

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20982

研究課題名（和文）栄養膜細胞の初代培養を用いた胎盤の抗ウイルス免疫応答および胎内感染防御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidating the anti-viral responses and host defense mechanisms in the placenta using primary human villous trophoblasts

研究代表者

本村 健一郎（Motomura, Kenichiro）

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・免疫アレルギー・感染研究部・研究員

研究者番号：00724329

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）：本研究は、合胞体栄養膜細胞がもつ抗ウイルス作用を検証し、ウイルスが胎内感染するメカニズムと胎盤に障害を与えるメカニズムを明らかにすることを目的とした。ヒト満期胎盤由来細胞性栄養膜細胞を用いた*in vitro*解析により、合胞体栄養膜細胞は、二本鎖RNAへの曝露により免疫細胞と同様に抗ウイルス作用を発揮するが、同時に誘導される細胞死が胎盤障害を引き起こす可能性が示唆された。また、合胞体栄養膜細胞への感染能や細胞障害性はウイルスによって異なることが明らかとなった。さらに、妊娠マウスを用いた検討によって、妊娠中の二本鎖RNAへの曝露により胎盤の機能が障害されて妊娠合併症が発症する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠中のウイルス感染症は、先天性感染症や妊娠合併症を引き起こすことが知られており、長期的に母児の健康に悪影響を与える。胎盤は胎児をこれらの先天性感染症から保護しているが、そのメカニズムは明らかになっていない。本研究により、胎盤の抗ウイルス機構と、ウイルスによる妊娠合併症発症機序の一端が明らかとなった。これにより、将来的に妊娠中のウイルス感染に伴う先天性感染症や妊娠合併症の予防方法や、治療戦略の策定に資する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Viral infections during pregnancy result in congenital infections and complications, causing lasting adverse effects on both the mother and child. The mechanisms behind this are poorly understood. To address this, we investigated the antiviral responses of syncytiotrophoblast (STB) to understand how viruses infect the fetus and damage the placenta. Using primary human cytotrophoblasts (CTBs), our transcriptome analysis revealed that the STB initiates an antiviral response when stimulated by synthetic double-stranded RNA (dsRNA). This dsRNA also induced cell death in the STB. Furthermore, the impact of viral infections and cellular damage from adeno-associated viruses varied among different serotypes. Our *in vivo* studies demonstrated that administering dsRNA to pregnant mice caused placental damage and pregnancy complications. These findings shed light on the antiviral defense mechanisms in the placenta and provide a causal link between viral infection and pregnancy complications.

研究分野：周産期免疫学

キーワード：栄養膜細胞 胎盤 ウイルス感染症 自然免疫 初代培養 妊娠合併症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

妊娠母体の感染による先天性ウイルス感染症は、心奇形や精神発達遅滞といった長期的に出生児の予後を左右する症状を示し、世界的に問題となっている。さらに SARS-CoV-2 のように、胎児に胎内で直接感染することは稀であっても、妊娠高血圧症候群のような胎盤障害がかかわる妊娠合併症を引き起こすウイルスの存在も報告されている。

ヒトにおいて、母体と胎児は胎盤を介してつながっており、それぞれの循環は直接交わらない(図1)。妊婦はウイルスを含むさまざまな病原体に曝露されるが、その大部分は胎児に感染を引き起こさない。その理由は胎盤が病原体の胎児への移行を防ぐためと考えられている。特に、胎盤絨毛の表面を覆う合胞体栄養膜細胞は母体血が充満する絨毛間腔に位置する胎児由来細胞であり(図1)母体循環からの病原体の胎児側へ侵入を抑制する免疫学的関門となっている。しかし、そのウイルス防御反応のメカニズムの詳細はまだ明らかになっていない。

