

妊娠時の免疫寛容機構を解析するモデル動物としてのコモンマーモセットの有用性について

The Utility of the Common Marmoset for the Human model of Pregnant Immunity

柏木 寛史、亀谷 美恵

東海大学先進生命科学研究所・医薬総合研究部門

Hirofumi Kashiwagi and Yoshie Kametani

Division of Pharmaceutical Sciences

Institute of Advanced Biosciences, Tokai University

[要旨]

妊娠中、アロである胎児組織を受容する免疫寛容に関してはいまだ不明な点が多い。胎盤または母体全身で産生が亢進する妊娠関連タンパク質が報告されており、これらは免疫寛容のために働くと考えられている。しかし、妊娠機構や関連分子は種によって様々であり、ヒトモデルとなりうる実験動物の選定は難しい。コモンマーモセットは免疫関連タンパク質においてヒトと約86%の相同性を持ち、浸潤性の胎盤の形状もヒトに近い。そのため、霊長類に共通して重要な免疫寛容機構の解析に適していると考えられる。

[Abstract]

During pregnancy, allogeneic fetal tissues are accepted by a mother's immune condition called pregnant immunity, the detail of which has not been clarified yet. Pregnancy-related proteins are augmented systemically or in the placenta in the pregnancy period and thought to function in the immune tolerance against allogeneic fetal tissues. However, the species specificity of pregnancy system and related molecules makes it difficult to select an experimental animal species as a human model. Common marmoset, a new world monkey, is an experimental animal, which has invasive trophoblasts in the placenta. Moreover, various immune related genes of CM exhibits high homology with that of human. Therefore, CM may be suitable for the study of immune tolerance common in the primates developing invasive placentae.

[Key Words]

Pregnant immunity, Pregnancy related protein, Animal model, Common Marmoset, Trophoblast

1. はじめに

母体採血のみで出生前診断がなされることから明らかのように、胎児組織は母体血漿中へ流出し、全身を循環する。これらの胎児組織は全身性の免疫応答を生じさせる可能性があるため、それを抑制しながらも感染症に対しては免疫応答を惹起できる状態に母体免疫系をコントロールする機能があると考えられる。しかし過去の報告は、胎盤局所における胎児組織に対する母体の免疫応答についての研究が多く、全身性の免疫調節の機序については報告も少なく詳細は明らかになっていない。しかし、母体全身を循環する胎児組織とその免疫応答の解明は妊娠免疫全体を明らかにする上で非常に重要な位置を占める。

本総説では、妊娠時に著明に増加して全身性の免疫寛容に関与する妊娠関連タンパク質について、筆者ら

の研究内容も含めて概説する。

2. 妊娠関連タンパク質

妊娠期間中、全身性に存在するアロの細胞あるいはその断片に対して過剰な反応を引き起こすことなく正常な妊娠を維持するため、母体血液の中で妊娠時に高濃度となる妊娠関連タンパク質の関与が推測されてきた。妊娠関連タンパク質としては多くの分子が報告され、それらの機能も少しずつではあるが解明されつつある¹⁾。例えば、Pregnancy Specific Beta-1-Glycoprotein (PSG)は妊娠の維持に重要であり、胎盤においてマクロファージ活性に変化を起し炎症性Th1環境から抗炎症性Th2環境に免疫系を変化させることが報告されている。また Pregnancy Zone Protein(PZP)は妊娠時に著明に増加し、Transforming growth factor-beta

(TGF- β)と結合して免疫を抑制すると報告されている。さらに、Human Leucocyte Antigen-G(HLA-G)は胎盤の母児境界において免疫寛容に働くことが報告されている。PSG や PZP は妊娠時に血漿中で増加するタンパク質であり、一方 HLA-G は可溶性の分画もあるものの基本的には膜結合型であり、胎盤局所で増加するタンパク質である。

しかしこれら妊娠関連タンパク質の機能解析の大部分はマウスを用いて行われている。マウスとヒトの妊娠は大きく異なる。先述の3つのタンパク質については、例えばマウスでは PSG オースログや HLA-G オースログは同定されておらず、PZP は妊娠機能と無関係である。このように、ヒト妊娠においては、アロ抗原に対応する免疫調節能等の機能が解明されているとは言えない。胎盤を含めた全身の免疫調節機構の解析には、どのような動物モデルを使用すべきかが大きな課題である。

