎機能が低下し、透析療法が必要となる

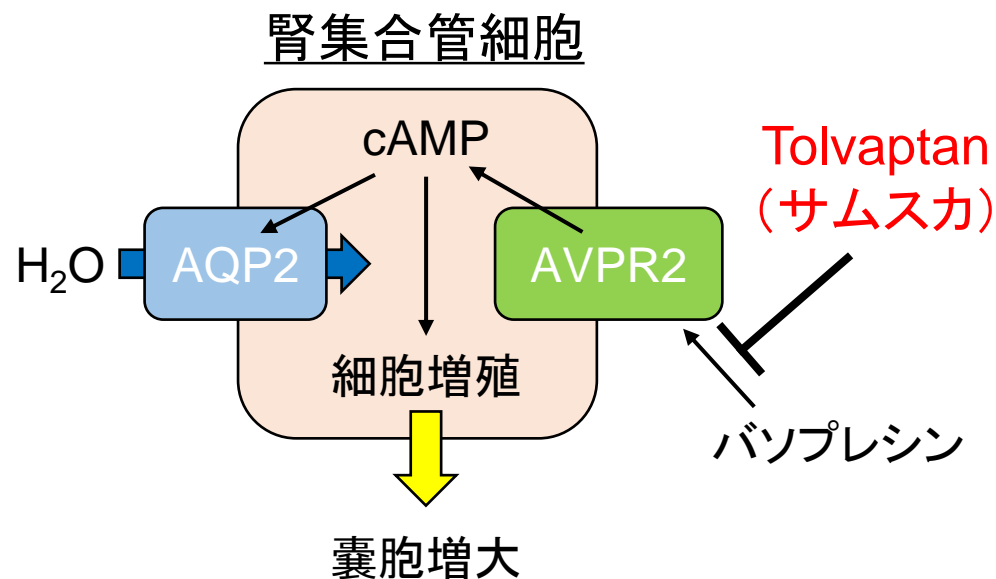
根本的な治療法はない

# トルバプタンが唯一の薬物治療の選択肢



嚢胞の大部分は**集合管**に由来する

原因遺伝子は**PKD1**(85%)と**PKD2**(15%)



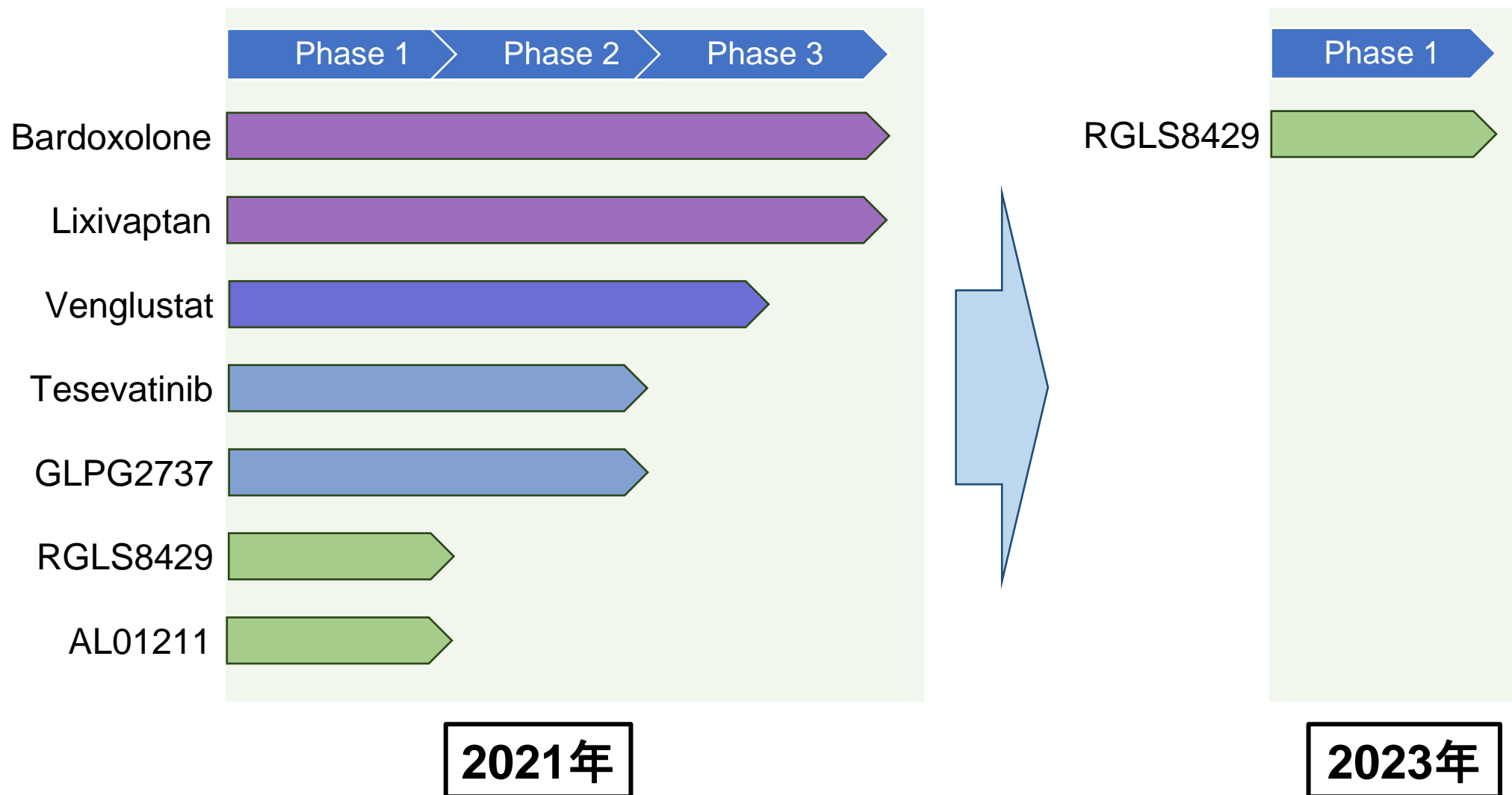
## Tolvaptan(サムスカ)

