

# 妊娠前後での制御性T細胞のT細胞受容体レパートリーの変化と妊娠予後の関係



附属病院  
大学院医員 津田 さやか

研究分野

Research area

## 産婦人科学 免疫学

研究のキーワード → 生殖医学, リンパ球, 免疫寛容・自己免疫

研究内容

Research content

胎児は母体にとって異物である父親抗原を発現しているが、妊娠中は免疫寛容が誘導されるため母体から拒絶されない。制御性T細胞(regulatory T cells;Treg)は母子間の免疫寛容の誘導に重要な役割を果たす。マウスでは妊娠時に父親抗原特異的Tregが子宮に増加するが、ヒトでは父親抗原特異的Tregは同定されていない。父親抗原特異的Tregでは特定の抗原に反応するT cell receptor(TCR)をもつTregが増加している可能性がある。そこで、ヒトの妊娠中の末梢血と子宮内膜で、クローナルなTregが出現するか否かを調べることを目的とした。

研究のポイント

Research point

当院を受診した妊婦より取得した末梢血と子宮内膜からリンパ球分離し、CD4+CD25+CD127lowCD45RA-細胞(effector Treg)を単一細胞ソーティングした。これらのTCR抗原認識部位である相補性決定領域(CDR3)領域のアミノ酸配列および塩基配列のレパートリーを解析し、共通のCDR3領域を有する群をクローナルなTCRレパートリーとした。妊娠初期、後期とも末梢血ではクローナルなTCRレパートリーの割合が増加せず、子宮局所でのみTregのTCRクロナリティーが認められることが分かった。

研究への取組、今後の展望

妊娠初期、後期とも末梢血ではクローナルなTCRレパートリーの割合が増加せず、子宮局所でのみTregのTCRクロナリティーが認められたことから、何らかの抗原に対してTregは反応性にクローナルに増加していると考えられる。マウスでの報告では、妊娠子宮には父親抗原特異的Tregが集積していたことから、ヒトでも同様に父親抗原特異的Tregがクローナルに増加している可能性がある。取得したTCRの抗原特異性が明らかとなれば、ヒトの妊娠維持機構の解明につながるため、これを検証することを目標としている。富山大学免疫学教室では、CD8陽性T細胞のTCR $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖のペアをTCR陰性細胞株または末梢血リンパ球に発現させ、抗原で刺激することにより抗原特異性を評価することに成功している。Treg由来のTCRを発現させた細胞株と臍帯血を混合培養し、活性化マーカーないしはサイトカインの産生を評価することで、抗原特異性を検証したい。

また、流産や妊娠高血圧腎症といった異常妊娠症例と、正常妊娠でのTregのTCRレパートリーを比較することで、Tregの変動が妊娠予後を予測するバイオマーカーとなりうるかを検討する。

## 研究 REPORT

### 方法

- 1) 富山大学附属病院産科婦人科外来を受診した妊婦より、文書で同意を得た上で、末梢血ならびに分娩時または流産手術時に得られた脱着膜を採取しリンパ球を分離した。
- 2) これらのリンパ球から、CD4+CD25+CD127lowCD45RA-細胞(effector Treg)を単一細胞ソーティングした。
- 3) RT-PCR法を用いて単一細胞からTCRのcDNAを増幅した。シーケンサーで塩基配列を決定し、TCR $\beta$ 鎖サブユニットにおけるCDR3領域のアミノ酸配列および塩基配列のレパートリーを解析した。
- 4) 共通のCDR3領域を有する群をクローナルなTCRレパートリーとし、解析できたTCRにおける割合を算出した。(図1)

### 結果

妊娠初期(人工妊娠中絶)は7例(妊娠週数:中央値8(6-11)、年齢:中央値28.0(19-35))、妊娠後期は4例(妊娠週数:中央値39週(38-40)、年齢:中央値33.5(26-36))であった。脱着膜から取得したeffector Tregでは、妊娠初期よりも後期でクローナルなTCRレパートリーの割合が増加していた(6.7 $\pm$ 5.8% vs 24.9 $\pm$ 7.1%,  $p=0.008$ )(図2)。末梢血リンパ球から取得したeffector Tregでは、妊娠初期と後期でクローナルなTCRレパートリーの割合が増加する傾向はなかった(図3)。

### 結論

妊娠初期、後期とも末梢血ではクローナルなTCRレパートリーの割合が増加せず、子宮局所でのみTregのTCRクロナリティーが認められることが分かった。何らかの抗原に対してTregは反応性にクローナルに増加していると考えられる。

### 今後の課題

クローナルに増加した脱着膜Effector TregのTCRが胎児抗原に特異的であることを検証することを目標としている。