3. 妊娠関連タンパク質の研究に適した動物モデルの検討

妊娠を正常に維持する機構は、種の進化の過程において大きく変化したと考えられる。それは種によって妊娠期間が様々であることや、重要な母児接点のある胎盤の構造に関しても種によってそれぞれ特徴があることから推測される。例えば、妊娠期間はげっ歯類では約3週間と非常に短いものに対して、霊長類では数か月と長期に渡る。また霊長類の中でも新世界サルであるコモンマーモセット(CM)は約5か月と最も短い種のひとつである一方で、ヒトは約10か月と霊長類の中で最も長い。げっ歯類に比べて霊長類の方がより妊娠期間が長く、その間より長期に、より広汎にアロである胎盤を維持するためと考えられる。

胎盤の構造も種によって様々である。げっ歯類の胎盤はラビリンス様の組織を持ちトロフォブラストは非浸潤性であるが、マカク類より新しい霊長類の胎盤は絨毛型でありトロフォブラストが子宮脱落膜への浸潤性を示すことが報告されている。絨毛外トロフォブラストとなり脱落膜へ浸潤する過程において、脱落膜の血管内皮細胞を置換してさらに胎児組織が母体血中に流入する可能性がある。浸潤性の胎盤を持つ種は、胎盤局所でおこるアロに対する免疫応答のみならず、母体血中に流入する胎児組織に対して、より高度な全身性の免疫寛容を要すると考えられる。

我々は小型の新世界サルであり、トランスジェニッ

ク動物や遺伝子編集技術を用いたノックアウト動物も産生されている実験動物の CM に注目した。CM の免疫機能の解析については主として我々のグループが行ってきており、ヒトとの類似性と相違点について既に多くの知見を得ている²⁾。基本的に、リンパ球系の細胞はマウスとヒトで共通であり、さらに免疫に関連する各種機能分子 cDNA のヒトと CM 間の homology は約 86%であるため³⁾、CM は免疫進化的にヒト・マウスの中間に位置する種であるといえる。そこでチンパンジーの様ヒトをミミックするほどに近くはないが、霊長類における妊娠免疫機構の進化を考察する上では適切な進化的位置にあると考えることができる。

また、CM の免疫系はヒト・マウスの中間に位置するが、速い速度で進化する胎盤については、CM は柵状の絨毛を持つことが組織学的に示されている。我々はトロフォブラストの浸潤を CM 胎盤組織に認めたため、マウスと比較して CM はヒト胎盤の浸潤性に起因するアロとの広汎にわたる接触がもたらす組織の拒絶をいかに回避するかについての分子機構を明らかにするためのモデル動物として、優れていると考えられた (data not shown)。

そこで現在、我々はヒトと CM の両妊娠検体を用いて、血漿中および胎盤局所の両者において妊娠期間と関連して変動する妊娠関連タンパク質の比較解析を行っている。胎盤は母体にとってアログラフトである胎児組織が大量に接する場であり、トロフォブラストの浸潤によって最も強い免疫応答が起こりうる組織である。一方、妊娠中、これらの胎児由来の細胞の一部が母体に流入しているため、時として母体において免疫応答を惹起し、羊水塞栓症、産科 DIC などの重篤な合併症を引き起こす可能性が指摘されている。そのため、全身性に循環し、胎盤にも集積する妊娠関連タンパク質のプロファイリングを行えば、それらが免疫応答の抑制機構にどのように関わっているのかを推測する事が可能となると考えられる。さらに、CM を用いてさらに詳細に霊長類妊娠免疫機構を解析する事が有用であると考えられる。

4. 展望

我々は図1のような方法によって、これらの進化的な意義について研究を行っている。CM とヒト臨床検体の血漿中妊娠関連タンパク質の比較解析により、両者に共通して保存されてきた妊娠関連タンパク質の機能を明らかにする事が期待される。

