

Yamaton K Project, collaborating with Jikei Medical University & Meiji University

Eiji Kobayashi

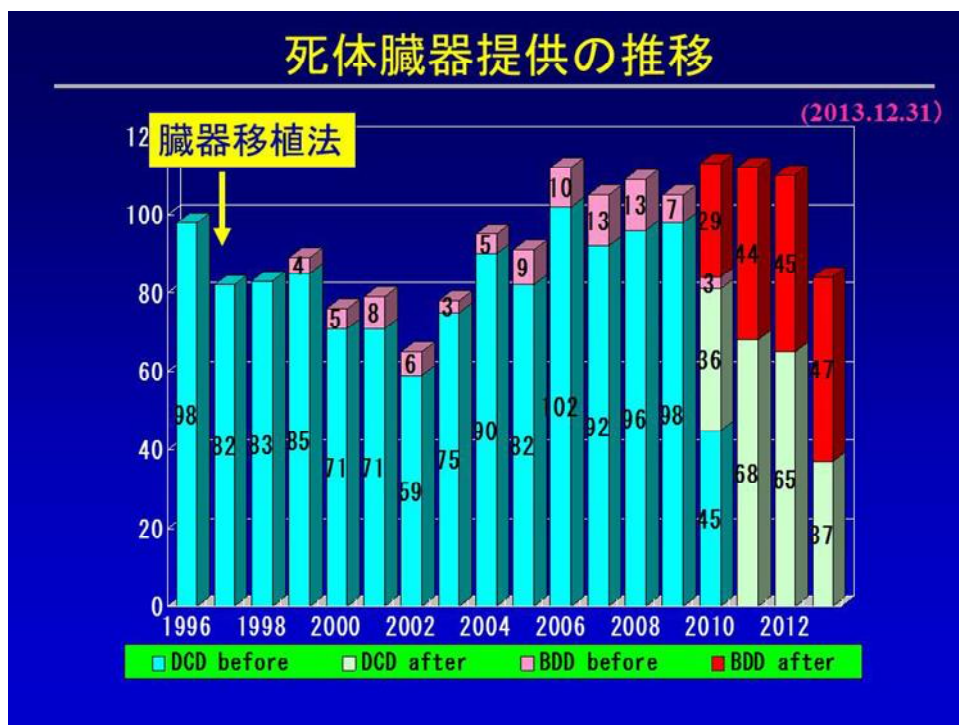
Department of Organ Fabrication Kio University School of Medicine,

背景

現在、我が国における末期腎不全治療は、血液透析、腹膜透析、そして腎移植の3本の柱からなる。諸外国に比べ血液透析が多く、医療経済的観点から問題が指摘されているが、腎移植自体も生体ドナーからの移植に依存しておりその体制は十分とは言えない。

著者は、2005年厚労科学 特別研究事業「渡航移植の実態把握及びリスク解析に関する調査研究」を行ない、我が国の腎不全に悩む患者が海外で非倫理的移植に巻き込まれている現状を報告した。この日本移植学会を中心としたアカデミアの活動は、国際移植学会 (TTS) ならびに国際腎臓病学会 (ISN) と協力して、2008年臓器売買や渡航移植に反対する国際宣言であるイスタンブール宣言の一翼をになった。そして2009年の我が国の臓器移植法案改正に大きく影響した。しかし、その後、脳死移植の普及と生体ドナーの安全性のさらなる向上に注力される一方で、献腎 (心停止後腎移植) 数が極端に減っている状態である (図)。

したがって本方面での研究の方向は、心停止ドナーから腎臓が摘出された場合に、その善意に最大限こたえることが重要である。すなわち、いかなる場合でも摘出した腎臓が、安全に移植できるようにすることである。