ADPKDに対する唯一の承認薬

水の再吸収による細胞内cAMP濃度上昇を抑え、  
腎機能低下を遅らせる

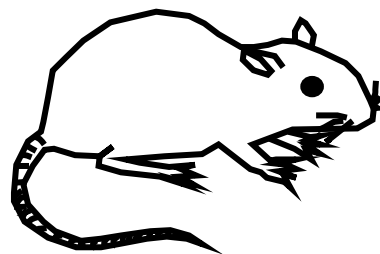
**多尿**になり、**高ナトリウム血症**の恐れがある  
一部で**重篤な肝毒性**の報告がある

# ADPKD治療薬開発のパイプライン



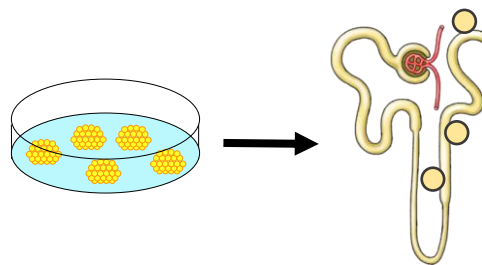
# 従来技術とその問題点

## ADPKDモデルマウス



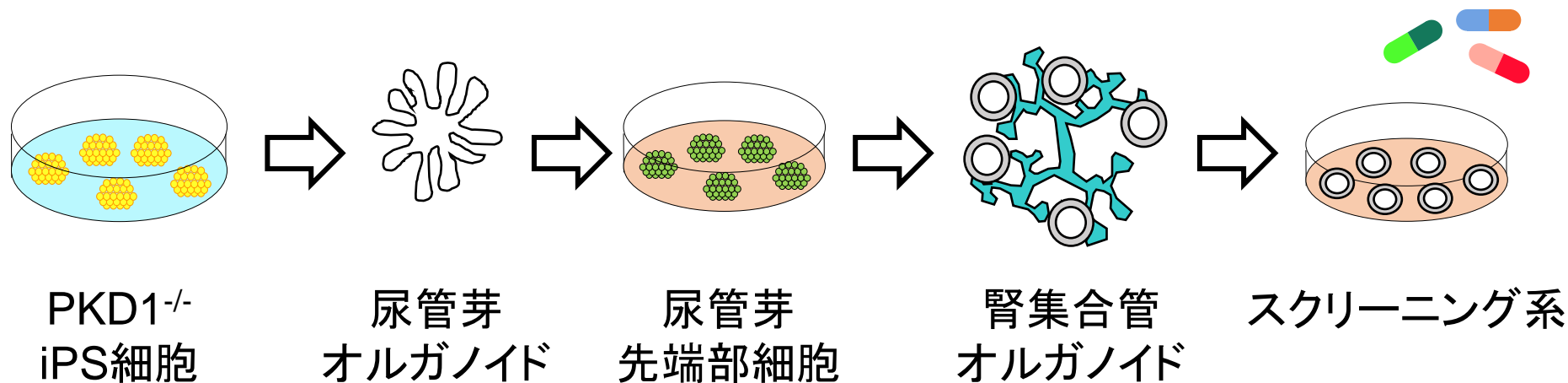
- *Pkd1*ヘテロ変異では嚢胞形成がほとんど起こらない
- 遺伝子数など種間の差がある

## ヒトiPS/ES細胞由来 ネフロンオルガノイド



- 腎集合管での嚢胞形成は再現されていない
- 治療薬候補は同定されていない

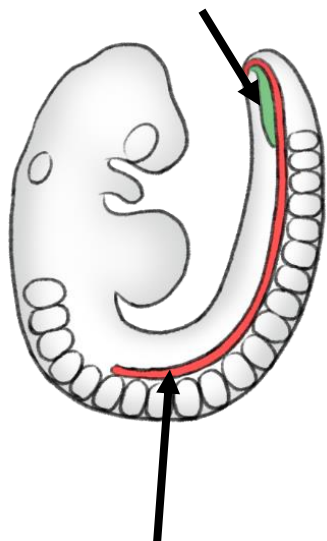
# ADPKD特異的iPS細胞から腎集合管囊胞モデルを開発する



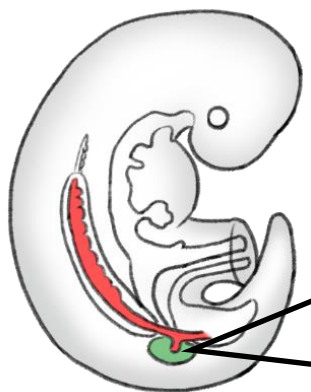
- ① ヒトiPS細胞から腎集合管オルガノイドの作製
- ② ADPKD特異的iPS細胞を用いた腎集合管囊胞モデルの開発
- ③ 囊胞増大抑制化合物の探索と評価

# 腎集合管は尿管芽が分枝を繰り返すことで形成される

後方中間中胚葉



中腎管



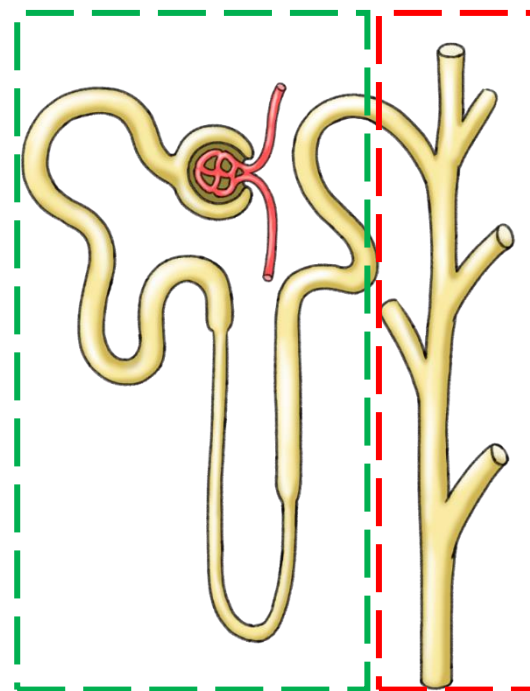
後腎間葉

尿管芽



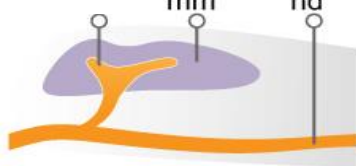
ネフロン

集合管

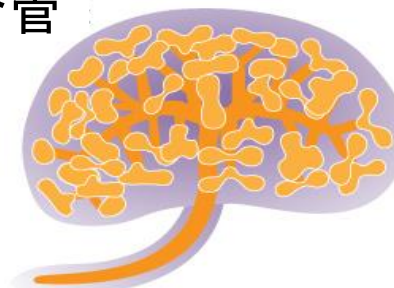
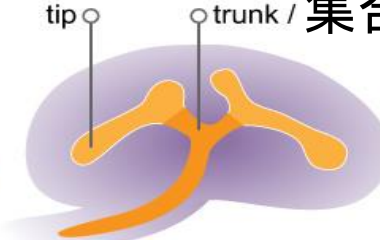


