

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22943

研究課題名(和文)胎盤幹細胞モデルを用いた妊娠高血圧症候群のエピゲノム制御に関する研究

研究課題名(英文) Epigenetic and gene expression analysis of cytotrophoblasts from term HDP placenta

研究代表者

小林 枝里 (Kobayashi, Eri)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70634971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：正常妊娠3例、HDP6例について、満期胎盤由来のCT細胞をソーティングし、RNA-seq、miRNA-seqによる遺伝子発現解析をおこなった。また、CUT&TAG-seqによるH3K4me3、H3K4me1、H3K27ac、H3K36me3、H3K27me3、H3K9me3といったヒストン就職の解析、methyl-seqによるDNAメチル化の解析を行った。少数の領域は疾患特異的なパターンを示したものの、全体的に疾患の有無による違いは小さかった。これらの結果から、満期胎盤CT細胞においては、疾患の有無による遺伝子発現やエピゲノム修飾の差は比較的小さいことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、満期胎盤由来のCT細胞では正常群とHDP群の間で遺伝子発現やエピゲノム修飾に大きな差がない事が明らかになった。CT細胞は増殖を繰り返し分化する事でEVT細胞やST細胞を供給する事が主な役割である。EVT細胞は母体組織に浸潤し血管を拡張する役割を担うことから、その機能不全は血管のリモデリング不全によりHDP発症に繋がる可能性がある。ST細胞は母体との間のガス栄養交換及びホルモン産生を行い、HDP患者の血中で増加し血圧を上昇させるsFLT1もST細胞から分泌される。今回得られた結果はHDP発症につながるエピゲノム修飾の変化はEVT細胞やST細胞で起きている可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：We analyzed CT cells sorted from term placenta of HDP and uncomplicated pregnancies. RNA-seq and miRNA-seq showed differential expression in several regions, but mRNA and miRNA expressions were largely unchanged between CT cells from normal and HDP term placenta. Histone modifications detected by CUT&TAG-seq, including H3K4me3, H3K4m1, H3K27ac, H3K36me3, H3K27me and H3K9me3, were similar between HDP and normal term CT cells. Limited differential DNA methylation was found in the results of methyl-seq either. These results suggests that there is negligible difference in gene expression and epigenomic modification between HDP and normal CT cells obtained from term placenta. This implies that EVT and STs differentiate from CT cells are responsible for HDP development.

研究分野：産婦人科学、分子生物学

キーワード：妊娠高血圧症候群 エピゲノム

1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧症候群 (HDP) は、妊娠によって妊婦が高血圧を発症する疾患であり、胎児発育不全の原因になるとともに母体に様々な合併症を引き起こす。HDP の発症には、母体側の要因だけでなく、胎盤形成の異常や、胎盤から分泌される血管新生阻害物質などが関与すると考えられている。先行研究から、HDP 患者の胎盤で DNA メチル化の異常が報告されており、胎盤における DNA メチル化や、ヒストン修飾などのエピゲノム制御の異常が、HDP の病態に関与していることが予想される。しかし、HDP の病態形成に関与する胎盤のエピゲノム特性にはいまだ不明な点が多い。本研究室では、妊娠初期のヒト胎盤より単離した細胞性栄養膜細胞 (CT 細胞) より、長期培養可能なヒト栄養膜幹細胞 (ヒト TS 細胞) の樹立に成功した [1]。ヒト TS 細胞は、増殖能をはじめとする妊娠初期の CT 細胞の特徴を維持し、CT 細胞から分化する絨毛外栄養膜細胞 (EVT 細胞) や合胞体栄養膜細胞 (ST 細胞) への分化誘導が可能である。さらに、本研究室では出産後の胎盤からヒト TS 細胞を樹立する方法を発見しており、HDP の症例から非侵襲的に検体を得ることができる (未発表データ)。HDP 患者の胎盤における遺伝子発現やエピゲノム修飾の異常を明らかにすることができれば、HDP の病態形成の理解に大きく役立つことが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、正常および HDP 由来の満期胎盤から採取した CT 細胞、そしてそれらの細胞から樹立したヒト TS 細胞を用いて、DNA メチル化やヒストン修飾といったエピゲノム修飾の違いや、エピゲノムの異常によって生じる遺伝子発現の違いを明らかにし、HDP の発症機序の理解につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 正常妊娠および HDP 症例から得られた満期胎盤から、ソーティングによって CT 細胞を分取する。
- (2) 正常胎盤と HDP 胎盤の遺伝子発現を RNA-seq および miRNA-seq により比較する。
- (3) 正常胎盤と HDP 胎盤のエピゲノム修飾を比較するため、CUT&TAG-seq によるヒストン 修飾解析および Methyl-seq による DNA メチル化解析を行う。

