

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16761

研究課題名(和文) マウス胎盤形成時の脱落膜に出現する新規のGFAP/S100 陽性細胞の機能解析

研究課題名(英文) The analysis of GFAP/S100b-positive cells in mouse decidua during placentation

研究代表者

鏡 京介 (KAGAMI, KYOSUKE)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：80748616

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：胎盤形成時に出現するGFAP/S100 陽性細胞について解析を行った結果、当該細胞は免疫担当細胞とは異なる特性を有し、胎生10.5日目から脱落膜に出現し始めることを明らかにした。この細胞をGLAST-CreERT2システムで追跡するモデルを確立し、経時的に解析した結果、マウス脱落膜のみならず、ラビリンス層にも分布することが新たに分かった。この細胞は血管周囲に分布しており、何らかの血管透過性や収縮などの血管制御に関わる機能を有する可能性が示唆された。これまで知られているラビリンス構成細胞の各マーカーで染色したところ、いずれのマーカーも陽性にならないことから、新たな細胞であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回同定した胎盤形成期の脱落膜に出現するGFAP/S100 陽性細胞は、脱落膜の比較的大型な血管の周囲に分布しているだけでなく、ラビリンス層の胎児血管周囲にも分布していることから、何らかの血管制御に関わる可能性が示唆された。一方、中枢神経系におけるアストログリアは、血管周囲に分布し血管制御に関わることが知られている。マウス胎盤には、アストロサイトを仲介する血管制御機構があるという報告はなく、新たな観点から胎盤循環制御の機構が解明できる可能性があり、子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧症候群の治療法・予防法の開発につながる点で本研究の意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：As a result of analysis of GFAP / S100 -positive cells appearing during placentation, it was revealed that the cells have different characteristics from immunocompetent cells and start to appear in the decidua at 10.5 embryonic days. As a result of establishing a model for tracking these cells with the GLAST-CreERT2 system and analyzing them over time, it was newly found that they are distributed not only in the mouse decidua but also in the labyrinth layer. These cells are distributed around blood vessels, suggesting that they may have some function related to blood vessel regulation such as vascular permeability and contraction. Staining with each marker of the labyrinth-constituting cells known so far, none of the markers became positive, suggesting that the cells are novel cells.

研究分野：周産期学

キーワード：マウス胎盤

1. 研究開始当初の背景

妊娠初期の胎盤形成異常は、子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧症候群を起し、少子高齢化が深刻な我が国における周産期医療においては児の健やかな発育にとって大きな問題となっている。胎盤形成異常は特に、子宮の脱落膜における胚由来の栄養膜細胞と母体細胞の相互作用に異常を来すことが原因とされる。絨毛外栄養膜細胞 (EVT) の浸潤は胎盤形成において重要な過程の一つであり、EVT は母体免疫細胞から攻撃を受けることなく母体の子宮らせん動脈の血管に沿って子宮筋層内まで浸潤する。しかしながら、この浸潤過程がなぜ静脈ではなく動脈に選択的に起こるのかについてはわかっていない。そこで我々は、動脈と静脈の差異として、血管を支配する自律神経系の差に注目し、「絨毛外栄養膜細胞における動脈への選択的浸潤に、血管をとりまく自律神経系からの何らかの因子が関与している」との作業仮説をたて、神経系を構成するニューロン・グリアの細胞マーカーで脱落膜組織の免疫染色を行ったところ、Astrocyte に特徴的な GFAP や S100 が陽性となる細胞を同定した。脱落膜にはこの細胞と形態的に類似する免疫担当細胞が存在するため、そのマーカーである CD45 で染色したところ、CD45 は陰性であり、新規細胞の可能性が示唆された。また、脱落膜で見られる免疫担当細胞は、胎生 5.5 日目 (E5.5) から E9.5 にかけて急激に増加するのに対し (Cryo BA, et al., Bio Reprod 2012)、この GFAP/S100 陽性細胞は、E10.5 から出現してくることも明らかにした。この GFAP/S100 陽性細胞は、脱落膜の比較的大型の血管周囲に分布していることから、何らかの血管制御に関わる可能性が示唆された。中枢神経系におけるアストログリアは、血管周囲に分布しニューロンなどの他の細胞と密に連携し、血管制御に関わることが知られている。そこで今回、血管を中心とした GFAP/S100 陽性細胞を含む周辺の細胞集団を 3 次元空間の中でとらえ、空間的分布や、周辺細胞との連携などを詳細に観察するため、最近申請者のグループが報告した妊娠子宮組織透明化技術 (Kagami K, et al., Sci Rep. 2017) を用い解析を行う計画を立てた。