尿管芽の分枝形態形成

尿管芽

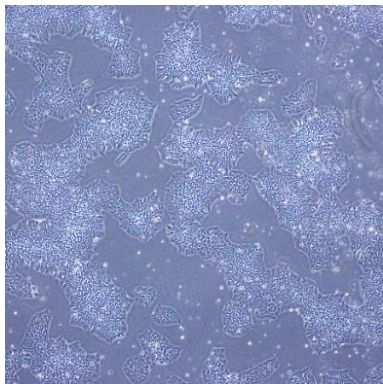


tip trunk / 集合管

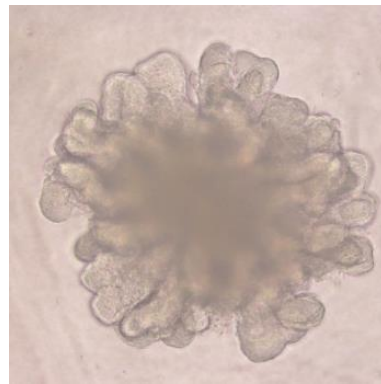
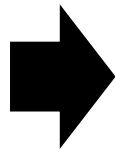




# ヒトiPS細胞から尿管芽オルガノイドの作製

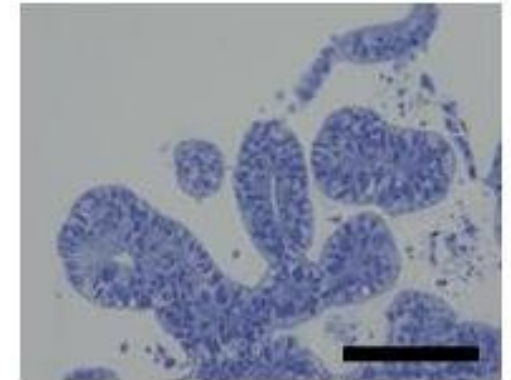
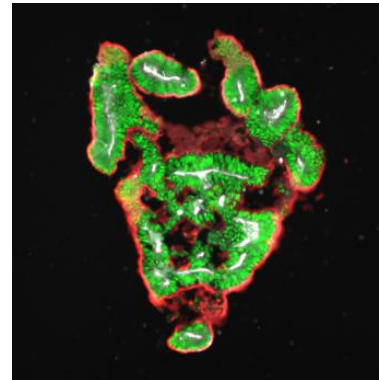


ヒトiPS細胞



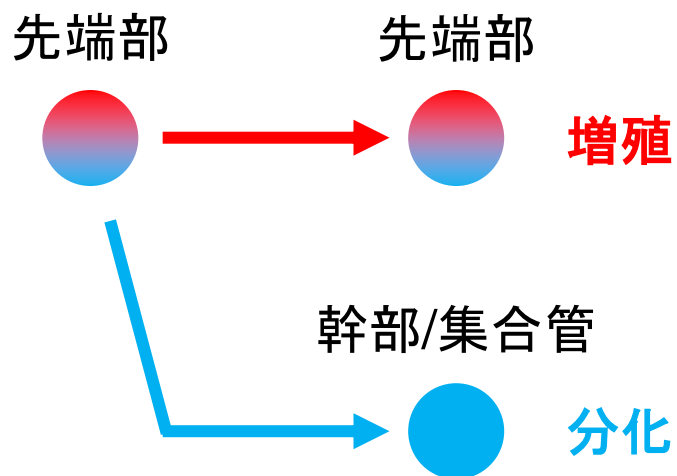
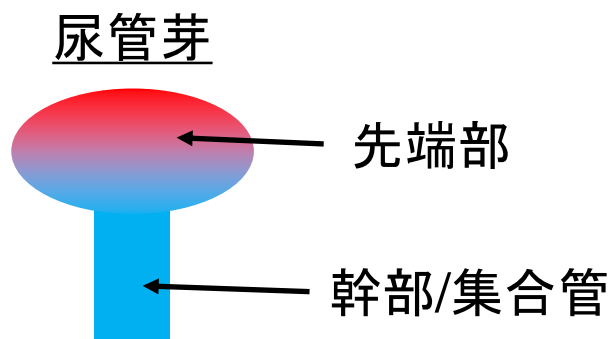
尿管芽オルガノイド

