

令和 3 年 5 月 23 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23605

研究課題名（和文）iPS細胞より作成した人工胎盤の生体内機能解析

研究課題名（英文）Three-dimensional synthesized human placenta from an iPSC-derived organ bud transplant

研究代表者

佐藤 麻衣 (Sato, Mai)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70850238

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,100,000円

研究成果の概要（和文）：病的胎盤に起因する早発型の重症妊娠高血圧症候群や胎児発育不全の児の予後は不良である。応募者は胎盤機能不全に対する「人工胎盤移植による胎盤機能再生医療」につき研究しており、今までiPS細胞から誘導した絨毛様細胞を用いた立体的胎盤器官芽の作成、絨毛様細胞の誘導日数条件に対する検討、作成した器官芽の細胞分布、免疫不全マウスの子宮内への移植実験を行い成功例を得ることができた。最終年度は以前より希望していたiPS培養の専用の培養を購入し、実験環境の整備を行うことができた。マウスへの移植実験結果については近年中に発表見込みである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臓器再生医療には立体的な臓器の原器（器官芽）を作成することが有用な手法であると報告され注目を集めている。本研究もTakebeらの既報と同様の手法を用いて胎盤器官芽を作成した。この手法が発表されてから、肝臓、腎臓、腸管、肺、心臓、脳など各種臓器の器官芽を用いた研究が報告されてきたが、胎盤での報告例はない。本研究で作成した胎盤器官芽は汎用性・再現性のある、より生体に近い機能的な胎盤組織培養系としても使用できる。胎盤機能再生にとどまらず、病因の解明や新規薬剤の開発にも応用できるなど、胎盤を対象とした研究が飛躍的に進むことが期待される革新的な研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The prognosis of children with premature severe gestational hypertension and fetal growth failure caused by pathological placenta is poor. The applicant has been researching the regenerative medicine of placental function by artificial placenta transplantation for placental insufficiency. We were able to obtain successful cases. In the final year of the project, we were able to purchase a dedicated iPSC culture, which we had been hoping to do for some time, and prepare the experimental environment. The results of the transplantation experiments on mice are expected to be published in recent years.

研究分野：周産期

キーワード：胎盤機能再生 iPS細胞 胎盤器官芽

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胎盤機能が妊娠中期に不全状態に陥ると、児は神経学的障害や発達障害を合併する頻度が高くなる。現在は可能な限り在胎期間を延長する待機療法が主流だが、予後不良な症例も未だ多数存在している。本研究では胎盤機能不全に対する胎盤機能再生医療を実臨床へ展開するための治験を得ることを目的とする。その概要はヒト iPS 細胞由来の絨毛様細胞を用いた立体的な胎盤の器官芽を作成し、1)作成した胎盤器官芽を超免疫不全マウスの子宮や胎盤へ安定して移植できる手技を確立し、2)その生着および胎盤機能の検証を行い、さらに3)胎盤機能不全モデルマウスを用いて人工胎盤移植により胎盤機能が再生することを明らかにすることである。

2. 研究の目的

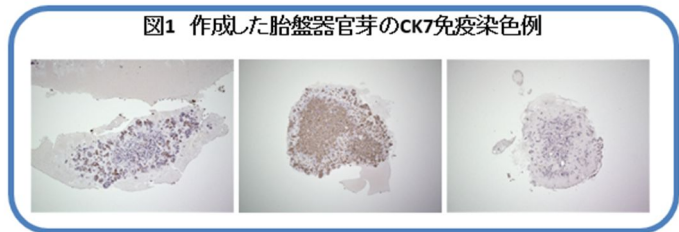
病的胎盤に起因する早発型の重症妊娠高血圧症候群や胎児発育不全の児の予後は不良である。応募者は胎盤機能不全に対する「人工胎盤移植による胎盤機能再生医療」につき研究しており、今まで iPS 細胞から誘導した絨毛様細胞を用いて立体的胎盤器官芽を作成し、免疫不全マウスの子宮内への移植実験で成功例を得ることができた。しかしながら移植成功率は約 20%と決して高いものではない。本研究は胎盤機能再生医療を実臨床へ展開するための更なる治験を得ることを目的とする。その概要はヒト iPS 細胞由来の絨毛様細胞を用いた立体的な胎盤の器官芽を作成し、1)作成した胎盤器官芽を超免疫不全マウスの子宮や胎盤へ安定して移植できる手技を確立し、2)その生着および胎盤機能の検証を行い、加えて3)胎盤機能不全モデルマウスを用いて人工胎盤移植により胎盤機能が再生することを明らかにすることである。

