

【目的】近年の生活や労働環境の変化は、晩婚化や初産の高齢化をもたらし、体外受精や顕微授精などの生殖補助医療（ART）を選択する不妊治療患者数は年々増加の一途を辿っている。しかし、ART の成功率は、20%程度と頭打ち状態にあり、ART 不成功例の主原因として、着床機能不全が指摘されている。本研究では、胎児・母体由来の複数の幹細胞を組み合わせた *in vitro* 着床モデル（Assembloid）を創成し、胚の着床・発生機序について理解を深め、新規の不妊治療法の開発や創薬応用に役立てることを目的とした。

【方法および結果】1. ナイーブ型 ES 細胞よりブラストイドの作製：ナイーブ型 ES 細胞よりマイクロウェルを用いて培養条件（細胞数、播種時期、培地・添加因子成分）をこれまでの報告を基に検討し、ヒト胚盤胞様構造物（ブラストイド）の作製に成功した。2. 子宮内膜オルガノイドの作製：子宮内膜上皮オルガノイドは、既報を基に樹立した。複数ドナー由来の手術摘出後のヒト子宮組織（倫理承認済）より 10 ロット以上の子宮内膜上皮オルガノイドを樹立した。また、同時に子宮内膜間質細胞を単離した。次に、子宮内膜上皮および間質細胞をゲル内で混合培養し、エストロゲンおよびプロゲステロン添加による応答能（子宮内膜（腺）上皮：PAEP、PR、脱落膜化マーカー：PRL、IGFBP1 等）を確認した。またヒトと同様に、マウス（ICR）においても、子宮内膜上皮オルガノイドの樹立と間質細胞の単離を行った。また、両者の混合によるマウス三次元子宮内膜モデルも確立した。3. 遺伝子発現解析：子宮内膜モデルについて、単一核解析によりシングルセルレベルでの遺伝子発現解析を行った。混合した細胞の子宮内膜上皮・間質、内皮細胞についてそれぞれ検出し、特に上皮細胞には腺細胞や繊毛細胞、増殖性の細胞など多様な細胞集団が含まれていることがわかった。この子宮内膜オルガノイドに、疾患モデルを活用し、母体 - 胎盤間のシグナル伝達経路などの解析に応用できる。4. 胚着床オルガノイドモデルの作製：ブラストイドと子宮内膜オルガノイドモデルを共培養し、胚の着床状態を観察できるオルガノイドモデルを作製することに成功した。興味深いことに、浮遊培養下で両者を共培養すると、ブラストイドが子宮内膜モデル内に埋没していく様子が観察された。切片を詳細に解析すると、ブラストイドが ICM 側から付着し、子宮内膜上皮のバリアが破られているのを確認した。また、シンシチウムの浸潤には、子宮内膜間質細胞の細胞融合が関与していることを明らかにした。このような生体を反映したこれまでにない着床モデルの作製により、これまでブラックボックスであった着床の分子機構の一端が明らかとなった。

胚着床オルガノイドモデルの作製