LAMININ  
PAX2 EZRIN

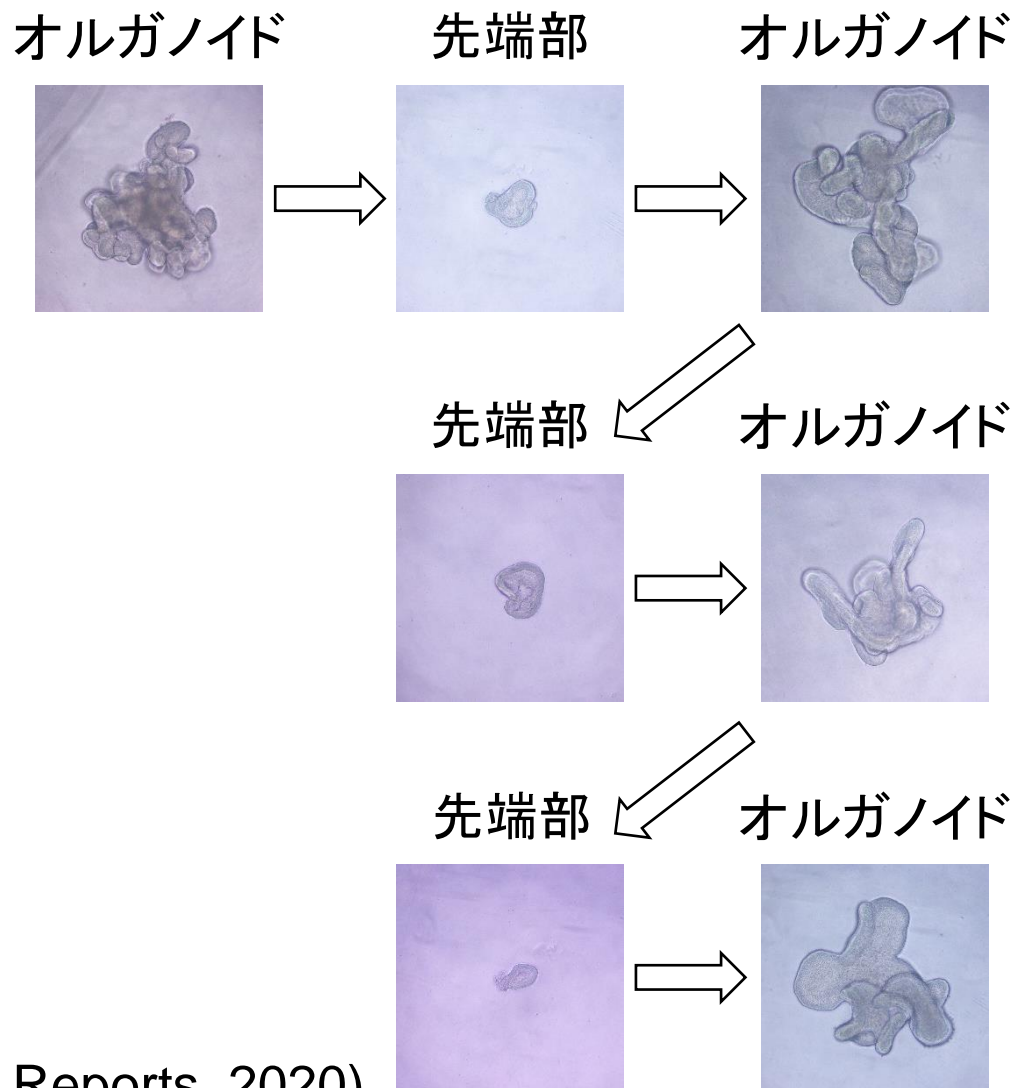


(Mae SI., Cell Reports. 2020)

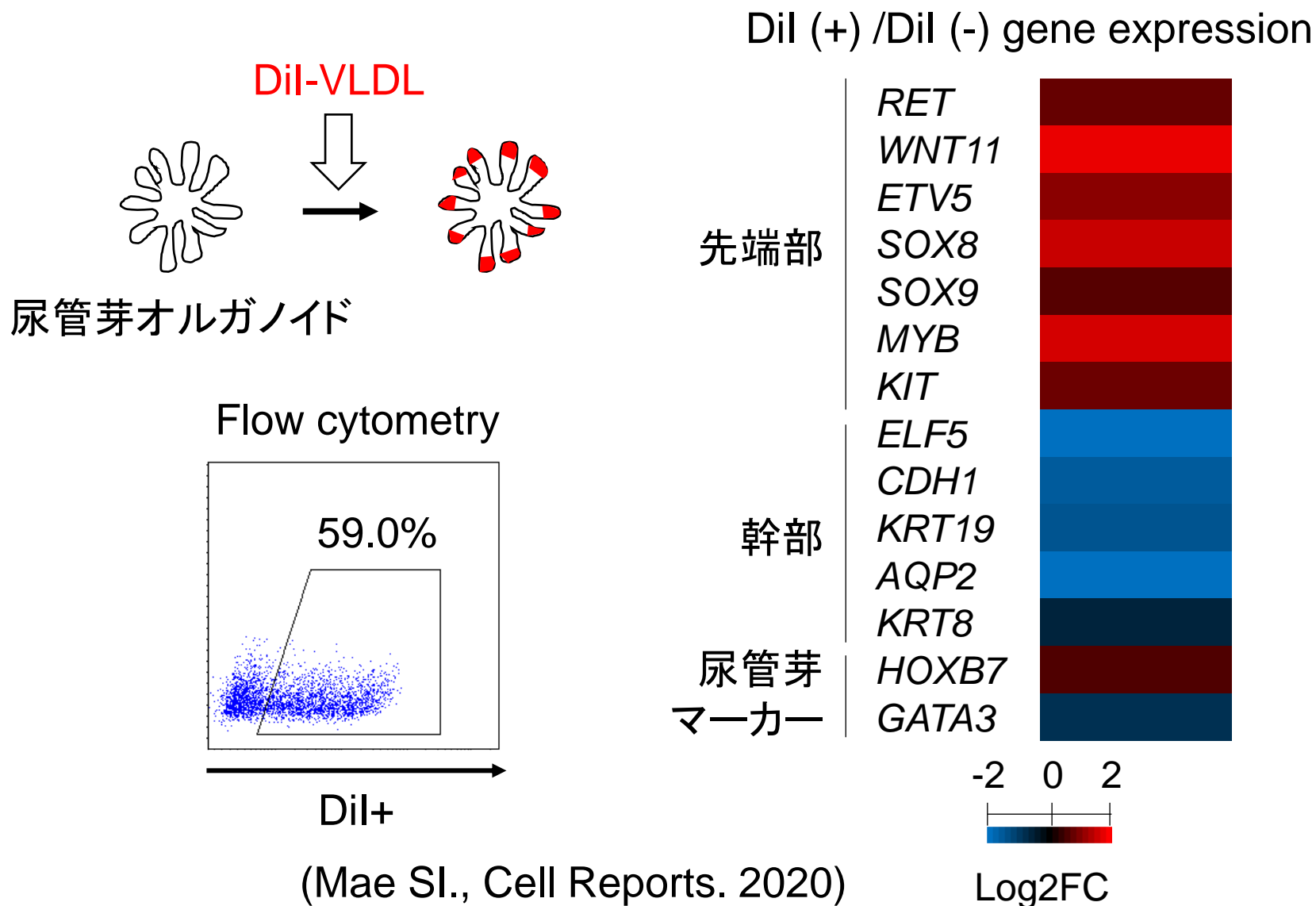
# 尿管芽先端部が組織幹細胞の役割を担う



(Mae SI., Cell Reports. 2020)

