

妊娠免疫とステロイドホルモン

Relation of pregnant immunity and steroid hormones

大野 裕介、亀谷 美恵

東海大学先進生命科学研究所

Yusuke Ohno and Yoshie Kametani

Institute of Advanced Biosciences, Tokai University

[要旨]

本来、免疫系は非自己を認識し攻撃する生体防御機構であるが、ヒトを含む有胎盤哺乳類の母体免疫系は異物であるはずの胎児を拒絶せず、妊娠状態は維持される。妊娠機構は哺乳類間での種差が大きく、ヒト以外の哺乳類の解析結果をヒトに応用することは困難を有する。しかし、妊娠時に産生が亢進するホルモンであるプロゲステロンや流産と関連する糖質コルチコイドは哺乳類で共通の分子であり、種にとらわれず解析可能であることから、ステロイドホルモンに依存するヒトの妊娠免疫系の解析がヒト化マウスを用いて可能であることが期待される。

[Abstract]

Although immune system recognizes and attacks allografts with a biological defense system, pregnant immune system does not reject fetus as an allograft during pregnancy. Because mammalian pregnant system is highly diverged, it is difficult to adapt the molecular mechanism of other mammals to human. However, pregnant related steroid hormones such as progesterone and glucocorticoid are common among them. Therefore, analysis of human immunity depending on the steroid hormones by using the humanized mice may be preferable.

[Key Words]

Pregnant immunity, Progesterone, Glucocorticoid, Placenta

1. はじめに

妊娠時、母体は胎児を受容するために免疫寛容状態となる。免疫系は本来、非型の異なる父親由来遺伝子を持つ胎児を拒絶せず、妊娠時自己の物質に対する防御機構であるが、妊娠時の母体免疫系はMHC 態は維持される。筆者らは、哺乳類に特有のこの妊娠免疫機構に着目し、その動態解析を試みている。

ここでは、現在に至るまでのヒトおよびマウスを対象とした妊娠機構解析の現状について概説し、妊娠関連ステロイドホルモンに依存する免疫系の解析の可能性を考察する。

2. 妊娠とプロゲステロン

妊娠とは哺乳類の胚が母体との間に胎盤を形成し発生を進める現象やその状態のことと定義される。

卵巣から排卵された卵子に精子が到達し、卵管にて受

精が起こると、受精卵は子宮へと移動し子宮内膜に着床して胎盤の形成を開始すると共に発生を進める。子宮内膜は着床に備え、卵巣の黄体ホルモン(プロゲステロン:P4)(図1参照)の作用により子宮内膜の肥厚と発達、またその状態の保持が行われる。また、妊娠10週頃からは胎盤の絨毛細胞におけるP4の産生が亢進し、胎盤がP4産生の大半を支配するようになる。P4産生は胎盤が成熟する第2三半期(2nd trimester)以降も亢進し続け、第3三半期(3rd trimester)後期まで亢進が続く。このように妊娠の成立、維持にはP4が深く関連している事が知られている¹⁾。

P4はコレステロールの代謝産物であるステロイドホルモンの一種である。P4は主に黄体から産生され、胎盤のExtravillous trophoblast (EVT) に作用して浸潤能を調節することが、絨毛由来細胞株を用いた*in vitro*解析で明らかになっており、胎盤の形成に重要な役割を担っている²⁾。

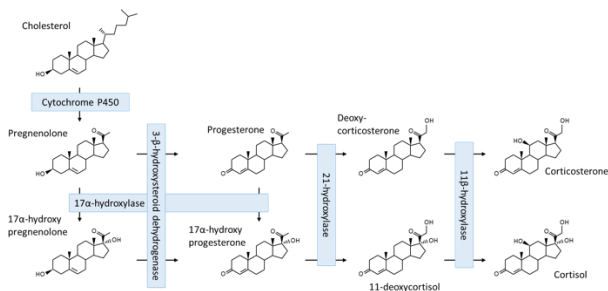


図 1. ステロイドホルモンの合成

ステロイドホルモンは副腎および生殖腺においてコレステロールより合成される。図のようにプロゲステロンから様々な派生体が産生され、その中にコルチゾール・コルチコステロンも含まれる。

