

京都大学	博士 (医学)	氏 名	金子 恵一
論文題目	Lineage tracing analysis defines erythropoietin-producing cells as a distinct subpopulation of resident fibroblasts with unique behaviors (系譜追跡実験により、エリスロポエチン産生細胞はユニークな挙動を示す線維芽細胞の亜集団として定義される)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景・目的】エリスロポエチン (Epo) は腎臓から産生され、骨髄に作用して赤血球産生を促す造血ホルモンである。健康な腎臓の間質に存在する線維芽細胞のごく少数が Epo を産生する。貧血などの低酸素状況ではより多くの細胞が Epo を産生することから、Epo 産生細胞は持続的に Epo を産生するのではなく状況に応じて Epo 産生を on-off で制御していると考えられる。Epo 産生細胞を他の線維芽細胞と区別する特異的マーカー分子が同定されていないため、Epo 産生細胞が線維芽細胞の特殊な亜集団であるのか、それともすべての線維芽細胞に Epo 産生能があるのか、また、腎障害時に Epo 産生能を失った Epo 産生細胞がどのような挙動を取るのかは不明であった。そこで、本研究では、任意の時点で Epo 産生細胞を標識する <i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスを作製し、Epo 産生細胞の挙動の解析を行った。</p> <p>【方法】マウスの Epo 遺伝子座に <i>Cre^{ERT2}</i> 遺伝子をノックインすることで <i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスを作製した。最初に <i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスが正しく Epo 産生細胞を標識することを検証し、次に健康な腎臓における <i>Epo^{CreERT2/+}</i> 標識細胞の挙動を解析した。最後に一側尿管結紮による腎障害モデルを惹起して、障害腎における Epo 産生細胞の挙動を解析した。</p> <p>【結果】<i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスと <i>Rosa26-tdTomato</i> マウスを交配し、その仔を用いて実験を行った。貧血を惹起して Epo 産生を活性化しながら tamoxifen を投与して組み換えを誘導した。標識細胞は Epo mRNA 発現細胞と同様に、腎臓の皮髄境界に集簇して存在する少数の線維芽細胞であることが確認され、貧血の重症度に応じてその数が増加した。<i>Cre</i> mRNA 発現細胞に占める Epo mRNA 発現細胞の割合は $84.3 \pm 16.4\%$ であり、Epo 発現細胞で <i>Cre</i> が発現していることが確認できた。これらの結果から、<i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスが Epo 産生細胞特異的に組み換えを惹起することを確認した。</p> <p>次に組み換え誘導直後と、5 週間後、16 週間後のタイミングで貧血を惹起して標識細胞が Epo 産生能を有しているかの解析を行った結果、いずれのタイミングでも標識細胞の約半数が Epo mRNA を発現していた。この結果、標識細胞が高い Epo 産生能を維持し、繰り返し Epo を産生することが示された。さらに、同マウスに一側尿管結紮モデルによる腎障害を惹起した結果、標識細胞は myofibroblast に形質転換し、Epo 産生能を喪失した。標識細胞は障害腎で顕著に増殖し、線維芽細胞に占める標識細胞の割合は障害前の $1.9 \pm 0.8\%$ から $9.2 \pm 2.4\%$ に大きく増加した。さらに、尿管結紮の解除に伴い、腎障害が改善すると標識細胞の Epo 産生能が回復した。</p> <p>【結論・考察】<i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスを作製し、Epo 産生細胞の系譜追跡を行った。Epo 産生細胞は健康な腎臓で繰り返し Epo を産生する一方、障害された腎臓では Epo 産生能を失い myofibroblast に形質転換して増殖した。また、腎障害の改善に伴い、同細胞の Epo 産生能は回復した。以上の結果から、Epo 産生細胞は線維芽細胞の特殊な亜集団であり、高い可塑性を持つことが明らかになった。今回我々が確立した <i>Epo^{CreERT2/+}</i> マウスは Epo 産生細胞の挙動の解析に有用であり、腎性貧血の機序の解明や新規治療薬の開発につながることを期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

エリスロポエチン(Epo)は腎臓の線維芽細胞で産生され造血を促すホルモンであり、腎障害に伴い、その産生が低下することで腎性貧血をきたす。しかしながら、Epo 産生細胞の特異的マーカーが同定されていないため、Epo 産生細胞が線維芽細胞の特殊な亜集団であるのか、それともすべての線維芽細胞に Epo 産生能があるのか、また、腎障害時に Epo 産生能を失った Epo 産生細胞がどのような挙動を取るのかは不明であった。

本研究では任意の時点で Epo 産生細胞を標識する *Epo^{CreERT2/+}* マウスを作製し、健康腎臓と障害腎における Epo 産生細胞の挙動を解析した。まず *Epo^{CreERT2/+}* マウスが Epo 産生細胞を正しく標識すること、標識細胞は全線維芽細胞の約 2% にすぎないことを確認した。さらに、健康な腎臓では、標識細胞が繰り返し Epo を産生していることを示した。次に、一側尿管結紮による腎障害モデルを惹起すると、標識細胞は Epo 産生能を喪失するとともに myofibroblast に形質転換し、他の線維芽細胞に比べて著しい増殖能を示した。一方、尿管結紮を解除して腎障害から回復させると、標識細胞の Epo 産生能が回復した。

これらの結果から Epo 産生細胞は、高い Epo 産生能とユニークな挙動、高い可塑性を持った特殊な線維芽細胞亜集団と考えられた。

以上の研究は腎臓の Epo 産生細胞の挙動の解明に貢献するものである。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 2 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降