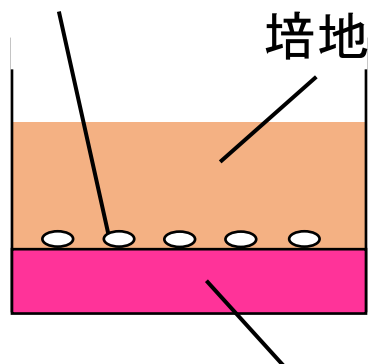


# VLDL取り込みにより尿管芽先端部細胞を単離した



# 尿管芽先端部細胞コロニー作製法を開発した

尿管芽先端部細胞

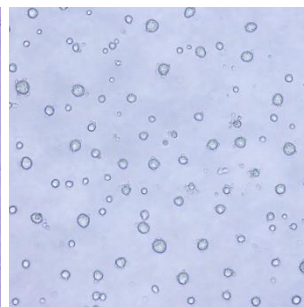


50% マトリゲル

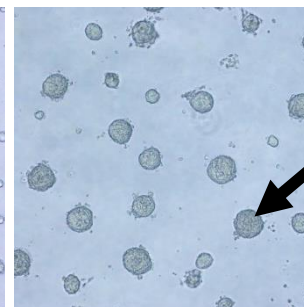
0日目



3日目



7日目

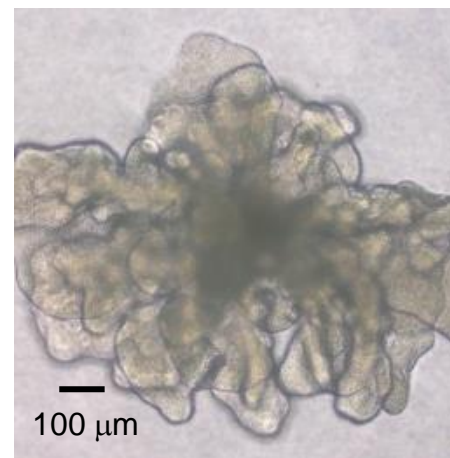
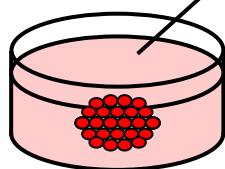


尿管芽先端部細胞  
コロニー

尿管芽先端部細胞  
コロニー

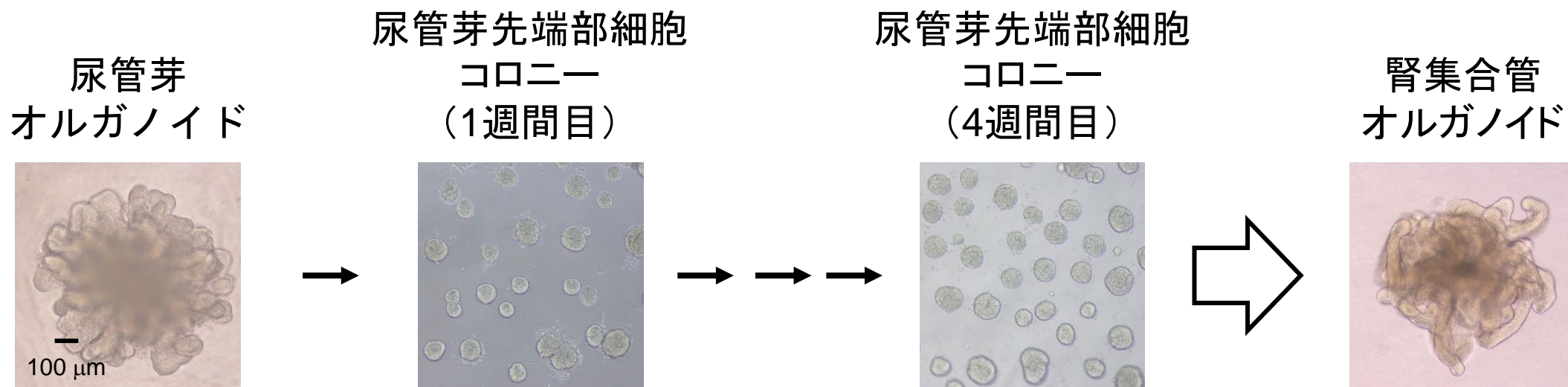


尿管芽オルガノイド  
培地



(Mae SI., Cell Reports. 2020)

# 尿管芽先端部細胞コロニーの拡大培養法を開発した

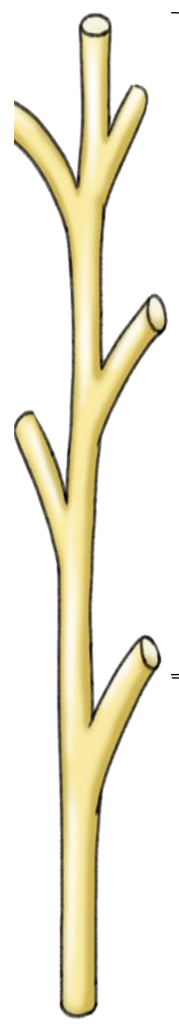


(Mae SI., Cell Reports. 2023)

# 拡大培養により発生分化段階が進行する

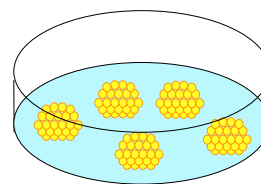
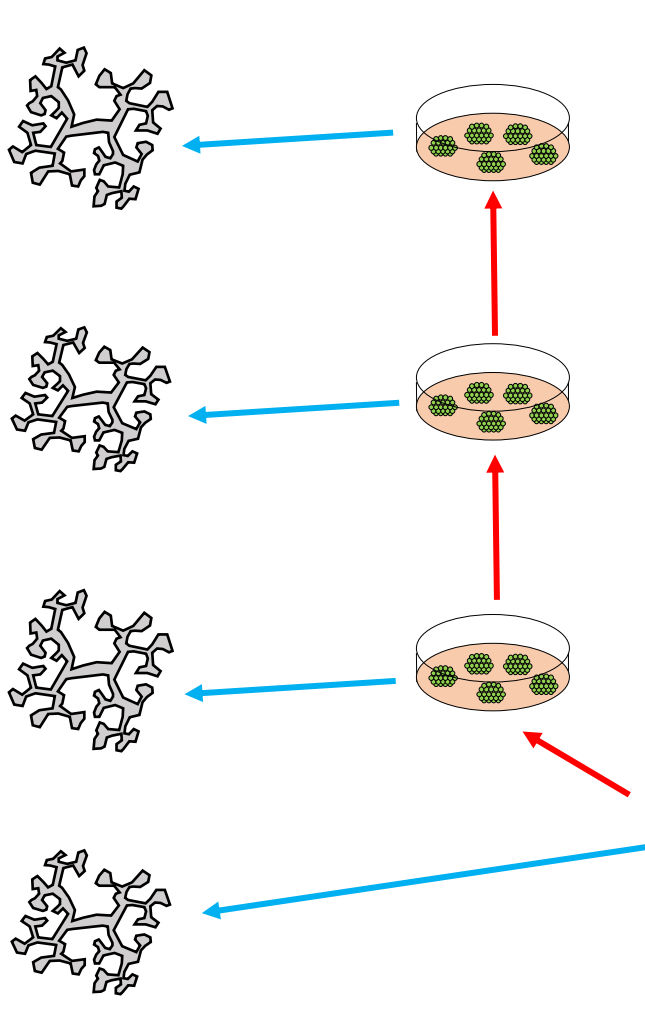
腎集合管