心停止ドナーの善意を生かす最大なる努力

著者は、心停止腎臓を移植に全てを使う考え方として、新しい方法論を提唱してきた(図)。

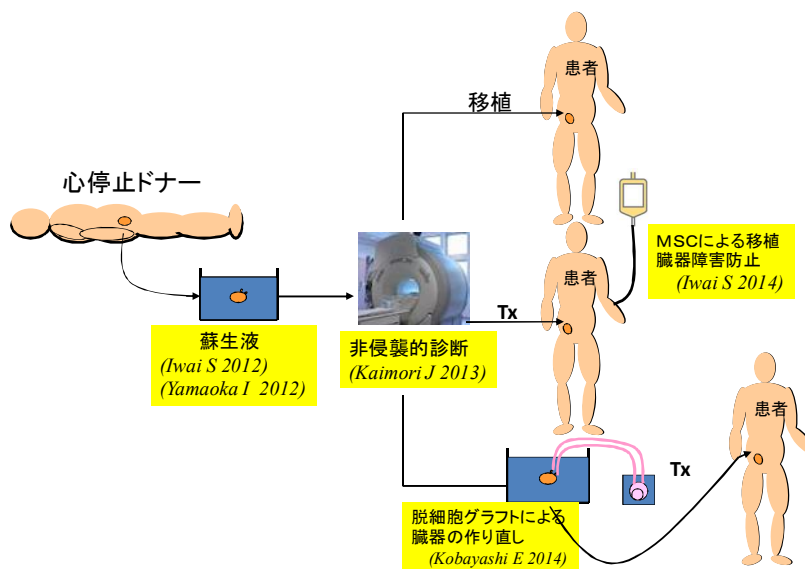


図1 心停止ドナーからの腎臓移植を推進するための提案プロトコール

心停止ドナーの臓器は、極度の低酸素状態に陥り、内在するATPの枯渇が生じている。従来の低温保存法では、臓器を摘出した時点でそのバイアビリテーの低下速度を落とすのみで、改善の方向に転じ得ない。近年、臨床において心停止臓器を移植まで常温化（20度以上）させる試みがなされ始めた（Hosgood 2011）。著者はラットモデルを用いて、保存液の温度は20-22度での維持では、トレハロース含有の細胞外液型保存液が適すること（Iwai S, 2012）、また保存液のバブリングによる酸素化は活性酸素が発生するため有害であり、ヘモグロビンなどの酸素運搬体が必須であることを示した（Yamaoka I, 2012）。そして、マージナルとなった移植候補となりえる腎臓は、MRIによる非侵襲的画像診断法で、移植後の予後を判定できることを明らかにした（Kaimori J, 2013）。さらに間葉系幹細胞を追加移植することで移植されたマージナル腎臓の機能改善される可能性（Iwai S, 2014）、さらに還流式脱細胞法を用いて死細胞となった腎臓の細胞外マトリックスを作り、これに新たに作製したヒトの腎臓細胞を充填する研究を展開している（Kobayashi E, 2014）。

全く新しい腎臓を作り上げる

新たに人腎臓を作り出すプロジェクトを Yamaton K と称して、慈恵医科大学の横尾教授、明治大学の長嶋教授らと10年の歳月をかけて進めてきた。ここで言う Yamato とは日本の古い名称、大和で、ton とは、日本語でブタの意味である。Kとは Kidney の頭文字である。



(2014年 チームYamaton K)