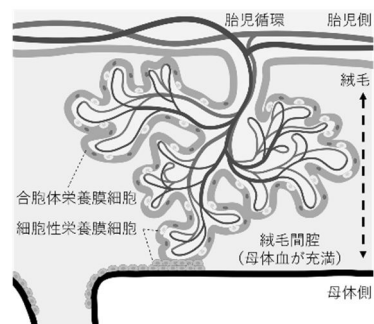


図1 ヒト胎盤のミクロ構造

2. 研究の目的

上記背景を元に、本研究では、ヒト満期胎盤から分離した初代細胞性栄養膜細胞を用いて、合胞体栄養膜細胞がもつ抗ウイルス作用を検証し、ウイルスが胎内感染するメカニズムと胎盤に障害を与えるメカニズムを明らかにすることを目的とした。さらに、動物モデルを用いて合成二本鎖 RNA が胎盤、ひいては妊娠維持、出生児にどのような影響を与えるかを評価した。

3. 研究の方法

(1) 合胞体栄養膜細胞におけるウイルス胎内感染防御メカニズムの解明

ヒト満期胎盤由来細胞性栄養膜細胞を、合成二本鎖 RNA (Poly(I:C)) で刺激し、Microarray を用いた Transcriptome 解析を行った。さらに、その反応を末梢血単核球細胞(PBMC)の Poly(I:C) に対する反応と比較した。

また、実際のウイルス感染能および抗ウイルス反応を確認するため、アデノ随伴ウイルス(AAV) を細胞性栄養膜細胞に感染させ、感染感受性および細胞生存に対する影響を検討した。

(2) 妊娠マウスを用いた二本鎖 RNA による胎盤障害の解析

ウイルス感染による妊娠合併症の因果関係を明らかにするため、妊娠マウスに Poly(I:C) を投与し、胎仔・胎盤重量の検討を行うとともに、胎盤組織の Transcriptome 解析を実施し、想定されるメカニズムに関して解析を行った。