腎集合管オルガノイド

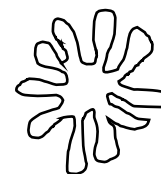


皮質

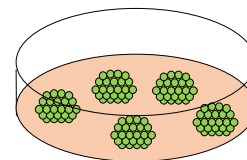
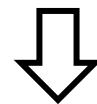
髄質



ヒトiPS細胞



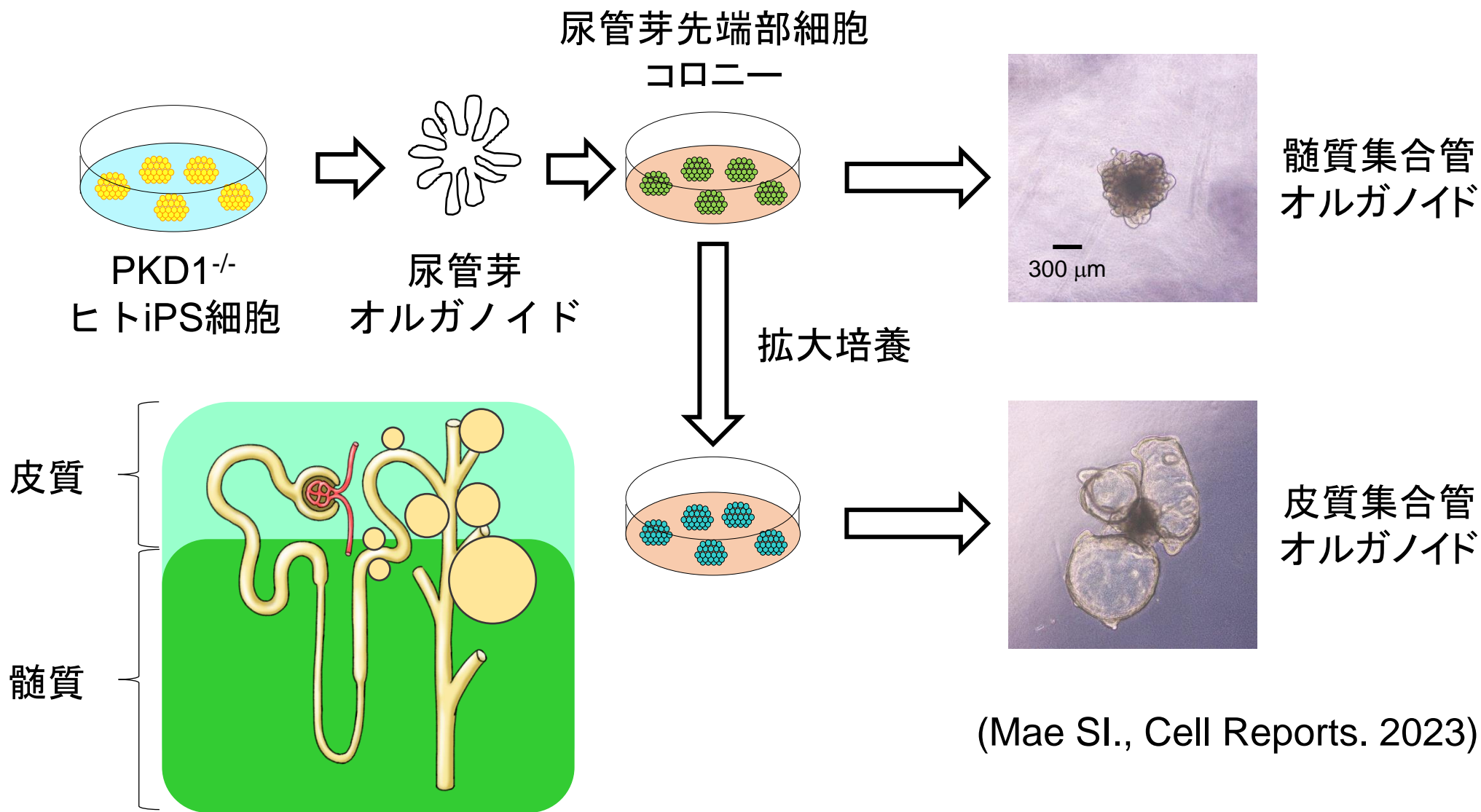
尿管芽オルガノイド



尿管芽先端部細胞  
コロニー

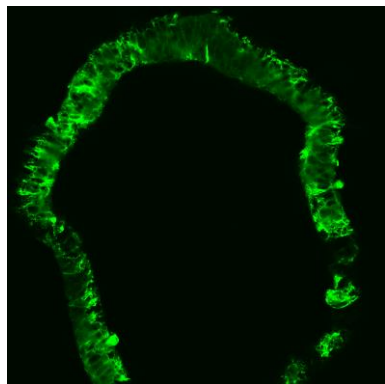
(Mae SI., Cell Reports. 2023)