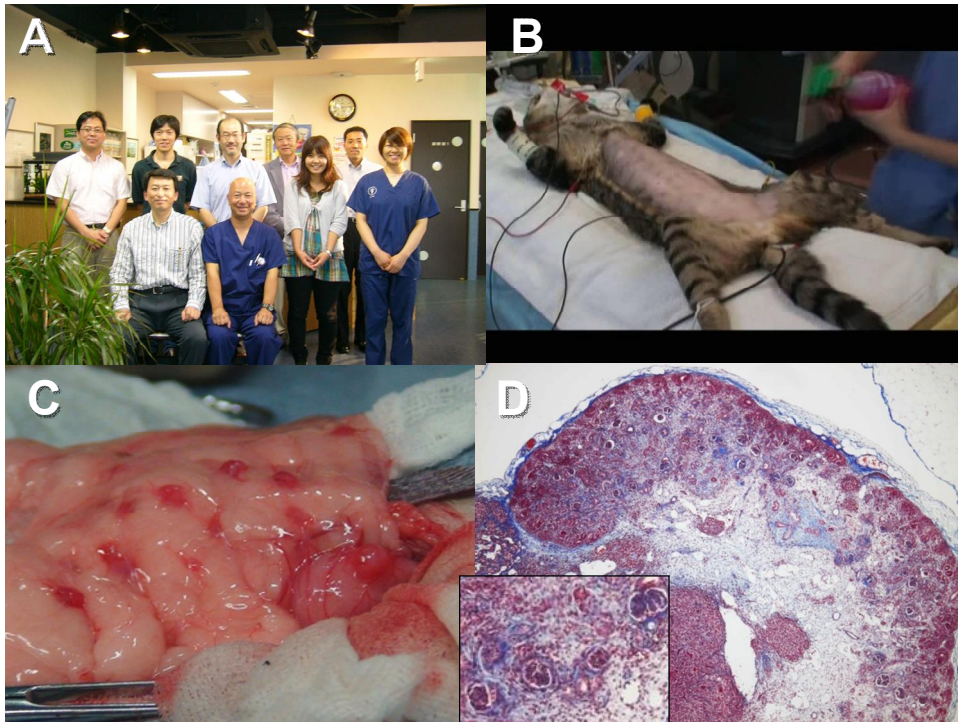
胎児の臓器が出来上がる仕組みを理解してそれを利用する

この原理を理解する手法として動物の胎児に人の幹細胞を打ちこんでキメラ臓器ができる現象がある。In vivo bioreactor（動物工場）と呼ばれている。すなわち免疫機能ができていないうちにヒト幹細胞等を異種動物の胎仔に打ちこみ、動物胎仔の発育過程を利用してヒト幹細胞の臓器への分化を誘導する手法である。古くは Mackenzie らが、ヒト MSC を羊の胎仔に経子宮的に注入して分化誘導かけて仕事がある（Mackenzie 2001）。この動物胎仔へのヒト MSC 注入し腎臓のオルガノイドを作製させる手法は、Yokoo らの人工子宮装置実験で直接証明された（Yokoo T, 2005）。さらに最近では Nakauchi らによる胚盤胞置換術により異種動物の受精卵へiPS/ES細胞を打ちこむことと異種動物側の腎臓発生に関わる遺伝子（この場合は Sall 1）をノックアウトすることで打ちこまれる幹細胞側の遺伝子が補完し、臓器発生する研究が小動物でなされた（Usui 2012）。本手法は、現在のところ動物—ヒト間の胚を作製しなければならないことから倫理的問題を整理する必要が求められている。

次に、出来上がりつつある臓器の芽を患者に移植し、患者の中で育て上げる治療法が注目される。Organ Bud Transplantation（臓器の芽の移植）という、ヒト臓器の芽を試験管で作り上げ、これを患者に移植して患者体内で育て上げようとする手法である。Osafune らは、マウスの胎仔腎臓細胞とヒト iPS 細胞から誘導した中間中胚葉細胞の共培養からヒト遠位尿管を作り上げた（Mae, 2013）。また Nishinakamura らはヒト iPS 細胞から体軸幹細胞、さらに腎臓前駆細胞作り、この細胞とマウスの胎仔脊髄を接触培養することでヒト糸球体と尿管を作った（Sakaguchi, 2013）。いずれの仕事も腎臓発生のメカニズムを明らかにし、3次元の腎臓の構造を作り上げる一歩である。この臓器の芽の移植は、古くは Hammerman らがブタ胎仔を用いて腎臓や膵臓の臓器の芽を使って行なっている（Takeda S, 2006）。

大型動物への挑戦—Yamaton K チームのこれまで

これまで Yokoo らと Kidney Bud Transplantation の実用化のために、非臨床試験を行ってきた。チームは2008年ブタの腎臓原基をネコに移植する実験に着手した。