4. 研究成果

(1) 正常妊娠 3 例、HDP 6 例について、満期胎盤由来の CT 細胞をソーティングし、RNA-seq、miRNA-seq による遺伝子発現解析をおこなった。少数の遺伝子は疾患特異的なパターンを示したものの、全体的に疾患の有無による違いは小さかった。これらの結果から、満期胎盤 CT 細胞においては、HDP の有無による遺伝子発現の差は比較的小さいことが明らかになった (図 1)。

(2) ヒストン修飾の比較のため CUT&TAG-seq によって H3K4me3、H3K4me1、H3K27ac、H3K36me3、H3K27me3、H3K9me3 修飾を解析した結果、満期胎盤 CT 細胞においては、HDP の有無によるヒストン修飾の差は小さいことが明らかになった (図 2)。

(3) 重症 HDP 3 例から得られた満期胎盤由来 CT 細胞について Methyl-seq 解析を行い、すでに行われていた正常満期胎盤由来 CT 細胞の DNA メチル化解析の結果と比較したところ、満期胎盤 CT 細胞においては、HDP の有無による DNA メチル化の差は小さいことが明らかになった。

本研究により、満期胎盤由来の CT 細胞では、正常群と HDP 群の間で遺伝子発現やエピゲノム修飾に大きな差がないことが明らかになった。

CT 細胞は、増殖を繰り返し分化することで EVT 細胞や ST 細胞を供給することが主な役割である。EVT 細胞は母体組織に浸潤して血管を拡張する役割を担うことから、その機能不全は血管のリモデリング不全により HDP 発症につながる可能性がある。ST 細胞は母体との間のガス・栄養交換およびホルモン産生を行っており、HDP 患者の血中で増加して血圧を上昇させる sFLT1 も ST 細胞から分泌される。したがって今回得られた結果は、HDP 発症につながる遺伝子発現やエピゲノム修飾の変化は EVT 細胞や ST 細胞で起きている可能性を示唆しており、今後 HDP 胎盤由来の TS 細胞から分化させた EVT 細胞や ST 細胞の解析を行うことで、HDP 病態形成のメカニズムを明らかにできる可能性がある。

<引用文献>

[1] Okae H et al. Derivation of Human Trophoblast Stem Cells. Cell Stem Cell. 2018 Jan 4;22(1):50-63.e6.

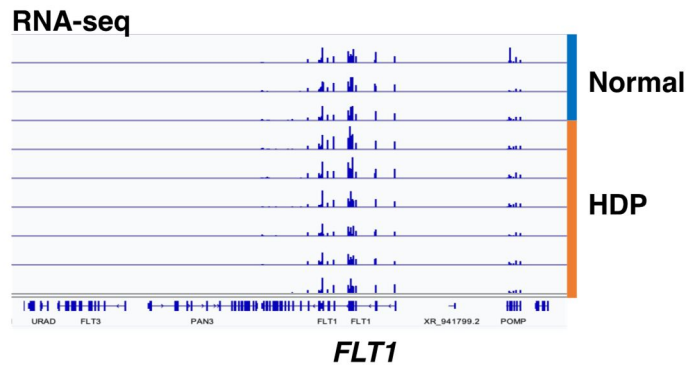


図 1 HDP の原因となる sFLT1 をコードする FLT1 遺伝子周辺の遺伝子発現

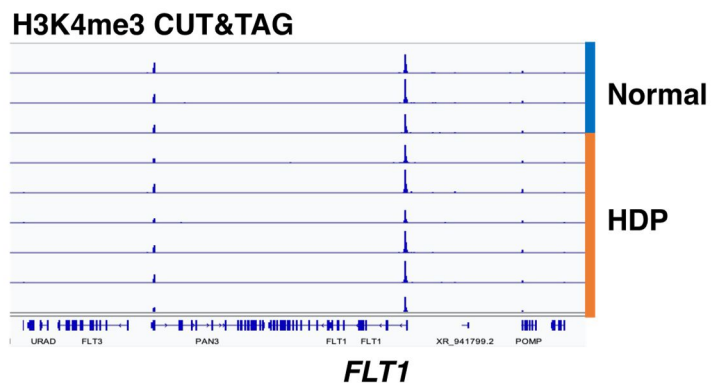


図 2 HDP の原因となる sFLT1 をコードする FLT1 遺伝子周辺の H3K4me3 ヒストン修飾

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shibata Shun, Kobayashi Eri H., Kobayashi Norio, Oike Akira, Okae Hiroaki, Arima Takahiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Unique features and emerging in vitro models of human placental development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 301 ~ 313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12347	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 -

〔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
---------	---------