# ADPKDの腎集合管囊胞形成を再現した

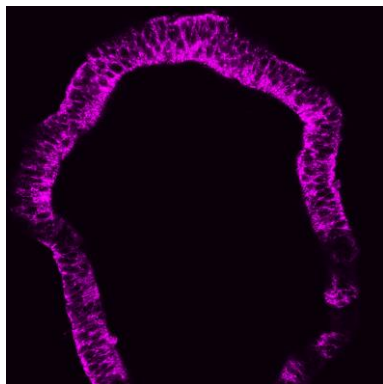


# 嚢胞では繊毛関連遺伝子の発現が変化する

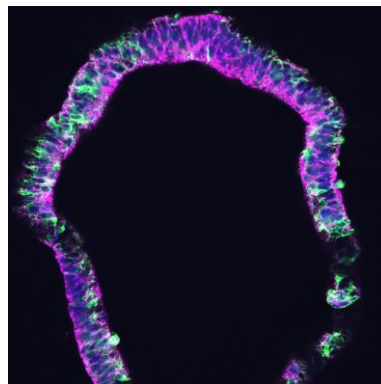
AQP2



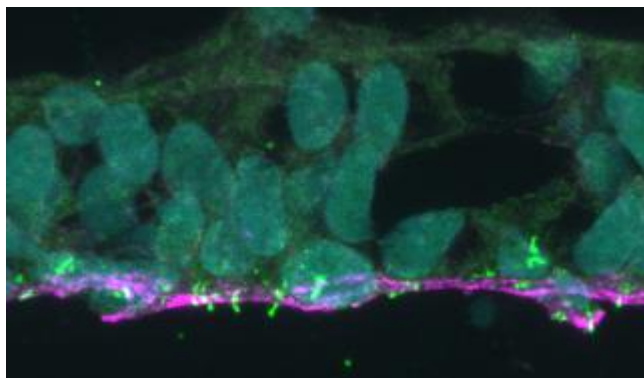
AVPR2



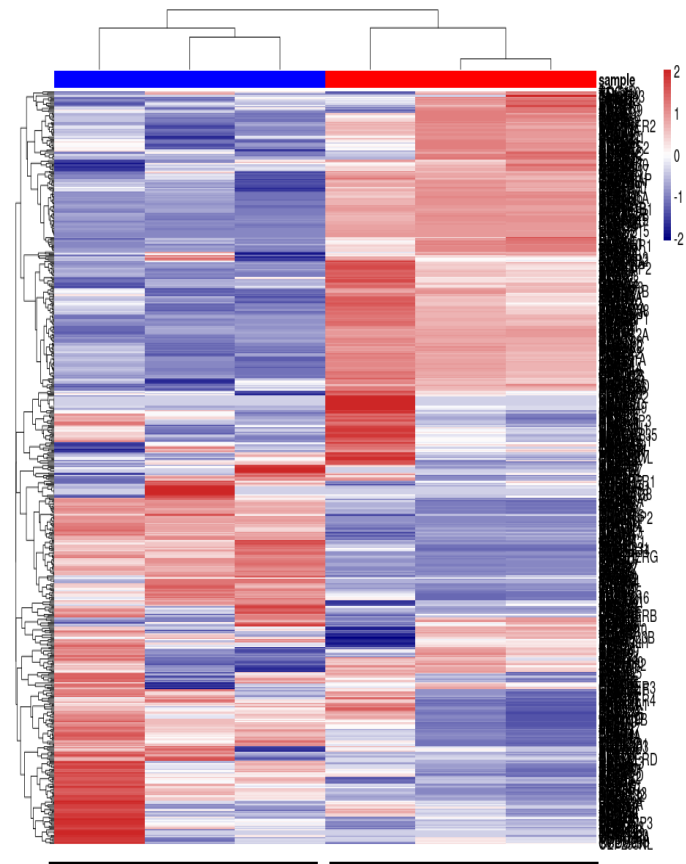
AQP2 AVPR2 核



ARL13B(繊毛) EZRIN(頂端部) 核



Gene list:  
cilium\_GO\_0005929



PKD1<sup>+/+</sup>

PKD1<sup>-/-</sup>

(Mae SI., Cell Reports. 2023)



