

赤血球造血因子 EPO を産生する細胞の再生に向けた腎間質線維芽細胞の分化系譜の解明

鈴木教郎

東北大学 大学院医学系研究科

【研究の背景】

慢性腎臓病の患者数は世界的に増加の一途をたどっているが、病態が複雑であるため、分子病態の理解が進んでおらず、効果的治療法も確立されていない。また、病態が進行すると人工透析など的高額な腎代替療法が必要となるため、国民医療費高騰の主因となっており、慢性腎臓病の病態解明は世界的に喫緊の課題となっている。一方、腎臓病の慢性期には共通して尿細管間質に筋線維芽細胞が出現し、腎線維化が進行する。そのため、腎線維化の機序解明が慢性腎臓病の理解を進めると考えられているが、適切な解析系が存在せず、分子機序解明は遅れている。筆者らは、線維化腎の筋線維芽細胞は、赤血球造血因子エリスロポエチン(EPO)を産生する腎間質線維芽細胞(REP[renal EPO producing]細胞)に由来することを明らかにした(Souma et al., 2013; Yamazaki et al., 2013; Suzuki et al., 2016)。また、REP細胞の筋線維芽細胞への形質転換は可逆的であることを遺伝子改変マウスを用いた研究から発見し、線維化が治癒しうる可能性を示した。そこで本研究では、独自開発した遺伝子改変マウスや細胞株を活用して、REP細胞の発分化と形質転換の機序を理解し、REP細胞の再生技術確立に繋がる成果を得ることを目指した。

【目的】

REP細胞の発分化および形質転換の機序を明らかにする。

【方法】

筆者らは、神経上皮および神経堤の細胞の一部が一過性にEPOを産生することを発見し、これらの細胞を「NEP(Neural-EPO producing)細胞」と命名した(Suzuki et al., 2013; Hirano and Suzuki, 2019)。そこで、REP細胞とNEP細胞の関連を明らかにするために、NEP細胞の運命追跡およびNEP細胞におけるEPO遺伝子制御機構の解析を行った。また、マウスREP細胞を単離し、単一細胞レベルで網羅的遺伝子発現解析を行い、成体腎臓におけるREP細胞の多様性を実証した。さらに、独自に樹立したREP細胞およびNEP細胞の細胞株(Replic細胞とNeplic細胞)を活用して(Sato et al., 2019; Hirano and Suzuki, 2019)、REP細胞の形質転換機序を解析した。

【結果】

NEP細胞では、REP細胞と共通して、EPO遺伝子発現が低酸素誘導性転写因子HIF2aによって誘導されることを明らかにした(Souma et al., 2016; Suzuki et al., 2018; 論文投稿準備中)。Replic細胞とNeplic細胞の解析からも、両者は類似の分子機序によってEPO遺伝子発現を制御していることが示された。また、REP細胞の形質転換やNEP細胞の分化に伴ったEPO産生能喪失には、ヒストン修飾などのエピジェネティック制御系が関与することがわかった(Sato et al., 2019)。さらに、EPO遺伝子近傍の約180 kbの範囲内に個体レベルのEPO遺伝子発現の制御に必要な配列が含まれていることを示した(Yamazaki et al., 2021)。一方、胎生後期には肝実質細胞がEPOを産生するが、REP細胞は肝実質細胞とは異なる細胞系列であり、肝実質細胞はREP細胞とは異なる分子機構でEPO遺伝子発現を制御していることがわかった。

次に、REP 細胞および筋線維芽細胞の遺伝子発現を単一細胞レベルで解析したところ、健常腎の REP 細胞は複数の細胞集団に細分化化することができ、pseudo-time 解析などから、分画化された亜集団による一連の分化様式が明らかとなった。また、線維化腎の筋線維芽細胞についても同様の解析を行い、形質転換が段階的に進行すること、および優先的に形質転換する REP 細胞亜集団を見いだした。

【考 察】

神経堤の REP 細胞が個体発生過程で REP 細胞に分化する可能性が示された。また、成体の REP 細胞は多様な細胞集団で構成されており、筋線維芽細胞への形質転換などの性質が異なることがわかった。現在、REP 細胞および筋線維芽細胞の各亜集団について、マーカーとなる遺伝子を探索し、その発現様式を *in situ* hybridization により確認している。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

REP 細胞の発生分化系譜と形質転換機序の解明は、線維化腎の再生と臓器線維化機序の解明に繋がる。腎臓病は世界人口の1割以上が罹患しており、社会的問題の一因になっているため、本研究で腎臓病治療や病態理解に直結する基礎的知見を得たことは意義がある。

【参考・引用文献】

- ・ Hirano I and Suzuki N. The neural crest as the first production site of the erythroid growth factor erythropoietin. *Front Cell Dev Biol* 7:105. 2019 (先進医薬研究振興財団への謝辞あり)
- ・ Nezu M, Suzuki N. Roles of Nrf2 in protecting the kidney from oxidative damage. *Int J Mol Sci* 2: 2951. 2020 (先進医薬研究振興財団への謝辞あり)
- ・ Sato K, Kumagai N, Suzuki N. Alteration of the DNA methylation signature of renal erythropoietin-producing cells governs the sensitivity to drugs targeting the hypoxia-response pathway in kidney disease progression. *Front Genet* 10: 1134.2019 (先進医薬研究振興財団への謝辞あり)
- ・ Souma T, Nezu M, Nakano M, Yamazaki S, Hirano I, Sekine H, Dan T, Takeda K, Fong GH, Nishiyama A, Ito S, Miyata T, Yamamoto M, Suzuki N. Erythropoietin synthesis in renal myofibroblasts is restored by activation of hypoxia signaling. *J Am Soc Nephrol* 27: 428-438. 2016
- ・ Souma T, Yamazaki S, Moriguchi T, Suzuki N, Hirano I, Pan X, Minegishi N, Abe M, Kiyomoto H, Ito S, Yamamoto M. Plasticity of renal erythropoietin-producing cells governs fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 24: 1599-1616. 2013
- ・ Suzuki N, Hirano I, Pan X, Minegishi N, Yamamoto M. Erythropoietin production in neuroepithelial and neural crest cells during primitive erythropoiesis. *Nature Commun* 4: 2902. 2013
- ・ Suzuki N, Sasaki Y, Kato K, Yamazaki S, Kurasawa M, Yorozu K, Shimonaka Y, Yamamoto M. Efficacy estimation of erythropoiesis-stimulating agents using erythropoietin-deficiency anemic mice. *Haematologica* 101: e356-e360. 2016 (先進医薬研究振興財団への謝辞あり)
- ・ Suzuki N, Matsuo-Tezuka Y, Sasaki Y, Sato K, Miyauchi K, Kato K, Saito S, Shimonaka Y, Hirata M, Yamamoto M. Iron attenuates erythropoietin production by decreasing HIF2alpha concentrations in renal interstitial fibroblasts. *Kidney Int* 94: 900-911. 2018
- ・ Yamazaki S, Souma T, Hirano I, Pan X, Minegishi N, Suzuki N, Yamamoto M. A mouse model of adult-onset anaemia due to erythropoietin deficiency. *Nature Commun* 4: 1950. 2013
- ・ Yamazaki S, Hirano I, Kato K, Yamamoto M, Suzuki N. Defining the functionally sufficient regulatory region and liver-specific roles of the erythropoietin gene by transgene complementation. *Life Sci* 269:119075. 2021 (先進医薬研究振興財団への謝辞あり)