3. 研究の方法

胎盤機能が妊娠中期(妊娠 12-28 週)に不全状態に陥ると、児は生存できたとしても神経学的障害や発達障害を合併する頻度が高くなる。これまで胎盤機能が低下した場合は、胎児予備能の許容限界まで在胎期間を延長する待機療法が行われてきたが、良好な予後を得られない症例も未だ多数存在している。従って、今後は低下した胎盤機能を再生させるなど、斬新な着想による新規治療法の開発が必須である。胎盤は栄養外胚葉に由来するため、一般には ES 細胞や iPS 細胞から胎盤を作成することはできないと考えられている。しかし、ヒト ES 細胞や iPS 細胞に、BMP4 を添加(Xu RH, Naturebiotechnology.2002)、あるいは浮遊培養による胚葉体(Embryoid body:EB)形成誘導を行う(Gerami -Naini B,Endocrinology.2004)と、hCG を産生する絨毛様の細胞に分化する。ところが、この絨毛様細胞の細胞生物学的性質は今まで解明されてこなかった。応募者は今まで BMP4 添加法を用い、安定して iPS 細胞から絨毛様細胞を誘導できる手技を確立しており、加えて誘導した絨毛様細胞の発現マーカーを PCR で検討し、その生物学的性質につき研究を行ってきた。また、誘導した絨毛様細胞と血管内皮細胞、羊膜間葉系幹細胞を共培養することで立体的胎盤器官芽を安定して作成することができるようになった。今まで立体的かつ生体内で機能を有する人工胎盤を用いた研究の報告例はない。応募者は上記のように既に安定して立体的器官芽の作成が可能であり、器官芽のマウス子宮への生着例をも得ることができている。本研究で作成される胎盤の原基(器官芽)は、汎用性・再現性のある、より生体に近い機能的な胎盤組織培養系(in vitro)としても使用でき、例えば病的胎盤由来の iPS 細胞から誘導した絨毛様細胞を用いた人工胎盤は、病因の解明や新規薬剤の開発にも応用できるなど、胎盤を対象とした研究が飛躍的に進むことが期待される。加えて生体内での器官芽の生物学的性質を追及することができれば、本研究は胎盤機能不全の新規治療法が開発できるだけでなく、胎盤機能不全の病態そのものへのさらなる解明も可能になる革新的なものであると思われる。

