

令和 3 年 5 月 12 日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06777

研究課題名(和文) ヒト iPS 細胞由来血液脳関門モデルを用いた病態モデルの構築

研究課題名(英文) In vitro blood brain barrier disease model derived from human iPS cells

研究代表者

川端 健二 (Kawabata, Kenji)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 幹細胞制御プロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：50356234

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト iPS 細胞を用いて in vitro で血液脳関門(blood brain barrier; BBB)モデルを作製した。得られた BBB モデルを使って培養条件を変化させた結果、低酸素状態で培養したときに BBB のバリア能が著しく障害されることが明らかとなった。低酸素(虚血)時には数多くの炎症性メディエーターが放出されることが知られているので、その原因を調べたところ、TNF- α を作用させたときにバリアが障害を受けることが示された。以上より、本研究では酸素濃度、グルコース供給に加えて、周囲の細胞が産生する炎症性メディエーターに対しても考慮した虚血性脳血管障害モデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ヒト iPS 細胞を用いて、脳血管内皮細胞に分化誘導し、そこから in vitro BBB モデルを構築した。この BBB モデルの培養条件を変化させることで、培養皿上で病態を再現することに成功した。すなわち、低酸素や低グルコース条件下、あるいは TNF- α を作用させることで BBB のバリア能が著しく低下することを見出した。今後は、このモデルを使ってバリア能を回復させる分子を探索することにより、BBB をターゲットとした新しい創薬ターゲットが見つかるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Brain microvessel endothelial cells (BMECs) were differentiated from human iPS cells. In vitro blood brain barrier model was constructed with human iPS cell-derived BMECs. Barrier functions were investigated by changing the cell culture conditions. We found that BBB functions were severely impaired on hypoxia condition and low-glucose condition. Furthermore, BBB barrier was weakened by the inflammatory cytokine TNF- α . Thus, we constructed in vitro BBB ischemic model by using human iPS cells.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：iPS細胞 血液脳関門 病態モデル

1. 研究開始当初の背景

脳は血液脳関門 (blood brain barrier; BBB) とよばれるバリアーによって、病原体や毒性物質が循環血中から脳内に移行するのを阻止している。BBB は主に脳血管内皮細胞やペリサイト、アストロサイト等の細胞から構成されているが、ある種の疾患(脳腫瘍や脳梗塞、重度熱中症)では BBB の破綻が報告されており、バリアー能を回復することがこれら疾患の治療戦略となり得る。そこで、本研究計画では、ヒト iPS 細胞から分化誘導した脳血管内皮細胞を用いて in vitro BBB モデルを作製し、培養条件を疾患時の条件(温度やサイトカイン濃度、低酸素、低 pH 等)に変えることにより病態を in vitro で再現する。さらに、作製した病態モデルを用いて BBB のバリアー能を制御する分子を探索し、iPS 細胞を利用した新しい創薬基盤技術を構築する。

2. 研究の目的

本研究計画では、健常 iPS 細胞由来分化細胞を用いて病態モデルを作製し、創薬シーズを探索することを目的としている。これまで、iPS 細胞を用いた創薬シーズの探索はそのほとんどが疾患特異的 iPS 細胞を用いて行われてきたが、本研究計画では健常 iPS 細胞を用いて病態モデルを構築し、創薬候補分子を探索するという点において独創性が高い。健常 iPS 細胞を利用することにより、rare disease だけでなく、虚血性疾患等の common disease の創薬にも応用できることが期待される。

3. 研究の方法

我々はこれまでにヒト iPS 細胞から脳特異的な血管内皮細胞を分化誘導する技術を開発し、また in vitro 虚血性脳血管障害モデルについても報告した。しかしながら、虚血時(低酸素時)および再灌流時(酸素化時)におけるヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞の特性変化については不明である。血管透過性を制御する化合物を探索するには、健常時および病態時における脳血管内皮細胞の性質を明らかにする必要がある。虚血時には HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α) 等の転写因子が誘導され、その後に HIF-1 α の転写制御により VEGF (vascular endothelial growth factor) 等の血管透過作用を増強する液性因子が産生されるものと考えられる。また、炎症を惹起するために脳血管内皮細胞はマクロファージや T 細胞等の免疫細胞を虚血部位へ遊走させるケモカインも産生すると考えられる。そこで、ヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞を用いて虚血 再灌流時の遺伝子発現変動について網羅的に解析し、これが脳血管障害に対する創薬に応用可能な細胞であることを確認する。

4. 研究成果

虚血状態を模倣するためにヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞をグルコース非存在下かつ低酸素条件で培養したところ、バリア機能が著しく減弱した。虚血を

発症した後、血栓が取り除かれることで血液の再灌流が起こるが、その状況を再現するために虚血条件下に曝したヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞に対してグルコースや酸素を再供給したところ、バリア機能が 12 時間程度で回復した。齧歯類由来の内皮細胞を用いた従来の報告と比べて再灌流後のバリア機能の回復が極めて早いことから、ヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞は恒常性の維持能力が高いことが示唆された。

虚血時には脳内に存在する細胞によって数多くの炎症性メディエーター放出されることが知られている。そこで、各種炎症性メディエーターが膜間電気抵抗値におよぼす影響を調べたところ、TNF- α が最もバリア障害能が高いことが明らかとなった。TNF- α は主にアストロサイトやミクログリアから放出される。そこで、再灌流条件時において TNF- α をヒト iPS 細胞由来脳血管内皮細胞に対して作用させたところ、再灌流条件で観察されたバリア機能の回復が著しく妨げられた。ただし、TNF- α の作用メカニズムについては脳血管内皮細胞へのアポトーシスを介さないものであった。以上より、本研究では酸素濃度、グルコース供給に加えて、周囲の細胞が産生する炎症性メディエーターに対しても考慮した虚血性脳血管障害モデルを確立した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoko Yamaguchi, Kentaro Shimizu, Yasuhiro Kokubu, Misae Nishijima, Shuko Takeda, Hiroshi Ogura, Kenji Kawabata	4. 巻 14
2. 論文標題 Effect of Heat Stress on Blood-Brain Barrier Integrity in iPS Cell-Derived Microvascular Endothelial Cell Models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0222113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0222113.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------