

京都大学	博士 (医学)	氏名	伊尾 紳 吾
論文題目	Capturing human trophoblast development with naive pluripotent stem cells in vitro (ナীব型多能性幹細胞を用いたヒト栄養膜細胞発生の再現)		
(論文内容の要旨) 胎盤は母児の健康に欠かすことができない臓器である。胎盤機能が不全状態に陥ると、流産、胎児発育不全や妊娠高血圧症候群に至り、胎児のみならず、母体にも深刻な影響を引き起こす。しかし、これらの胎盤機能不全の発症機序は明らかにされておらず、胎盤機能不全の治療は進展していない。様々な妊娠合併症の発症機序を解明するためには、正常な胎盤の形成過程や機能の維持機構を分子レベルで理解することが重要である。これまで胎盤研究で主に用いられてきた絨毛癌細胞株や不死化細胞株は生体の栄養膜細胞とは性質が異なり、これらを用いた研究成果をそのまま正常細胞へ適用できなかった。本研究では、ヒトナীব型多能性幹細胞をモデルとして、胎盤の主要な機能を担う栄養膜細胞の分化過程を試験管内で再現することを目的とした。 プライム型多能性細胞を初期化し、得られたナীব型多能性幹細胞を4種の化合物を加えた無血清培地で培養し、栄養外胚葉を樹立した。化合物の組合せを段階的に変更し、栄養外胚葉から細胞性栄養膜細胞を経て、合胞体栄養膜細胞と絨毛外栄養膜細胞へ分化させた。多能性幹細胞由来の細胞性栄養膜細胞が妊娠初期栄養膜細胞の基準を満たすかを検討した。さらに、トランスクリプトーム解析を用いて、生体の栄養膜細胞と比較検討した。ヒトおよび非ヒト霊長類であるカニクイザルの単一細胞遺伝子発現解析法を指標とし、ヒトナীব型多能性幹細胞を由来とする栄養外胚葉と細胞性栄養膜細胞の遺伝子発現を検討した。さらに、プライム型多能性幹細胞を用いた栄養膜細胞の分化誘導も行い、ナীব型多能性幹細胞由来の栄養膜細胞との差異を検討した。 トランスクリプトーム解析により、ナীব型多能性幹細胞から樹立した栄養外胚葉と細胞性栄養膜細胞は、それぞれの生体の栄養膜細胞段階に類似していた。3種の化合物を加えることで、細胞性栄養膜細胞は長期培養が可能であった。さらに、この細胞は妊娠初期栄養膜細胞の基準を満たしていた。ナীব型多能性幹細胞から分化させた合胞体栄養膜細胞と絨毛外栄養膜細胞は、細胞段階特異的タンパク質のhCGとHLA-Gをそれぞれ発現していた。着床後胚の性質を示すプライム型多能性幹細胞を用いた栄養膜細胞の分化誘導を行ったが、この細胞は生体の栄養膜細胞とは特徴が異なり、羊膜上皮細胞に類似した遺伝子発現パターンを示すことを同定した。 ナীব型多能性幹細胞は栄養膜細胞系列への分化が可能であった。ナীব型多能性幹細胞由来の栄養外胚葉から細胞性栄養膜細胞までの遺伝子発現の変化は、ヒト受精卵の試験管内培養の結果と類似しており、ヒト栄養膜細胞の着床期研究に応用可能なモデルであると考えられた。 本研究はヒトナীব型多能性幹細胞をモデルとして、栄養膜細胞の起源から終末分化段階までの試験管内再現に成功した。			

(論文審査の結果の要旨) 栄養膜細胞は妊娠維持に必須の胚体外細胞であるが、起源から終末分化までの段階的な試験管内培養法は未確立であった。ヒトナীব型多能性幹細胞をモデルとして、栄養膜細胞の試験管内再構築系の確立を本研究の目的とした。 まず、ヒト受精卵におけるレセプター遺伝子の発現から4つの化合物を抽出した。それらの化合物をナীব型多能性幹細胞へ添加し、栄養外胚葉に分化させた。化合物を変更し、栄養外胚葉から細胞性栄養膜細胞を経て、合胞体栄養膜細胞と絨毛外栄養膜細胞へ分化させた。各段階の細胞を定量PCR、免疫染色、フローサイトメトリー、トランスクリプトーム解析等で評価し、生体の細胞と類似した性質を示すことを確認した。 ナীব型多能性幹細胞由来の細胞性栄養膜細胞は妊娠初期栄養膜細胞の基準を満たす一方で、プライム型多能性幹細胞由来の栄養膜細胞は基準を満たさなかった。ヒトおよびカニクイザルの胎盤・羊膜のRNAシーケンス結果との比較検討により、プライム型多能性幹細胞由来の栄養膜細胞は羊膜上皮細胞に類似した遺伝子発現を示すことを同定した。 最後に、ナীব型多能性幹細胞由来の栄養外胚葉から細胞性栄養膜細胞までの遺伝子発現の変化は、ヒト受精卵の試験管内培養と類似する遺伝子発現パターンの変化を模倣することを同定した。 本研究により、ヒト栄養膜細胞の起源から段階的に終末分化細胞まで試験管内で模倣できる細胞モデルが初めて確立した。 以上の研究は、ヒト栄養膜細胞の細胞系譜の解明に貢献し、ヒト初期発生の理解、着床不全や妊娠合併症の病態解明や治療法の開発に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 10 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降