また、P4 は妊娠免疫に関連するリンパ球の性状の変化に大きな寄与をする。リンパ球の中でも CD4⁺T 細胞 (Th 細胞) は多彩なサイトカインを産生し、細胞障害性免疫と体液性免疫のバランスをシフトさせる (図 2)。

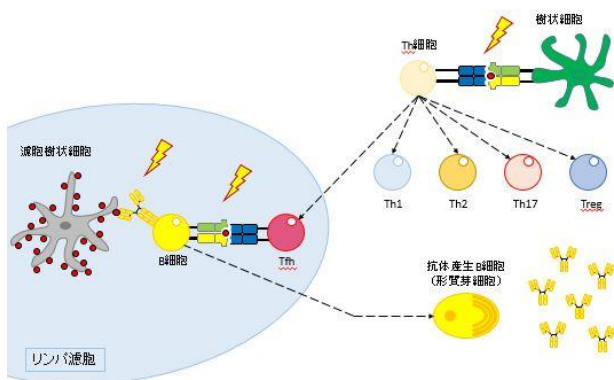


図 2. 各 Th 細胞の特徴

CD4⁺T 細胞 (Th 細胞) はナイーブ Th 細胞 より各々異なるサイトカインによって分化誘導され、異なるエフェクター機能を有する細胞となる。Th1 細胞は細胞性免疫、Th2 細胞は体液性免疫、Th17 細胞は自己免疫性疾患やアレルギー、Treg は他の Th 細胞の活性化抑制、そして Tfh は B 細胞の抗体産生細胞への分化に関与する。

P4 依存的に、妊娠時に CD4⁺T 細胞は Th2 サイトカインを産生することが報告されている。IL-4 や IL-10 などの Th2 サイトカインは細胞性免疫を抑制し、免疫系を体液性免疫にシフトさせることが分かっている。

P4 はこのように妊娠の開始とともに産生量が上昇し、胎盤の成長と連動しながら、胎盤の形成だけでなく、妊娠時の全身の免疫系の調節にも重要な役割を果たす事

近年の研究で明らかとなってきている。例えば、Yushi Yao らは P4 がヒトおよびマウスの記憶 CD8⁺T 細胞に作用し、IFN- γ 遺伝子のメチル化を誘発するとの報告をしており、P4 が炎症に関与するサイトカイン IFN- γ の産生を減少させる事を示唆している³⁾。

3. プロゲステロンと糖質コルチコイド

P4 が妊娠免疫に与える影響を明らかにするためには、リンパ球に対して P4 がどのような作用をするかを解析することが有用であるが、P4 のシグナルをヒトリンパ球に伝達すべき P4 受容体が発現するかについてはまだ議論があり、明らかになっていないが、近年の報告によれば、ヒトリンパ球にはほとんど P4 受容体は発現しないと考えられている^{4,5,6)}。そのため、P4 を代替するシグナル伝達分子及びそれを介して誘導される免疫応答の調節に関する解析は進んでいない現状にある。しかし最近、Alexandra Maximiliane Hierweiger らは、マウスにおいて P4 が糖質コルチコイド受容体 (GR) を介して Treg 以外の T 細胞の細胞死を誘導すると報告した⁷⁾。この知見は、ヒトリンパ球においても、P4 が GR を介して免疫抑制を行う可能性を示唆している。

P4 の代謝産物である糖質コルチコイド (GC) は副腎皮質より分泌され、免疫系に強い抑制作用を持つ。GC は GR を介して転写因子 NF- κ B に作用し、炎症性サイトカインの産生を抑制するため、細胞障害性 T 細胞の活性化抑制やマクロファージの食能低下を誘導すると考えられる。そのような効果を持つため、臨床ではステロイドホルモンは自己免疫疾患やアレルギーなどの疾患の治療に用いられている。その一方で、GC は妊娠の経過と共に産生が亢進し、P4 よりも強い免疫抑制機能を持つことが明らかとなっている。また 3rd trimester 後期では産生がピーク時よりも低下し、出産のトリガーの一つであると考えられている⁸⁾。しかしその作用機序の P4 との違いは明確になっていない。

GC そして GR が妊娠免疫機構に大きな影響を与えることが推測されることから、妊娠個体を用いた *in vivo* の比較解析が必要と考えられる。妊娠ホルモンに関連した病因の解明や治療法の開発などは、そのような *in vivo* モデルによってのみ、可能となると考えられる。

