

分担課題:制御性 T 細胞の着床、妊娠維持に関する役割についての研究

研究代表者 齋藤 滋 富山大学産科婦人科学教授
研究協力者 島 友子 富山大学産科婦人科学助教
中島彰俊 富山大学産科婦人科学助教
伊藤実香 富山大学産科婦人科学研究生

研究要旨

父親抗原特異的 Treg 細胞の有無を確認するために、BALB/c マウス(♀)×DBA/2 マウス(♂)のアロ交配を用いて、妊娠マウスにおける父親抗原特異的 T 細胞の推移をフローサイトメトリーにて確認した。父親抗原特異制御性 T 細胞は同系妊娠では変動を認めなかったが、アロ妊娠では着床前(妊娠 3.5 日)、着床直後(妊娠 5.5 日)に所属リンパ節で上昇し、子宮では着床直後(妊娠 5.5 日)以降に上昇を認めた。アロ妊娠では父親抗原特異的制御性 T 細胞が着床前より子宮の所属リンパ節で増殖を開始しており、着床以降はさらに胎児母体局面である子宮で増殖していることがわかった。以上よりアロ妊娠において制御性 T 細胞は父親抗原特異的に妊娠の成立維持に関与することが明らかとなった。

A. 研究目的

アロ妊娠の際、胎児(仔)は父親抗原を有するが、母体免疫系の変化により胎児は拒絶されずに妊娠は継続される。胎児許容機構の中で CD4+CD25+制御性 T 細胞の果たす役割は大きく、妊娠時に制御性 T 細胞が増加すること、流産例では制御性 T 細胞が減少することがこれまで知られていた。平成 21 年度の報告で、抗 CD25 抗体投与により制御性 T 細胞を減少させる方法を用いた実験系で、妊娠 2.5 日目のマウスに投与するとアロ妊娠では妊娠せず(着床障害)、同系妊娠では妊娠が確認されること、また、妊娠 4.5 日目および 7.5 日目の抗 CD25 抗体投与でアロ妊娠では高率に流産を生じるが同系妊娠では流産を生じないことより、アロ妊娠では制御性 T 細胞は着床と妊娠初期の妊娠維持に重要な役割を果たすことを明らかにしたと報告した。

アロ妊娠でのみ着床障害、流産が誘導されることから、父方抗原特異的制御性 T 細胞が存在する可能性に注目し、マウス妊娠時の父親抗原特異的制御性 T 細胞の同定とその変動を検討した。

B. 研究方法

父親抗原特異的 Treg 細胞の有無を確認するた

めに、アロ妊娠マウス群として、BALB/c マウス(♀)×DBA/2 マウス(♂)のアロ交配を用いた。DBA/2 マウスの保持している Mls I a 抗原に対して反応性 T 細胞受容体(TCR)である Vβ6 に注目した。同時に細胞増殖の有無を確認するため、Ki-67 抗原を染色し、妊娠 BALB/c マウスにおいて Ki67⁺Vβ6⁺Foxp3⁺T 細胞(父親抗原特異的制御性 T 細胞)の変動を解析した。妊娠 3.5(着床前)、5.5(着床後)、11.5(中期)、18.5(後期)日の妊娠各時期に、子宮局所、子宮所属リンパ節、全身表在リンパ節、脾臓の各臓器より単核球を分離し、フローサイトメトリーを用いて解析した。コントロール群として BALB/c マウス(♀)×BALB/c マウス(♂)の同系交配、および非妊娠 BALB/c マウス(♀)を用いた。

C. 研究結果

マウスは交配後 4.5 日に着床する。アロ妊娠では着床前(妊娠 3.5 日)、着床直後(妊娠 5.5 日)に子宮所属リンパ節で父親抗原特異的制御性 T 細胞率が有意に増加し、子宮では着床直後(妊娠 5.5 日)以降に有意に増加した。一方、アロ妊娠の脾臓、全身表在リンパ節、および同系妊娠では父親抗原特異的制御性 T 細胞の有意な変動は認めなかった。すなわち、アロ妊娠では胎児抗原特異的 Treg 細胞

が着床前より子宮の所属リンパ節で増殖を開始しており、着床以降はさらに胎児母体局面である子宮で増殖していることがわかった。

D. 考察・E. 結論

アロ妊娠において着床直前から母子接点の場においてのみ父親抗原特異的制御性 T 細胞が増殖していることから、性交渉後、腔内では樹状細胞が父親抗原を認識し、着床前日には所属リンパ節内で樹状細胞により父親抗原が制御性 T 細胞に抗原提示され、活性化された父親抗原特異的制御性 T 細胞が増殖し、着床後にはこれらの父親抗原特異的制御性 T 細胞が子宮に動員されて妊娠成立に関与するものと考えられた。

アロ妊娠の妊娠成立、妊娠維持に制御性 T 細胞は必須であり、さらに父親抗原特異的制御性 T 細胞の重要性が明らかとなった。

今後はヒトの原因不明不育症や着床障害の原因究明のために、ヒトにおける父親抗原特異的制御性 T 細胞の検索が必要となる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shima T, Sasaki Y, Ito M, Nakashima A, Ishii N, Sugamura K, Saito S. Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance during early stage of pregnancy, but not necessary during late stage of pregnancy in allogeneic mice. *J.Reprod.Immunol.* 85(2):121-129, 2010.
- 2) Saito S, Shima T, Nakashima A, Lin Y. Immune surveillance during pregnancy. *Indian J.Physiol Pharmacol.* 54(5):60-63,2010
- 3) 齋藤 滋, 島 友子, 中島彰俊: 着床、妊娠維持における制御性(regulatory)T 細胞の重要性. *医学のあゆみ*, 233: 129-134,2010.

2. 学会発表

- 1) 島友子: 妊娠子宮には胎児抗原特異的制御性 T 細胞が増加する。第 24 回日本生殖免疫学会ワークショップ 2009 年 11 月 27-28 日 東京 (学会賞受賞)
- 2) Tomoko Shima: 「Paternal antigen specific regulatory T cells proliferate in the draining

lymph nodes before the implantation and proliferate in the uterus after the implantation」the XI International Congress of Reproductive Immunology. Travelers award 受賞 2010.8

- 3) Tomoko Shima: 「Paternal antigen specific regulatory T cells proliferate in the draining lymph nodes before the implantation and proliferate in the uterus after the implantation, and are necessary for maintenance of allogeneic pregnancy 」The 30th American society reproductive immunology annual meeting. Travelers award 受賞 2010.5

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Shima T</u> , <u>Sasaki Y</u> , <u>Ito M</u> , <u>Nakashima A</u> , <u>Ishii N</u> , <u>Sugamura K</u> , <u>Saito S</u>	Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance during early stage of pregnancy, but not necessary during late stage of pregnancy in allogeneic mice.	J. Reprod. Immunol	85(2)	121-129	2010
<u>Saito S</u> , <u>Shima T</u> , <u>Nakashima A</u> , <u>Lin Y</u> .	Immune surveillance during pregnancy.	Indian J. Physiol Pharmacol	54(5)	60-63	2010
<u>齋藤 滋</u> , <u>島 友子</u> , <u>中島彰俊</u>	着床、妊娠維持における制御性(regulatory)T細胞の重要性.	医学のあゆみ	233	129-134	2010