

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

ヒト胎盤幹細胞を用いた新規発生毒性評価法の開発に関する研究

研究分担者 池田 賢二 大阪大学大学院薬学研究科 教授

研究要旨

医療薬学分野では、*in vitro*胎盤関門の構築における妊娠時期の反映に向けて、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(human chorionic gonadotropin : hCG)やヒト胎盤性ラクトゲン(human placental lactogen : hPL)の推移が妊娠初期、中後期の指標となる可能性について明らかにした。これによって、妊娠時に摂取する、またはした化学物質の胎児移行性を推定する際に用いる*in vitro*評価系構築の段階的な表現型獲得の設定目標を示すことができる。また、最終年度で予定している*in vitro-in vivo*外挿評価を行うためのPBPKモデル解析において、模擬的に構築される妊娠時母体・胎児のパラメータセット（デジタルツイン）の中で、本*in vitro*評価系から得られるパラメータを適用するに妥当な変数を特定できたため、次年度、最終年度の取り組みに円滑に繋がるものと考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は、TS細胞を用いた*in vitro*ヒト胎盤透過モデル系の開発を行い、新規発生毒性評価系としての有用性を検証することである。*in vitro*ヒト胎盤透過モデル系の構築により、TS由来ST細胞の単層膜培養系を利用して透過能を算出することが可能となる。化学物質の透過能を生理学的薬物動態モデル(PBPK)解析ソフトウェアであるSimcyp® Simulator (Certara社)へ組み込むことで、化学物質の胎児への曝露量や胎児における体内動態を解析できる(ファーマコメトリクス)が、透過能を反映する生理学的動態パラメータは未知である。また、妊娠時の母体および胎児の薬物動態を推定する際には、妊娠期間に応じた経胎盤薬物移行の変化が無視できない課題である。妊娠時期に応じた正確な胎児曝露量を推定するには、モデル系が妊娠時期に対応可能であることを示す指標が必要不可欠である。そこで、妊娠時期の胎児移行性および妊娠時期を反映する生理学的薬物動態パラメータを探索することをファーマコメトリクス領域の目的とする。

B. 研究方法

*In vitro*ヒト胎盤透過モデル系を構築するためには、妊娠時期に応じたモデル系の開

発が必要である。その指標として、正常の妊娠時において、妊娠時期の経過に伴い上昇するホルモンであるhPLに着目した。まず、先行研究1)より、「JEG-3をCSC® (Continuous Single Culture)培地で培養し分化させたDJEG(different-JEG3)細胞層は生体内とよく類似している」という知見が得られていた。この結果を基に、JEG-3細胞をEagle's minimum essential medium (MEM) およびCSC®培地 (DS ファーマ) で28日間連続培養し、培地交換の際に採取した培地中のhCG、hPLの濃度を測定した。

PBPK解析ソフトには、Simcyp® Simulator (Certara社)を用いた。

(倫理面への配慮)
培養細胞による検討とシミュレーションのみであるため、倫理的問題は無い。

C. 研究結果

妊娠時にこう分泌されるホルモンであるhCGはMEM培地およびCSC®培地の両方で検出されたが、hPLはMEM培地(NJEG)では検出されず、CSC®培地(DJEG)では徐々に増加していることが確認された(図1)。さらに、CSC®培地の組成より、DMEM/Ham's F-12 (1:1)混合培地(D/F)に成長因子とブタヘパリンを添加していることがわかったため、D/F培地に成長因子としてrhaFGF/FGF1とヘパリンナトリウムを添加し、MEM、CSC®, D/F(aFGF, Heparin添加)の3種類の培地における比較を行った。その結果、hCGではすべての培地において増加したが、hPLはMEM培地では検出され

