

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

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大学院生
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助教

研究要旨

抗 CD25 抗体 (0.5mg) を妊娠 2 日目のマウス (BALB/c もしくは C57 BL/6) に投与すると、アロ妊娠では妊娠せず (着床障害)、Syngeneic 妊娠では妊娠が確認された。妊娠 4.5 日と 7.5 日に抗 CD25 抗体を投与するとアロ妊娠では高率に流産が生じたが、Syngeneic 妊娠では流産は生じなかった。抗 CD25 抗体投与により制御性 T 細胞が 60% 以上減少すると流産が生じた。一方、妊娠 10.5 日、13.5 日に抗 CD25 抗体を投与しても早産や妊娠高血圧症候群様症状はアロ妊娠でも全く認められなかった。

以上よりアロ妊娠において制御性 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、流産例や妊娠高血圧腎症では制御性 T 細胞が減少することはこれまで知られていたが、妊娠のどの時期に制御性 T 細胞が必要なのか、どのくらい制御性 T 細胞が減少すると流産や妊娠高血圧腎症になるのかは知られていなかった。抗 CD25 抗体を妊娠の各時期のマウスに投与することにより妊娠時の制御性 T 細胞の役割を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

BALB/c×B57BL/6 もしくは B57BL/6×BALB/c のアロ妊娠と BALB/c×BALB/c、C57BL/6×C57BL/6 の同系妊娠の系で交配した。交配後 2.5 日 (study1)、4.5 日と 7.5 日 (study2)、10.5 日と 13.5 日 (study3) に抗 CD25 抗体を腹腔内投与し、その後 study1 では 7.5 日目に、study2 では 11.5 日目に、study3 では 18.5 日目に犠牲死させた。制御性 T 細胞は CD4+CD25+Foxp3+細胞とし Flow Cytometry にて検討した。

C. 研究結果

マウスは交配後 4.5 日に着床する。抗 CD25 抗体を投与すると制御性 T 細胞は 2-3 日目で最低値となり、7 日目に元の値に復する。交配後 2.5 日目の抗 CD25 抗体投与は着床期に制御性 T 細胞が最低値となるモデルである。アロ妊娠ではラット IgG 投与群では 11.2±1.7 匹の胎仔が確認されたが、抗 CD25 抗体 (0.5mg) 投与群では胎仔を認めなかった。一方、同系妊娠では抗 CD25 抗体を投与してもコントロールと同様の胎仔数を認めた。

交配後 4.5 日、7.5 日に抗 CD25 抗体を投与すると抗 CD25 抗体量が 0.375mg、0.5mg、1.0g と増量するにつれてアロ妊娠では流産率が高率となり、制御性 T 細胞が約 60%減少して初めて流産が生じた。一方、同系妊娠では制御性 T 細胞が減少しても流産は増加しなかった。

交配後 10.5 日、13.5 日に抗 CD25 抗体を投与すると、制御性 T 細胞は減少したが、血圧、蛋白尿も変化なく、早産率も増加せず、胎仔体重、胎盤体重も差を認めなかった。

D. 考察・E. 結論

アロ妊娠の着床ならびに妊娠初期の妊娠維持に制御性 T 細胞は必須である。これまで、どのくらい制御性 T 細胞が減少すると流産が生じる

のか明らかではなかったが、約 60%減少すると流産が生じることが明らかとなった。また着床にも制御性 T 細胞が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

一方、妊娠中期以降に制御性 T 細胞が減少しても妊娠高血圧症候群や子宮内胎児発育遅延も生じないことが明らかとなった。胎児を攻撃する細胞性傷害性 T 細胞のクローン除去が起こっていることが推察されるが、その機序については今後明らかにする必要がある。またヒトとマウスでは妊娠期間も胎盤構造も異なるため、制御性 T 細胞の減少のみでは妊娠高血圧症候群の病態を説明できないのかもしれない。今後ヒトの不育症、着床障害についても検討していく必要がある。

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 in press.
- 2) Saito S, Shima T, Nakashima A, Lin Y. Immune surveillance during pregnancy. Indian J.Physiol Pharmacol. 54(5):60-63, 2010

2. 学会発表

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)

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
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			in press
Saito S, Shima T, Nakashima A, Lin Y.	Immune surveillance during pregnancy.	Indian J. Physiol Pharmacol	54(5)	60-63	2010