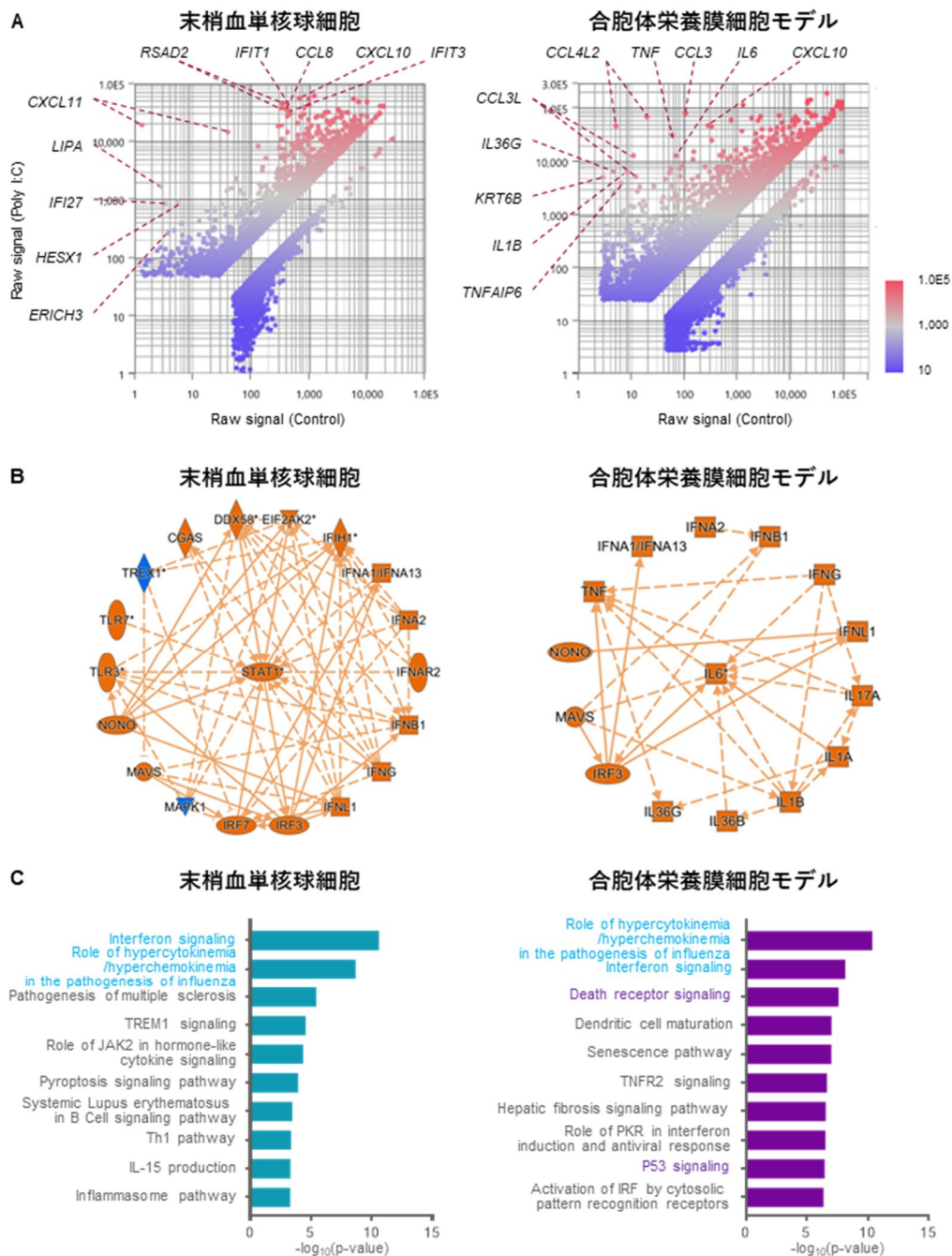
4. 研究成果

(1) 合胞体栄養膜細胞におけるウイルス胎内感染防御メカニズムの解明

過去の検討において、申請者らは絨毛栄養膜細胞には二本鎖 RNA 受容体が特異的に発現していることを見出している。二本鎖 RNA はウイルスが産生する Pathogen associated molecular pattern であり、このことは、合胞体栄養膜細胞が胎児のウイルス感染予防に重要な働きを示している。初代細胞性栄養膜細胞から分化させた合胞体栄養膜細胞モデルを Poly(I:C) で刺激したところ、様々な炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇が見られた(図2A)。この結

果を PBMC と比較したところ、合胞体栄養膜細胞モデルでは、Interferon の産生や、炎症性サイトカインの遺伝子発現上昇を伴っていた。さらに、Gene network 解析を行ったところ、PBMC では STAT1 シグナルおよび Inteferon 産生が強く Poly(I:C) 刺激に関連していたが、合胞体栄養膜細胞モデルでは、Inteferon 産生に加えて、炎症性サイトカインである IL6 の発現が強く関連していた。また、Pathway enrichment analysis では、ウイルス感染に関する経路の遺伝子発現変化が認められたが、合胞体栄養膜細胞モデルにおいてはそれに加えて細胞死に関する遺伝子群の発現変化がみられることが明らかとなった。

これらの結果から、合胞体栄養膜細胞は、二本鎖 RNA への曝露により免疫細胞と同様に抗ウイルス作用を発揮するが、同時に誘導される細胞死がウイルス伝播を防ぐとともに、胎盤障害を引き起こす可能性が示唆された。以上の成果は J Immunol 2023;210:1552-63 に掲載された。



Motomura, Morita, Okada, Matsuda, Nakae, Fujieda, Sago, Saito, Matsumoto. J Immunol. 2023.より改変

図2 合胞体栄養膜細胞モデルの二本鎖 RNA に対する反応の Transcriptome 解析

また、ウイルスの種類による感染力および免疫反応の違いを明らかにするため、異なるセロタイプの AAV を合胞体栄養膜細胞モデルに感染させたところ、セロタイプによって感染力は大き