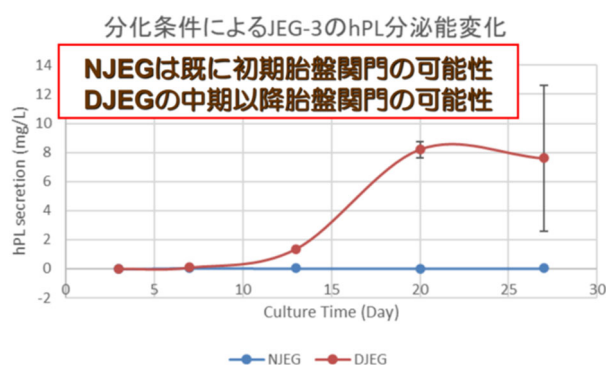
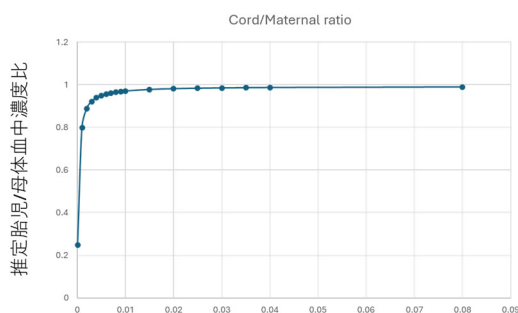


図1. *In vitro*細胞層hPL分泌の生体内類似性

ず、CSC®培地およびD/F(aFGF,Heparin添加)培地ではhPLが徐々に増加した。特にD/F(aFGF,Heparin添加)培地では、CSC®培地と比較してhPLが大幅に増加することが確認された。現在、さらなる妊娠時期に対応する指標の探索を進めている。

*in vitro-in vivo*外挿評価を行うためのPBPKモデル解析においては、予備検討として妊娠時母体・胎児デジタルツインを構成するファクターを整備し、胎盤栄養膜細胞層最外殻（シンシチオトロホブラスト）層の物質透過能を表現するファクター（CLPDM: 胎盤関門胎児側細胞膜0.04に対する母体側透過度）が本*in vitro*評価系で得られる物質透過能を適正に反映できる可能性を見出している(図2)。



胎盤関門胎児側細胞膜0.04に対する母体側メトホルミン透過度

図2. 化学物質の胎児暴露/母体暴露比推定可能性

D. 考察

妊娠時期の相違によって、胎盤細胞からのホルモン分泌プロファイルが、生体内リアルデータ同様、培養細胞でも変動することが認められた。hPL、およびhCG分泌を指標にいくつかの段階の*in vitro*評価系を構築できる可能性が示された。

また、PBPKモデル解析においては、*in vitro*評価系から得られる物質透過能を、体内動態および身体への影響推定のための変数として利用し得ることが示された。

E. 結論

*In vitro*評価系において、妊娠時期を何段階かに分けて反映させた系の構築を可能とするための指標がいくつか見出された。これをもって、次年度にはデジタルツインによるシミュレーションに向けて、何段階かの妊娠時期ごと、化合物種ごとに母体・胎児薬物動態推定のための導入変数を得るための*in vitro*モデル構築に取り組むことができるものとする。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Effect of Morphine Used to Relieve Dyspnea Due to Heart Failure on Delirium., Shoichi Yoshikai, Mikiko Ueda and Kenji Ikeda, J Palliat Med, 2024 Sep;27(9):1184-1190. doi: 10.1089/jpm.2023.0704.
- Analysis and evaluation of factors contributing to the occurrence of immune-related adverse events with immune checkpoint inhibitors., T Nagase, O Shima, N Maruhana, Y Miyazawa, S Yoshino, J Sato, H Yamada, K Shinozaki, K Ikeda, Pharmazie 79: 163-168 (2024) doi: 10.1691/ph.2024.4548
- Building vancomycin population pharmacokinetic model for Japanese low birth weight infants in comparing it with previously reported pediatric population pharmacokinetic models., KOJI MASUDA, KENJI IKEDA, AIJU ENDO, TAKAHIRO ISHIKAWA, TETSUYA MATSUMOTO, J Infect Chemother, 2024, in press, DOI: 10.1016/j.jiac.2024.12.009.

2. 学会発表

- Human Placental Lactogen (hPL)の推移による胎盤成熟度の指標探索: Search for indicators of placental maturity based on changes in Human Placental Lactogen (hPL), 奥羽 華乃子, 加藤 美羽, 大石 美奈子, 池田 賢二, 日本薬学会第145年会(福岡), 2025/3.