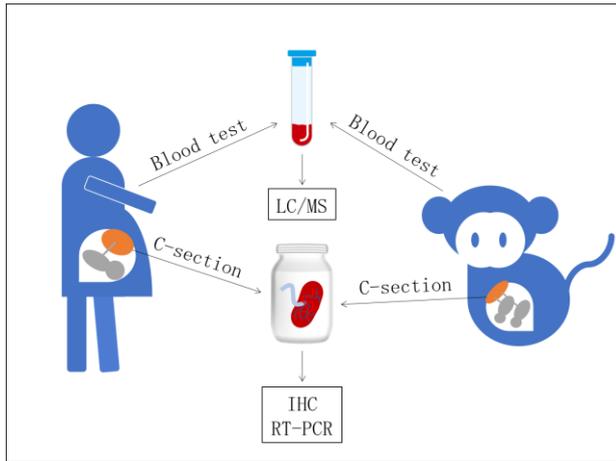


図1. 解析プロトコール

妊娠の各 trimester 毎に血漿を採取し、妊娠関連タンパク質動態を LC/MS を用いて解析する。また帝王切開で娩出された胎盤を採取し、胎盤でのタンパク質発現を IHC、RT-PCR を用いて解析する。

5. 引用文献

- [1] G. N. Than, *et al.*, CRC Press Inc.,(1993)
- [2] Y. Kametani, *et al.*, *Exp Anim.*, in press
- [3] K.Kohu, *et al.*, *Tohoku J Exp Med.*, **215**,167(2008)
- [4] 谷岡功邦 アドスリー(1996)

6. 業績

【論文発表】

- 1) Y.Kametani, T.Shiina, R.Suzuki, E.Sasaki, S.Habu, Comparative immunity of antigen recognition, differentiation and other functional molecules-similarities and differences among common marmoset, human and mouse. *Exp Anim.*, in press
doi: 10.1538/expanim.17-0150.
- 2) Y.Kametani, Y.Yamada, S.Takabayashi, H.Kato, K.Ishiwata, N.Watanabe, E.Sasaki, S.Habu, The response of common marmoset immunity against cedar pollen extract. *Biosci trends*, in press
doi: 10.5582/bst.2017.01219.
- 3) B.Tsuda, A.Miyamoto, K.Yokoyama, R.Ogiya, R.Nishino, M.Terao, T.Morioka, N.Niikura, T.Okamura, H.Miyako, Y.Saito, Y.Suzuki, Y.Kametani, Y.Tokuda B cell populations are expanded in breast cancer patients compared with healthy controls. *Breast Cancer*, in press
doi: 10.1007/s12282-017-0824-6
- 4) Y.Kametani, I.Katano, A.Miyamoto, Y.Kikuchi, R.Ito,

Y.Muguruma, B.Tsuda, S.Habu, Y.Tokuda, K.Ando, M.Ito, NOG-hIL-4-Tg, a new humanized mouse model for producing tumor antigen-specific IgG antibody by peptide vaccination. *PLOS ONE* **12**, e0179239.
doi: 10.1371/journal.pone.0179239

【学会等発表】

- 1) H.Kashiwagi, Y.Kametani, T.Suzuki, H.Ishimoto, S.Izumi, M.Mikami, Study on the kinetics of pregnancy-related proteins, ESHRE Campus Event, 2017.9, Edinburgh
- 2) 柏木寛史, 亀谷美恵, 大野裕介, 石本人士, 和泉俊一郎 コモンマーモセットの血漿中妊娠関連タンパク質の同定 第32回日本下垂体研究会学術集会 2017.8 日光
- 3) H.Kashiwagi, S.Izumi, Y.Kametani, T.Suzuki, H.Ishimoto, M.Mikami, The impact of hypoleptinemia to constitution of lymphocyte in patients with weight loss-related amenorrhea, 25th Asian and Oceanic Congress of Obstetrics and Gynecology, 2017.6, Hong Kong
- 4) H.Kashiwagi, S.Izumi, Y.Kametani, T.Suzuki, H.Ishimoto, M.Mikami, Clinical condition of hypoleptinemia in patients with weight loss-related amenorrhea, 11th European Congress on Menopause and Andropaus, 2017.5, Amsterdam
- 5) H.Kashiwagi, S.Izumi, M.Shinoda, Y.Nishijima, T.Suzuki, H.Ishimoto, M.Mikami, Common marmoset as an animal model in pregnancy associated plasma proteins -PZP, A2ML1, PSG- 第69回日本産科婦人科学会学術講演会 2017.4 広島
- 6) H.Kashiwagi, S.Izumi, T.Suzuki, H.Ishimoto, M.Mikami, Study on effect of endometriosis to ART outcome -Relationship of miscarriage and myometrial thickness- ESHRE Campus Event, 2017.1, Sofia
- 7) Y.Ohno, M.Kojima, R.Kinami, S.Izumi, R.Ito, M.Ito, Y.Kametani. Pregnant humanized mouse as a model of human pregnant immunity 第46回日本免疫学会総会 2017.12 仙台
- 8) A.Miyamoto, I.Katano, R.Ito, B.Tsuda, Y.Tokuda, S.Habu, M.Ito, Y.Kametani. Production of specific IgG against HER2 peptide is decreased in NOG-IL4-Tg mice transplanted with breast cancer patients PBMC 第46回日本免疫学会総会 2017.12 仙台
- 9) 亀谷美恵, 宮本あすか, 片野いくみ, 伊藤亮治, 津田万里, 安藤清志, 垣生園子, 伊藤守, 徳田裕 NOG-IL-4-tg を用いたヒト体液性免疫応答評価系の確立 国際個別化医療学会 2017.10 東京