4. ヒトとマウスの妊娠機構の相違

ヒトへの研究応用に向けた実験動物としては長年マウスが選択されてきた。マウスはヒトと同じ有胎盤哺乳類に分類され、組織学的、生理学的、免疫学的分野などで現

在のあらゆる知見を得るための基礎となっているが、進化が急激な胎盤形成に関連する妊娠機構には、ヒトとは異なる点が多々存在する。

マウスでは、着床以降の血漿中 P4 濃度上昇はヒトと同様に亢進するが、マウスの胎盤はヒトとは異なった形状の胎盤を形成する。ヒトでは EVT が母体免疫を回避しながら脱落膜まで浸潤し、螺旋動脈の血管内皮を置換して、新たな血管新生を行うことにより胎盤に流入する母体血を増量させ、これによりガス交換・栄養交換の円滑化を行っていると考えられている。その一方、マウス胎盤ではヒトに見られる強い浸潤は観察されず、Trophoblast は大小不規則な形状の血液を容れるラビリンスと呼ばれる空隙を形成し、その空隙を通して栄養交換が行われていると考えられている⁸⁾。

これらの事実から明らかなように、ヒトとマウスは、胎盤を構成する胎児側組織であるトロフォブラストの浸潤能について大きな相違点を持つことが明らかである。ヒトトロフォブラストの浸潤能がマウスと比較して高いことは、それだけ非自己に対する免疫系の抑制能が高くなる必要があることを意味する。事実、下記のように、様々な免疫抑制機能が明らかになっている。

第一に、ヒトとマウスの胎盤で大きく異なる点の一つとして主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の発現が挙げられる。ヒトのトロフォブラストは古典的 MHC Class I 分子である HLA-A, HLA-B の発現を低下させるとともに、非古典的 MHC Class I 分子である HLA-G の発現を亢進している。HLA-G は免疫抑制を直接リンパ球に誘導し、CD8⁺T 細胞や NK 細胞からの攻撃を抑制することが明らかとなっている。また、免疫系を抑制する CD4⁺T 細胞サブセットである Treg も HLA-G を発現して免疫抑制を行っていると考えられている⁹⁾。しかしながら、マウスでは HLA-G のオーソログ分子の発現が無く、またホモログ遺伝子も見つかっていない¹⁰⁾。そのためマウスでは、抗原提示細胞を含む間接的な MHC Class I 遺伝子に関連した免疫抑制が主流となる。

次に、妊娠マウスでは Treg の増加が報告されている⁷⁾。その中でも induced Treg (iTreg) は IL-4、IL-10、TGF- β 存在下で抗原刺激を受けると、末梢においてナイーブ T 細胞から分化誘導される T 細胞である。ヒト T 細胞の *in vitro* 培養系では P4 添加による IL-10 産生は抑制されており¹¹⁾、ヒトとマウス間の応答性には違いがある可能性がある (未発表データ)。これら以外にも、トロフォブラストが発現する PD-L1 と T 細胞が発現する PD-1 の相互作用や、同様の FAS/FASL 間の相互作用、妊娠関連タン

パク質など枚挙にいとまがない。また、それらの分子の発現と P4 などの妊娠関連ステロイドホルモンの影響下での免疫抑制の種差については、厳密に比較することが困難であった。そのため、ヒト妊娠免疫の詳細を実験的に証明することは不可能であった。

5. ヒト化マウスの妊娠免疫解析モデルとしての可能性

以上のように、妊娠には胎児が母体免疫系から逃れる機構が存在するが、種によって特有の機構が存在する。そのため、ヒトの *in vivo* での妊娠免疫を研究するためには制限の多いヒトを材料として用いなければならないが、またヒト個体を実験に用いることが出来ないため、組織固有の免疫系細胞局在や調節機構を解析することは困難である。

実験動物中央研究所が開発した NOG (NOD-Shi-scid, IL-2R γ^{null}) にヒト造血幹細胞や血球細胞を移植すると、高生着率でヒト血球細胞が分化あるいは生着することが認められている。マウスへのヒト造血幹細胞移植は、不完全な末梢リンパ球の分化や体液性免疫応答の再構築が困難である一方、末梢血単核球移植では、重度免疫不全マウスは移植片対宿主病 (GVHD) で死に至る。しかし、これらのマウスへの、ヒトサイトカインの遺伝子導入や、他のマウスとの交配により、様々なヒトの免疫状態を再構築することが可能になりつつある^{12,13)}。