A : 2008年チーム Yamaton K

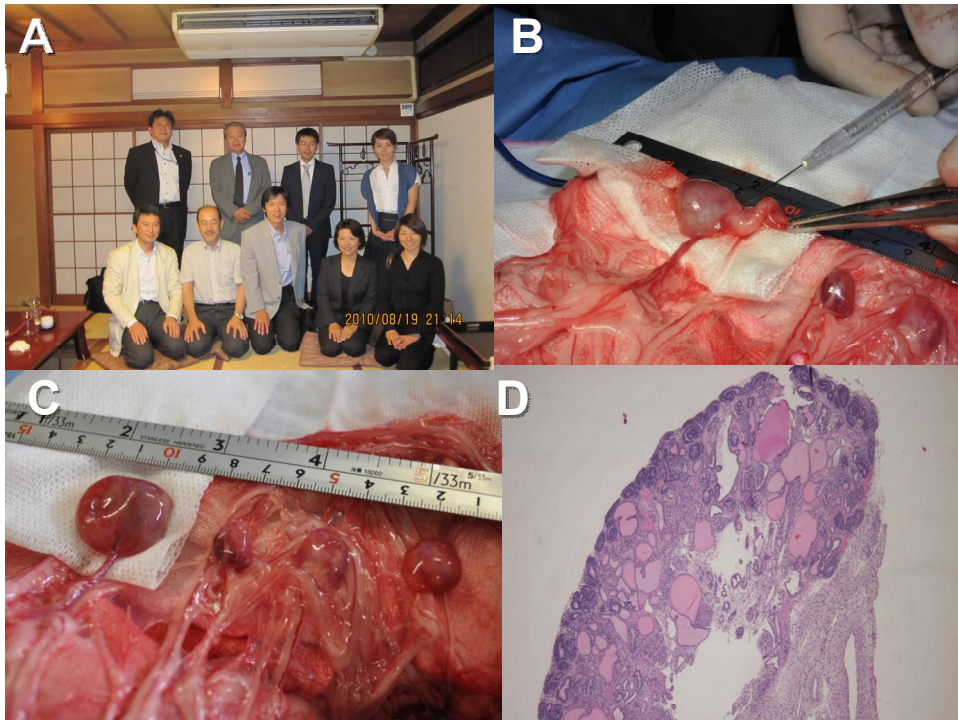
B : 実験ネコへのブタ腎臓原基移植

C : 手術を受けた猫の体網内で発育する腎臓原基

D : 移植1カ月後の移植腎臓原基

患者への応用は、従来の異種移植と同等の手続が必要であるために、むしろペット猫での有効性と安全性の検証を進めた。

2009年には小林は大塚製薬工場の特別顧問となり、大型予算を投じ人を外挿して、ブターブタ間での検証に進んだ。



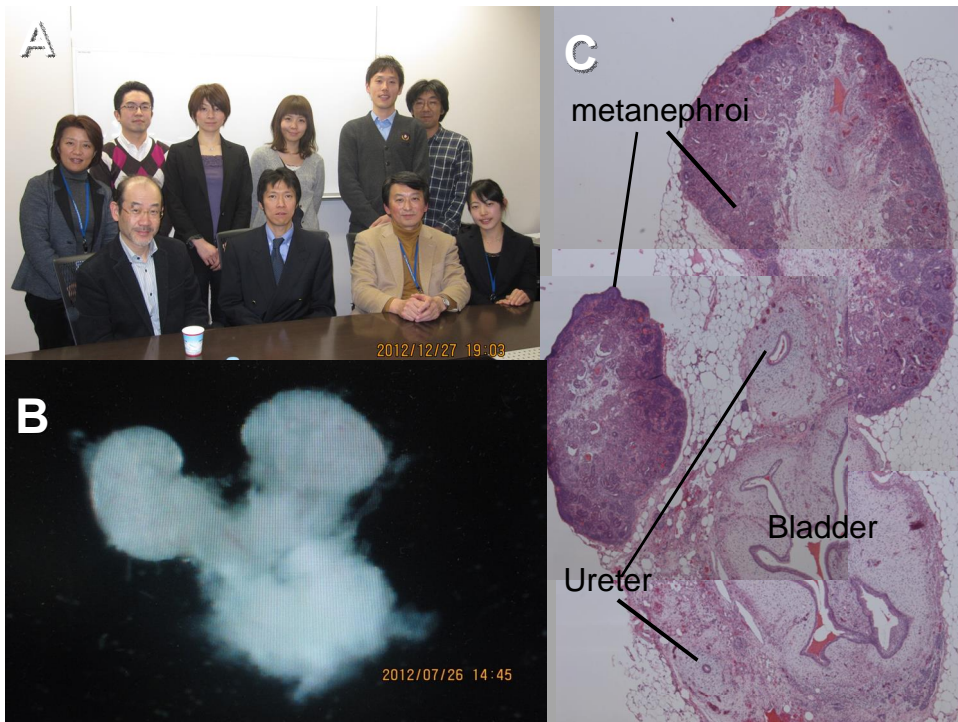
A : 2010年チーム Yamaton K B、C : ブターブタ間での移植で発育し尿を蓄積した腎臓原基 D : 尿の蓄積により水腎症化した移植腎臓原基

免疫制御により腎臓原基は育つことが判明し、尿管を伸ばす移植腎臓原基を得ることができた（上図B）。

一方、動物の腎臓の芽にヒトの体幹細胞である MSC を中に入れてヒトキメラ化を強める手法の研究を進めた。このヒトの MSC を持ったブタの腎臓の芽が患者体内で発育を起こさせるためには免疫抑制薬が一時的に必要であるが、ある程度ヒト幹細胞が腎臓の細胞に分化誘導がかかった段階でブタ組織が薬剤で消滅できれば、完全なヒト化組織が出来上がる可能性を示した（Matsumoto, 2012）。

新たなブレイクスルー

上記の手法での現在の乗り越えなければいけない壁は、腎臓が発育し始め産生される尿を一時的にレザーブできる組織をどのように作るかであった。さらにその尿を本来の尿管と接合して、体外に誘導するルートを作ることであった。2013年それまでの腎臓原基グラフトを膀胱・尿路と一塊にして採取するクロアカグラフトを開発した。A cloaca in zoological anatomy, is known to be the posterior opening that serves as the only such opening for the [intestinal](#), reproductive, and [urinary tracts](#) of certain animal species. また、クロアカ・マキシマ (Cloaca Maxima) は、[古代ローマ](#)の[下水](#)システムの名称である。



A : 2012-3年チーム Yamaton K B : 新開発された豚クロアカグラフト
C : 猫に移植され発育した豚クロアカグラフト

我々は、今このクロアカグラフトを持って腎臓再生の実現の夢にまた一歩進んでいる。