- 10) 安藤麻子、今枝紀明、松原達也、高須正規、宮本あすか、大島志乃、西村崇史、西村俊明、西飯直仁、亀谷美恵、北川均 マイクロミニピッグにおけるブタ MHC(SLA)クラス II はプロタイプと繁殖成績との関係 第 26 回日本組織適合性学会大会 2017.10 広島
- 11) 津田万里、亀谷美恵 乳癌患者におけるがん組織・転移リンパ節・末梢血の PD-1 発現解析の確立に向けて 第 15 回日本臨床腫瘍学会 2017.7 神戸
- 12) 亀谷美恵、阿部幸一郎、野中泉、廣井直樹、矢部久美子、林宏幸、小林恵一、町淳二、川田浩志 多大学参加型ハワイ語学研修プログラムによる医学英語教育の取り組み 第 49 回日本医学教育学会大会 2017.8 札幌
- 13) 大野裕介、小島美香、木南理仁、和泉俊一郎、伊藤亮治、伊藤守、亀谷美恵 ヒト妊娠モデルとしての妊娠ヒト化マウス作製 第 32 回日本下垂体研究会学術集会 2017.8 日光
- 14) 宮本あすか、片野いくみ、伊藤亮治、津田万里、徳田裕、垣生園子、伊藤守、亀谷美恵 NOG-IL-4-Tg マウスを用いたヒト組織移植の検討 第 32 回日本下垂体研究会学術集会 2017.8 日光
- 15) 灰田祐子、近藤朱音、中奥大地、山崎幹雄、森根幹生、檜尾健二、前田和都寿、高橋千果、和泉俊一郎、亀谷美恵 胎児発育不全(FGR)および胎児異常(non FGR)の胎盤組織における TrkB 相ソフォーム発現の比較解析 第 32 回日本下垂体研究会学術集会 2017.8 日光
- 16) 宮本あすか、片野いくみ、伊藤亮治、津田万里、徳田裕、垣生園子、伊藤守、亀谷美恵 ヒト化 NOG-IL-4-Tg マウスを用いたペプチドワクチン投与効果の解析 第 21 回日本がん免疫学会総会 2017.6 千葉
- 17) 大野裕介、小島美香、木南理仁、亀谷美恵 ヒト化マウスにおける T 細胞の動態解析 第 64 回日本実験動物学会総会 2017.5 福島
- 18) 安藤麻子、今枝紀明、宮本あすか、大島志乃、亀谷美恵、高須正規、松原達也、西飯直仁、西村崇史、西村俊明、北川均 マイクロミニピッグ集団における SLA クラス II ハプロタイプの年次変化 第 64 回日本実験動物学会総会 2017.5 福島

[シンポジウム]

- 1) 亀谷美恵 胎盤における免疫学的寛容機構 (招待講演) 第 24 回日本毒性学会学術年会 2017.9 十和田

7. 謝辞

本稿を書く機会を与えていただきました平山令明先生に心より感謝いたします。