6. 展望

このように、ヒト妊娠免疫には妊娠関連のステロイドホルモンが深く関与している。妊娠機構も免疫系も進化が早く、ヒト妊娠免疫を解析するための優れた実験動物の選定は困難であるが、筆者らはヒト化マウスを妊娠させ、これらのヒト化マウスを活用することで、妊娠環境におけるヒト血球細胞に対する P4 や GC の効果の *in vivo* における動態解析が可能であると考えている。

7. 引用文献

1. 青木康子, 加藤尚美, 平澤美恵子. 第3版 助産学大系 第3巻 妊娠・分娩の生理と病態. 日本看護協会出版会. 2003.
2. Yun Sung Jo, *et al.* Progesterone Inhibits Leptin-Induced Invasiveness of BeWo Cells. *International Journal of Medical Sciences*. 2015. 12(10):773-9.
3. Yushi Yao, *et al.* Progesterone impairs antigen-non-specific immune protection by CD8 T memory cells via interferon-

- γ gene hypermethylation. *PLoS Pathogens*. 2017. 13(11):e1006736.
4. David Lissauer, et al. Progesterone promotes maternal-fetal tolerance by reducing human maternal T-cell polyfunctionality and inducing a specific cytokine profile. *European Journal of Immunology*. 2015. 45(10): 2858–2872.
 5. Jan Broder Engler, et al. Glucocorticoid receptor in T cells mediates protection from autoimmunity in pregnancy. *PNAS*. 2017. 114(2): E181–E190.
 6. Julia Szekeres-Bartho. The Role of Progesterone in Feto-Maternal Immunological Cross Talk. *Medical Principles and Practice*. 2018. 27(4): 301–307.
 7. Alexandra Maximiliane Hierweger, et al. Progesterone modulates the T cell response via glucocorticoid receptor-dependent pathways. *American Journal Reproductive Immunology*. 2019. e13084.
 8. 多田伸彦. マウス組織学. 学際企画株式会社. 2004.
 9. André Schmidt, et al. Only humans have human placentas: molecular differences between mice and humans. *Journal of Reproductive Immunology*. 2015. 108:65-71.
 10. 高木繁夫, 須川侑, 一條元彦, 水野雅彦. 胎盤-基礎と臨床- ISBN 4-524-26124-9.
 11. David Lissauer, et al. Progesterone promotes maternal-fetal tolerance by reducing human maternal T-cell polyfunctionality and inducing a specific cytokine profile. *European Journal of Immunology*. 2015. 45(10):2858-72.
 12. Ryoji Ito, et al. A Novel Xenogeneic Graft-Versus-Host Disease Model for Investigating the Pathological Role of Human CD4+ or CD8+ T Cells Using Immunodeficient NOG Mice. *American Journal of Transplantation*. 2017. 17(5):1216-1228.
 13. **Yoshie Kametani**, et al. NOG-hIL-4-Tg, a new humanized mouse model for producing tumor antigen-specific IgG antibody by peptide vaccination. *PLoS One*. 2017. 12(6): e0179239.
- Masafumi Fukagawa *International Journal of Endocrinology, in press*.
2. CD155-transducing signaling through TIGIT plays a important role in transmission of tolerant state and suppression capacity. Naoko Negishi, Takehito Sato, Yumi Yamashita-Kanemaru, Kazuko Shibuya, Koichiro Uchida, **Yoshie Kametani**, Hideo Yagita, Jiro Kitaura, Ko Okumura and Sonoko Habu *ImmunoHorizons*, 2018, 2(10) 338-348 doi: <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.1800033>.
 3. Localization of SOX2-positive stem/progenitor cells in the anterior lobe of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) pituitary. Saishu YOSHIDA, Ken FUJIWARA, Takashi INOUE, Erika SASAKI, **Yoshie KAMETANI**, Susumu TAKEKOSHI, Naoko INOSHITA, Takako KATO, Yukio KATO. *Journal of Reproduction and Development*, 2018 64(5):417-422.
 4. Expression of glucocorticoid receptor shows negative correlation with human B-cell engraftment in PBMC-transplanted NOG-hIL-4-Tg mice. Toshiro Seki, Asuka Miyamoto, Shino Ohshima, **Yusuke Ohno**, Atsushi Yasuda, Yutaka Tokuda, Kiyoshi Ando, **Yoshie Kametani***. *BioScience Trends*, 2018 12(3):247-256.
 5. Synthesis and Immunological Evaluation of Self-Adjuvanting Clustered N-Acetyl and N-Propionyl Sialyl-Tn Combined with A T-helper Cell Epitope as Antitumor Vaccine Candidates. Tsung-Che Chang, Yoshiyuki Manabe, Yukari Fujimoto, Shino Ohshima, **Yoshie Kametani**, Kazuya Kabayama, Yuka Nimura, Chun-Cheng Lin, Koichi Fukase* *Angew Chem Int Ed Engl*. 2018 57(27):8219-8224.
 6. The significance of humanized mouse models for the evaluation of the humoral immune response against cancer vaccines. Review **Yoshie Kametani***, Asuka Miyamoto, Toshiro Seki, Ryoji Ito, Sonoko Habu, Yutaka Tokuda *Personalized Medicine Universe*, 2018 7:13-18.

