

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

## 助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	800 千円
研究代表者 : 津田 さやか	所属 : 学術研究部医学系	職位 : 助教
研究題目 : 母子間免疫寛容を T 細胞免疫の観点から解明する		

## 研究概要

妊娠は母親にとって異物である父親由来の抗原を持つ胎児を許容する極めてミステリアスな生命現象である。本来は母体の胎児抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) で攻撃されるはずの胎児は、母体の胎児抗原特異的制御性 T 細胞 (regulatory T cell : Treg) により制御される事により妊娠は継続されているがその詳細なメカニズムは明らかになっていない。また、疫学データからは原因不明習慣流産、妊娠高血圧腎症といった妊娠合併症は母子間免疫寛容の破綻が関与している可能性が示唆されており、これらの疾患では Treg の減少が指摘されていた。T 細胞はそれぞれが持つ T 細胞受容体 (TCR) で抗原を認識し機能することから、胎児抗原特異的な T 細胞を同定し機能解析を行うことが母子間免疫寛容のメカニズム解明に必要である。しかし、ヒトの移植抗原となる主要組織適合性抗原は 2300 万の組み合わせがあり、これら抗原を認識する TCR の数も 1 個体あたり約 1 億パターン存在するため、胎児抗原特異的 CTL、Treg を同定することは不可能である。T 細胞は TCR でターゲットを認識すると増殖し、同じ TCR を有するクローン化した T 細胞が出現することから、TCR のバリエーションを解析することにより、間接的に抗原特異的 T 細胞の多寡を知ることができる。本研究では妊娠中の子宮内膜から取得した Treg ならびに conventional CD4 陽性細胞 (Tconv) の TCR バリエーションと、遺伝子発現の特徴を単一細胞から網羅的に解析する。これらを、正常妊娠と異常妊娠 (流産、妊娠高血圧症候群) で比較することで、疾患毎の免疫学的な異常を明確化することができ、異常妊娠における免疫系のアンバランスを是正する、新たな免疫学的治療のターゲットになりうる分子を抽出する。

## 成果要約

妊娠初期 (人工妊娠中絶例) 2 例、正期産正常分娩 2 例、妊娠高血圧症候群 1 例から取得した子宮内膜リンパ球を、それぞれの症例毎に異なる DNA ハッシュタグを付加し識別可能とした。そのうえで、Treg、conventional CD4 陽性細胞 (Tconv) をセルソーターで分離し、BD Rhapsody single cell analysis system で単一細胞から cDNA テンプレート作成を行った。その後次世代シーケンサーによる sequencing、データ解析を施行した。発現変動のある遺伝子をもとに、クラスタリング解析を施行したところ、CD4 陽性細胞は 10 種類の Tconv クラスタと、Treg の計 11 のクラスタから成るヘテロな集団であることが判明した。上記のクラスタのうち、疲弊 T 細胞クラスタ、メモリー T 細胞クラスタ、Treg クラスタでは TCR のクローナリティが高く局所で抗原を認識している集団であることが示唆された。また、細胞死を誘導するグランザイム A の発現が高い細胞障害性 T 細胞類似 Tconv クラスタでもクローナリティが高かった。妊娠初期ではクローナリティの低い Tconv クラスタが優勢であるのに対し、妊娠後期ではクローナリティの高いメモリー T 細胞クラスタ・Treg が優勢であった。妊娠週数が進むにつれ、局所での胎児抗原の発現が増加し、抗原特異的 Treg・Tconv が増加するが、互いに均衡が保たれていることが示唆された。妊娠高血圧症候群では、細胞障害性 T 細胞類似 Tconv クラスタの細胞密度が上昇していた。この集団は胎児抗原を認識し、グランザイム A を介した経路で胎児拒絶に関与している可能性があることが初めて示唆された。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p><b>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</b></p> <p><b>【雑誌論文】</b></p> <p>1) Sayaka Tsuda, Akitoshi Nakashima, Keiko Morita, Tomoko Shima, Satoshi Yoneda, Hiroyuki Kishi, Shigeru Saito. The role of decidual regulatory T cells in the induction and maintenance of fetal antigen-specific tolerance: Imbalance between regulatory and cytotoxic T cells in pregnancy complications. <i>Human Immunology</i>. 2021 May;82(5):346-352. doi: 10.1016/j.humimm.2021.01.019. Epub 2021 Feb 26.</p> <p>2) Sayaka Tsuda, Shigeru Saito. Regulatory T cells: Master regulators for the success of pregnancy. <i>Reproductive Immunology Basic Concepts</i> volume1. Gil Mor. Academic Press. London; 17th Feb 2021. 115-127. ISBN 978-0-12-818508-7</p> <p><b>【学会発表】</b></p> <p>1) 津田さやか. 母子間免疫寛容の維持に制御性 T 細胞が果たす役割. 第 13 回 母児間免疫病研究会; 2020, Aug. 9, Web 開催. (招待講演)</p> <p>2) 津田さやか. 産婦人科医が診る WoCBA (Women of Child-Bearing Age) RA 患者の現状と課題. 第 35 回日本臨床リウマチ学会; 2020, Nov. 28, Web 開催. (招待講演)</p>											
<p>経費の 執行状況</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">区 分</th> <th style="text-align: center;">執行額 (円)</th> <th style="text-align: center;">備 考</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <p><b>【その他】</b> シングルセル RNAseq 受託解析料</p> </td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">800,000 円</td> <td style="vertical-align: middle;">ハードディスクで納品</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">合計</td> <td style="text-align: center;">800,000 円</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	区 分	執行額 (円)	備 考	<p><b>【その他】</b> シングルセル RNAseq 受託解析料</p>	800,000 円	ハードディスクで納品	合計	800,000 円			
区 分	執行額 (円)	備 考										
<p><b>【その他】</b> シングルセル RNAseq 受託解析料</p>	800,000 円	ハードディスクで納品										
合計	800,000 円											