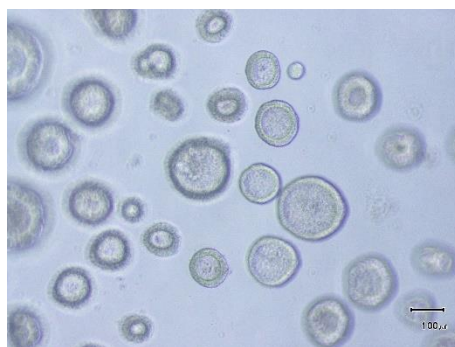
# トルバプタンによる嚢胞増大抑制効果を評価した

腎集合管嚢胞モデル



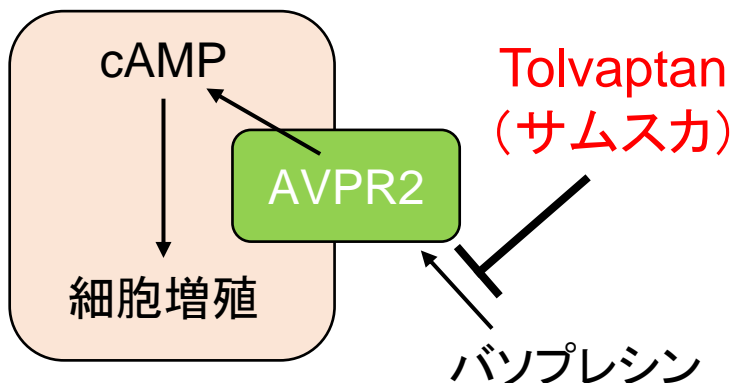
10日

1継代目

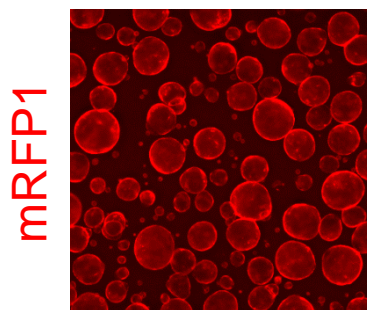


10日 10日

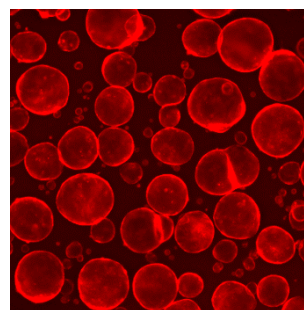
3継代目



AVPなし

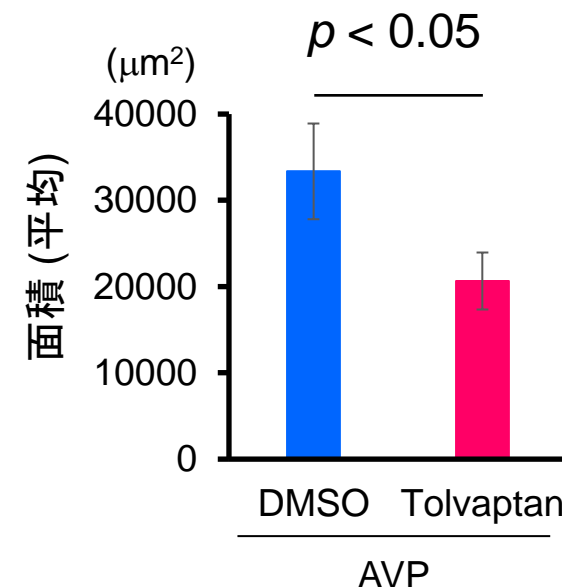


AVPあり



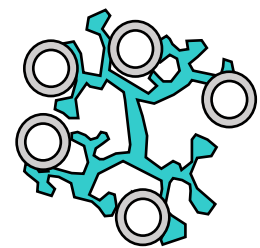
mRFP1

AVP : arginine vasopressin

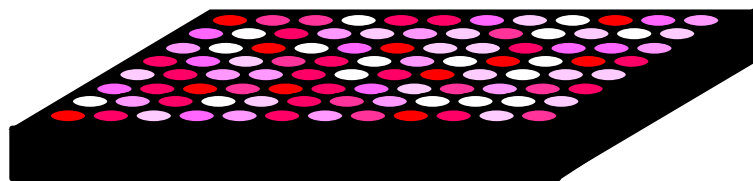


(Mae SI., Cell Reports. 2023)

# 新規iPS創薬プラットフォームを開発した



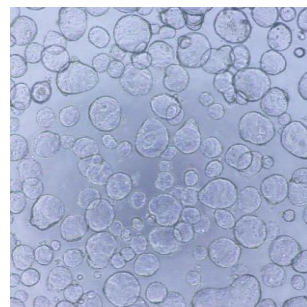
腎集合管  
オルガノイド



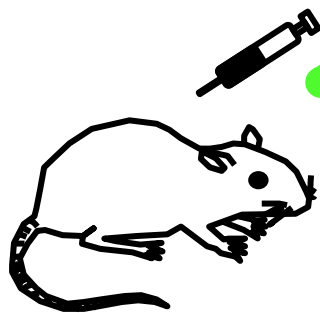
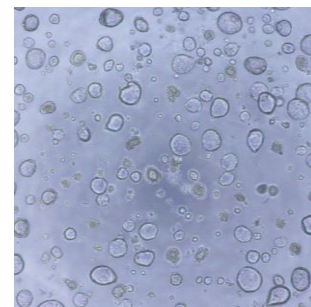
高速スクリーニング



溶媒  
コントロール



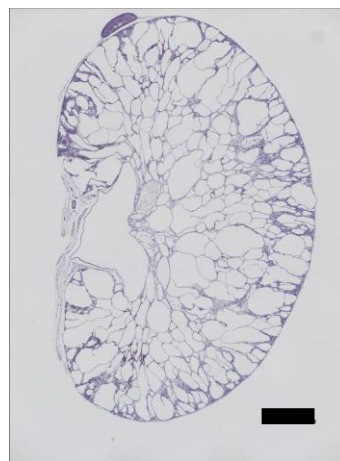
レチノイン酸



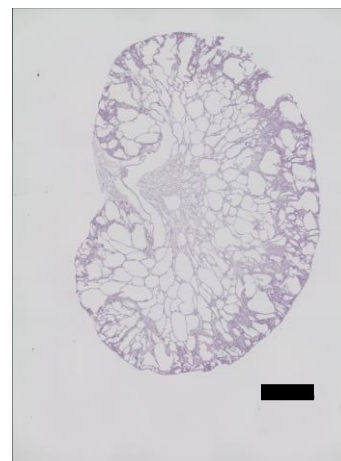
レチノイン酸

ADPKDモデルマウス  
*Pkd1<sup>flox/flox</sup>: Ksp-Cre*

溶媒  
コントロール



レチノイン酸



(Mae SI., Cell Reports. 2023)

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- ヒトiPS細胞から尿管芽先端部細胞のコロニーを作製し、発生分化段階を進める拡大培養法を開発した。
- ADPKDの病態進行に大きく関わる腎集合管嚢胞形成を再現するモデルを開発した。
- 従来モデルでは評価できなかったADPKDに対する唯一の承認薬であるトルバプタンの効果を検証することが可能となった。

## 想定される用途

- ・ 本技術を用いて開発した新規iPS創薬プラットフォームにより、有効な治療薬探索が可能となる。
- ・ 上記以外に、治療薬候補の正確な薬効・薬理評価を行うことも可能である。
- ・ 新規の治療標的となる病態関連分子の探索へ応用することも望まれる。

## 実用化に向けた課題

- 現在、尿管芽先端部細胞の凍結保存法について開発済み。しかし、実用化に向けた嚢胞細胞の凍結保存法は開発できていない。
- 今後、異なる遺伝的背景を有するADPKD特異的iPS細胞から高効率に嚢胞形成を行う技術を開発し、治療薬候補の薬効評価を行う。

## 企業への期待

- 未解決の嚢胞細胞の凍結保存法については、細胞凍結保存液の開発により克服できると考えている。
- ADPKDに対する遺伝子治療法開発のため、ウイルスベクター等による遺伝子導入技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、ADPKDに対する新規治療薬を開発中の企業に、本技術の導入を期待したい。

## 企業への貢献、PRポイント

- 本技術によりADPKDに対する治療薬候補のヒトにおける薬効・薬理評価が可能のため、治療薬開発におけるPOC取得で企業に貢献できると考えている。
- 本技術の導入にあたり必要なフェーズビリティスタディを行うことで科学的な裏付けをすることが可能。
- 本格導入に当り、嚢胞モデル作製の技術指導を行うことが可能。

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 嚢胞構造を有する人工集合管オルガノイド
- 出願番号 : PCT/JP2022/016274,  
特願2023-511523
- 出願人 : 国立大学法人京都大学
- 発明者 : 前伸一、長船健二



# お問い合わせ先

京都大学iPS細胞研究所  
医療応用推進室

T E L 075-366-7197

e-mail [cira-chizai@cira.kyoto-u.ac.jp](mailto:cira-chizai@cira.kyoto-u.ac.jp)