【学会等発表】

8. 業績

【論文発表】

1. Glucocorticoid receptor antagonist administration prevents adrenal gland atrophy in an ACTH-independent Cushing's syndrome rat model. Atsushi Yasuda, Toshiro Seki, **Yoshie Kametani**, Masahiro Koizumi, Natsumi Kitajima, Masayuki Oki, Masami Seki, Takatoshi Kakuta and
1. PD-1 抗体副作用の抑制を目的とした妊娠関連プロテアーゼインヒビターを模倣する修飾ペプチド化合物の開発 **亀谷美恵**, 石本人士, 徳田裕, 伊藤亮治, 真鍋良幸 第4回橋渡し研究戦略的推進プログラムシンポジウム 2019年1月23日 (東京・慶應義塾大学病院)
2. Identification of CD4.B subtype of Microminipigs by a new monoclonal antibodies. Shino Ohshima, Hitoshi Kitagawa,

Asako Ando, **Yoshie Kametani** 第47回日本免疫学会
総会 2018年12月10日-12日 (福岡・福岡国際
会議場)

3. CD155-transducing signaling through TIGIT plays an important role in transmission of tolerant state and suppression capacity. Naoko Negishi, Takehito Sato, Yumi Kanemaru, Kazuko Shibuya, Koichiro Uchida, **Yoshie Kametani**, Ko Okumura, Sonoko Habu 第47回日本免疫学会総会 2018年12月10日-12日 (福岡・福岡国際会議場)
4. Humanized mouse as a model of human pregnant immunity. **Yusuke Ohno**, Asuka Miyamoto, Ryoji Ito, **Yoshie Kametani** 第47回日本免疫学会総会 2018年12月10日-12日 (福岡・福岡国際会議場)
5. ヒト化マウスを用いたヒト妊娠免疫の解析 **大野裕介**、宮本あすか、伊藤亮治、**亀谷美恵** 第33回日本生殖免疫学会総会・学術集会 (東京・日本医科大学千駄木校舎)
6. ヒト化 NOG-hII-4-Tg マウスにおける B 細胞機能とグルコシルチコイド受容体発現の関連性の解析 **亀谷美恵**、関敏郎、宮本あすか、大島志乃、**大野裕介**、安田敦、徳田裕、安藤潔 第33回日本下垂体研究会学術集会 2018年8月17日-19日 (高知・国民宿舎桂浜荘)
7. ヒト妊娠免疫モデルとしての妊娠ヒト化マウスの解析 **大野裕介**、伊藤亮治、和泉俊一郎、伊藤守、**亀谷美恵** 第33回日本下垂体研究会学術集会 2018年8月17日-19日 (高知・国民宿舎桂浜荘)
8. 妊娠ヒト化マウスにおけるヒト白血球の動態解析 **大野裕介**、小島美香、木南理仁、伊藤守、**亀谷美恵** 第65回日本実験動物学会総会 2018年5月16日-18日 (富山・富山県民会館)

9. 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。