2. 研究の目的

周産期医療の課題である子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧症候群は、その共通の病態として胎盤機能不全を伴っており、その原因は胎盤の形成異常にあると考えられている。今回、妊娠モデルマウスの胎盤脱落膜に、アストロサイトに特徴的な GFAP と S100 が陽性となる新規細胞群が血管周囲に分布することを見出した。本細胞は、脱落膜内に分布する免疫担当細胞とは異なる母体由来の細胞であることが示唆されたため、本研究では、マウス胎盤形成時に胎盤脱落膜内に出現するこの新規細胞について機能解析を行い、その生理学的意義について追究することを目的とした。具体的には GFAP/S100 陽性細胞と周囲の細胞との関係を組織透明化技術による 3 次元形態解析から導き出し、細胞の血管制御機構に関わる役割と生理的機能について解析を行う。この研究を通じて、子宮内胎児発育不全等の疾患の病態につながる機構を解明し、新たな予防法・治療法の提言を行うのが目標である。

3. 研究の方法

A) 妊娠子宮内 GFAP/S100 陽性細胞を蛍光可視化

GFAP/S100 陽性細胞は Astrocyte に特徴的な GFAP や S100 を発現するため、現在本学で利用可能な GLAST-CreERT2 (GLAST は Astrocyte のマーカー) とレポーターマウスを利用し目的の細胞を蛍光可視化する。

B) 組織透明化画像解析による時間的・空間的分布の解析

E9.5 から E14.5 までの胎盤形成期における、蛍光標識された GFAP/S100 陽性細胞の分布を時間経過ごとに解析する。各ステージの妊娠マウスを還流固定後、透明化処理を行い、光シート顕微鏡でイメージングを行う。さらに撮影後のサンプルから、蛍光標識された細胞が局在する任意の断面を選択的に切り出し、この細胞と連絡する周辺の細胞を免疫染色し、対象の細胞種を同定する。この結果から、血管制御に対する GFAP/S100 陽性細胞の役割について考察する。

4. 研究成果

A) 妊娠子宮内 GFAP/S100 陽性細胞を蛍光可視化

まず、胎盤形成における Astrocyte 様細胞の解剖学的分布を明らかにするため、GLAST-CreRT2 システムを用いて細胞を可視化することに成功した。

B) 組織透明化画像解析による時間的・空間的分布の解析

組織透明化技術を用いて、Astrocyte のマーカーである GLAST 陽性細胞の 3 次元空間における分布を解析したところ、傍血管領域に陽性細胞が分布することが明らかになった。また経時的な解析により、脱落膜のみならず Labyrinth においても認められることが明らかになった。

細胞の更なる特性を明らかにするため、同部位を任意に切り出し、免疫染色法により解析を行った。Labyrinth を構成する既知の細胞の各マーカーで識別できるか検証したところ、いずれのマーカーも陽性にならない細胞であることが分かった。Labyrinth を構成する新たな細胞である可能性が示唆された。

GLAST 陽性細胞の分布から胎児血管の血管内皮細胞外側に位置しており、血管透過性や収縮を制御するこれまで知られていない新たな細胞である可能性が示唆された。またこの細胞は、脱落膜内でも同様に血管周囲に分布していることが明らかにされた。

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
--	---------------------------	-----------------------	----