く異なった(図3A)。さらに、細胞生存に与える影響も、セロタイプによる違いが見られた(図3B)。

この結果から、合胞体栄養膜細胞への感染能や細胞障害性はウイルスによって異なり、これが垂直感染の成立有無にかかわっている可能性が示唆された。

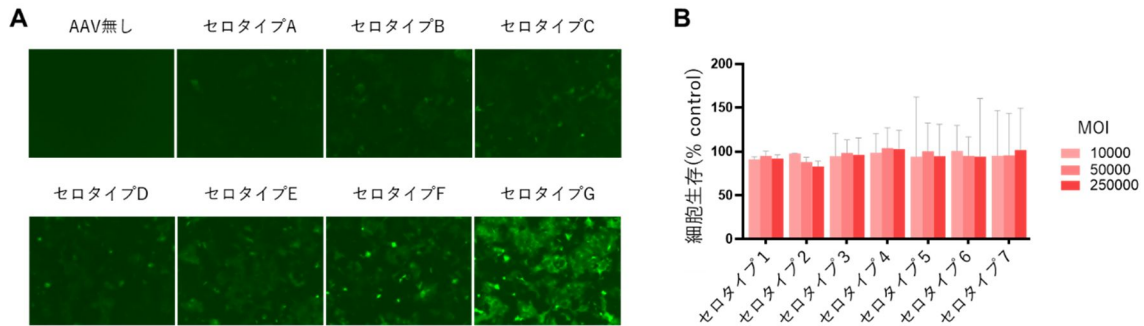


図3 合胞体栄養膜細胞モデルへのアデノ随伴ウイルス感染の解析

(2) 妊娠マウスを用いた二本鎖 RNA による胎盤障害の解析

妊娠後期の C57BL/6 マウス (15.5 days post coitum, dpc) に二本鎖 RNA を尾静脈から投与した。急性期 (16.5 dpc) と慢性期 (18.5 dpc) に胎仔、胎盤重量の検討を行ったところ、急性期では胎仔体重が、慢性期では胎仔体重に加えて胎盤重量が、対照群と比較し低下した。さらに、16.5 dpc と 18.5 dpc で胎盤組織を回収し、Transcriptome 解析を行ったところ、16.5 dpc ではインターフェロン経路に関連する遺伝子群が上昇していた。また、18.5 dpc では、インターフェロン経路に関連する遺伝子群の他に、イオン交換や糖代謝に関わる遺伝子群の発現が変動していた。

以上の結果から、妊娠中の二本鎖 RNA への曝露により、胎盤の機能が障害されて Small for gestational age などの妊娠合併症が発症する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Motomura Kenichiro, Morita Hideaki, Okada Naoko, Matsuda Akio, Nakae Susumu, Fujieda Mikiya, Sago Haruhiko, Saito Hirohisa, Matsumoto Kenji	4. 巻 210
2. 論文標題 Comprehensive Analysis of the Expression and Functions of Pattern Recognition Receptors in Differentiated Cytotrophoblasts Derived from Term Human Placentas	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1552 ~ 1563
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2300008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Kenichiro, Hara Mariko, Ito Ikuyo, Morita Hideaki, Matsumoto Kenji	4. 巻 156
2. 論文標題 Roles of human trophoblasts' pattern recognition receptors in host defense and pregnancy complications	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 103811 ~ 103811
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jri.2023.103811	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Kenichiro, Morita Hideaki, Naruse Katsuhiko, Saito Hirohisa, Matsumoto Kenji	4. 巻 91
2. 論文標題 Implication of viruses in the etiology of preeclampsia	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 e13844
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/aji.13844	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kenichiro Motomura
2. 発表標題 Comprehensive analysis of expression of functional pattern recognition receptors in differentiated cytotrophoblasts derived from human term placentas
3. 学会等名 The 70th Annual Meeting of the Society for Reproductive Investigation（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenichiro Motomura, Keiko Matsubara, Seiji Wada, Haruhiko Sago
2. 発表標題 Viral infection impairs placenta function by inhibiting differentiation of human cytotrophoblasts
3. 学会等名 第76回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2024年

〔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
---------	---------