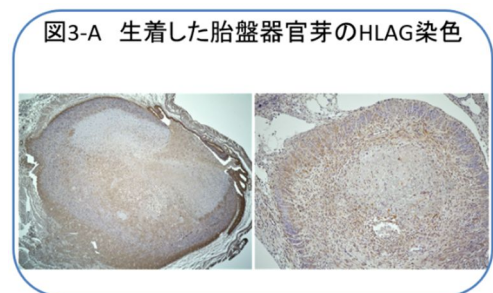
4. 研究成果

胎盤は栄養外胚葉に由来するため、一般にはES細胞やiPS細胞から胎盤を作成することはできないと考えられてきた。しかしヒトES細胞やiPS細胞にBMP4を添加すると(Xu RH, Nature biotechnology.2002)、hCGを産生する絨毛様の細胞(胎盤の主要構成細胞)に分化する。ところがこの絨毛様細胞の細胞生物学的性質は今まで十分には解明されておらず、誘導した絨毛様細胞を用いて胎盤を創り出し、難治性周産期疾患を治療しようという研究は報告がない。近年機能を有する臓器を作成するには、iPS細胞由来の臓器の前駆細胞に血管内皮細胞と間葉系細胞を加えて共培養し、立体的な臓器の原基(器官芽)を形成することが有用な手法であると報告され注目されている(Takebe T, Nature.2013)。胎盤は絨毛細胞、血管内皮細胞、間葉系細胞など複数の種類の細胞から構成されている。そこで応募者はiPS細胞由来の絨毛様細胞に、臍帯由来の血管内皮細胞と、羊膜由来の間葉系幹細胞とを加えて胎盤の器官芽を作成し、胎盤機能不全疾患に対する「人工胎盤移植による胎盤機能再生医療」実現への基礎的知見を得ることを目的とし研究を進めてきた。すでに応募者は胎盤器官芽を作成し、その免疫染色により細胞極性や内部構造についての知見を得ることができている(図1)。

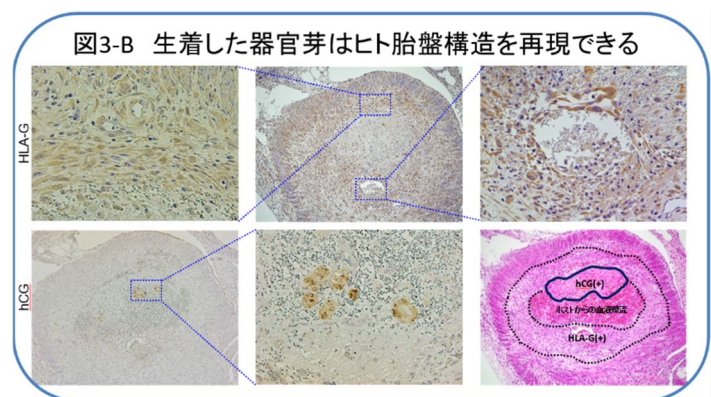


器官芽の作成に加えて、応募者は作成した器官芽を超免疫不全マウスの子宮内へ局注し、生着例を確認することができた。また生着した子宮を摘出し免疫染色を行うことで、生着した器官芽には絨毛様細胞の一つである絨毛外栄養膜細胞(Extravillous trophoblast ; EVT)マーカーのHLA-Gが発現していることを確認した(図2、3-A)。

また大変興味深いことに、筋層へ生着した器官芽(図2右)内部には血管構造を模した管腔構造が形成されており、EVT様細胞がこれらの管腔を形成していることがわかった。またこのEVT様細胞は器官芽の外側で層状に発現しており、EVT様細胞が取り囲んだ器官芽の内部にはhCG陽性の合胞体栄養膜細胞(syncytiotrophoblast ; STB)様細胞が島状に配置されていることも確認できた。EVT様細胞の層とSTB様細胞の集塊は宿主からの豊富な血液環流により取り囲まれており、このことからマウスへ移植された器官芽はヒト胎盤を模したように、つまりEVT様細胞が器官芽の外周を形成し、それに接してSTB様細胞が局在するという層状構造を再現できることが確認された(図3-B)。これは移植された器官芽が、それを取り囲む足場となる臓器の状態を把握し、適切な状態まで分化する能力がある可能性を示していると考えられる。



しかしながら超免疫不全マウスに対する移植手術という侵襲性の高さもあり、生着成功率は手術群9例中の2例とおよそ20%に満たない。本研究では安定した移植手技の確立に始まり、移植した器官芽の移植母地への浸潤形式の検討、子宮内胎児発育不全モデルマウス胎盤への器官芽移植による胎盤機能補完能力の有無を研究する予定である。これまでiPS細胞から機能的なヒト胎盤の創成に成功したという報告はない。また病的胎盤に起因する早発型重症の妊娠高血圧症候群や胎



児発育不全の管理は、児の成熟を図るため可能な限り在胎期間を延長することに主眼がおかれており、人工胎盤移植による胎盤機能再生医療を試みた研究報告はない。本研究は病的胎盤を補完する人工胎盤を創成・移植することで胎盤機能の再生を目指すという点で、極めて独創的かつ革新的な研究である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------