

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19430

研究課題名（和文）母体の免疫寛容の分子機構の解明と自己寛容増強の新規分子の探索

研究課題名（英文）Elucidation of molecular mechanisms of maternal immune tolerance

研究代表者

宮崎 正輝（Miyazaki, Masaki）

京都大学・医生物学研究所・准教授

研究者番号：80403632

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠中は非自己である胎児に対する拒絶反応が抑制されており母体の免疫寛容と呼ばれる。妊娠・授乳期ではT細胞を産生する胸腺が萎縮しナイーブT、B細胞の供給が障害されるがその分子機構は明らかでない。そこで授乳期におけるT、B細胞の分化障害を検定するために、体外受精（IVF）によりメスマウスを妊娠させ、離乳期の骨髄B細胞分化の解析を行った。興味深いことに授乳期のメスマウスではpre-B細胞が顕著に減少することがわかった。そこでpre-B細胞を集めて遺伝子発現解析を行った。結果、複数の遺伝子の発現の変動を認め、GO解析からは炎症や感染に関わる遺伝子群の発現上昇を認めた。今後更なる解析を進めていきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠期のリンパ球分化減少はよく知られているが、授乳期でのB細胞分化障害については殆ど知られていない。本研究により新たなリンパ球分化の抑制機構、そして免疫寛容の分子機構を解明し、将来的にはアレルギー反応の抑制や自己免疫疾患の新規治療へと繋げていきたい。そういう意味で、学術的だけでなく社会的にも意義の深い研究となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：During pregnancy, rejection of the non-self, the fetus, is suppressed, called maternal immune tolerance. During pregnancy and lactation, thymic atrophy and reduction of B cell development in bone marrow are suppressed, which impair the supply of naive T and B cells, however, the molecular mechanism is not clear. To elucidate the molecular mechanism of this defect, we first examined the bone marrow B cell development in weaning female mice produced by in vitro fertilization (IVF), in which several female mice were simultaneously impregnated. Interestingly, we found that pre-B cells were significantly reduced in lactating female mice. Therefore, pre-B cells were collected by sorting and analyzed for gene expression (RNA-seq). The GO analysis showed that the expression of several genes was upregulated in the inflammation- and infection-related genes rather than in the hormone-related genes. Further analysis will be conducted in the future.

研究分野：免疫学

キーワード：リンパ球分化 免疫寛容 B細胞分化 授乳期 遺伝子発現制御

1. 研究開始当初の背景

妊娠中は非自己である胎児に対する免疫学的な拒絶反応が抑制されており、これを母体の免疫寛容と呼ぶ。妊娠・授乳期では T 細胞を産生する胸腺は萎縮し、骨髄での B 細胞分化も減少し、これらによりナイーブ T, B 細胞の供給が障害される。一方、妊婦でのワクチン反応は正常であることから、単純な免疫抑制状態とは言えず、妊娠による免疫寛容の本体は明らかではない。ではなぜ妊娠・授乳期に T, B 細胞の分化が抑制されるのか、その生物学的意義何なのか？また胸腺の萎縮に関しては、ホルモンの影響が多く報告されているが、骨髄 B 細胞分化障害については全く明らかになっていない。我々はこれまで、胎児胸腺や胎児肝での T, B 細胞分化の研究を行い、その過程で妊娠母体の胸腺の顕著な萎縮と骨髄中の B 細胞の減少に気付き、長い間、その生物学的意義やその分子機構について深い関心を持っていた。我々の未発表の実験結果から、妊娠期だけでなく授乳期においても、骨髄中の B 細胞分化が障害されていることがわかったことから、こうした妊娠・授乳期における免疫寛容の本態に迫るために、T, B 細胞の分化障害の分子機構の解明に取り組むことを考えた。

2. 研究の目的

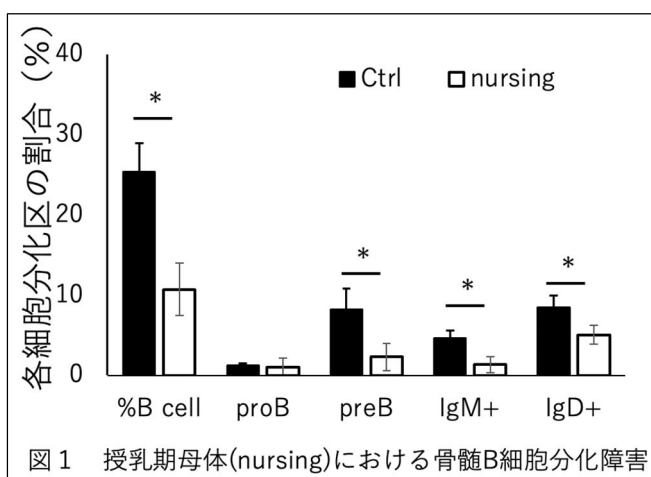
こうした背景から、本研究では妊娠・授乳期における免疫寛容の解明に迫るため、T, B 細胞の分化、活性化についての変容を遺伝子発現制御の観点から解き明かすことを第一目的とする。

3. 研究の方法

妊娠期・授乳期の野生型マウス (C57Bl/6) を用いて胸腺・骨髄内での分化段階の前駆細胞を用いて、まずはトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) を行う。週齢などの影響を排除するため、全ての実験は、同腹の非妊娠メスマウスを対照として、体外受精 (IVF) にて妊娠期・授乳期のメスマウスを用いる。授乳期に関しては、仔の生存のため離乳期直前 (出産後 3 週) のマウスを用いる。

4. 研究成果

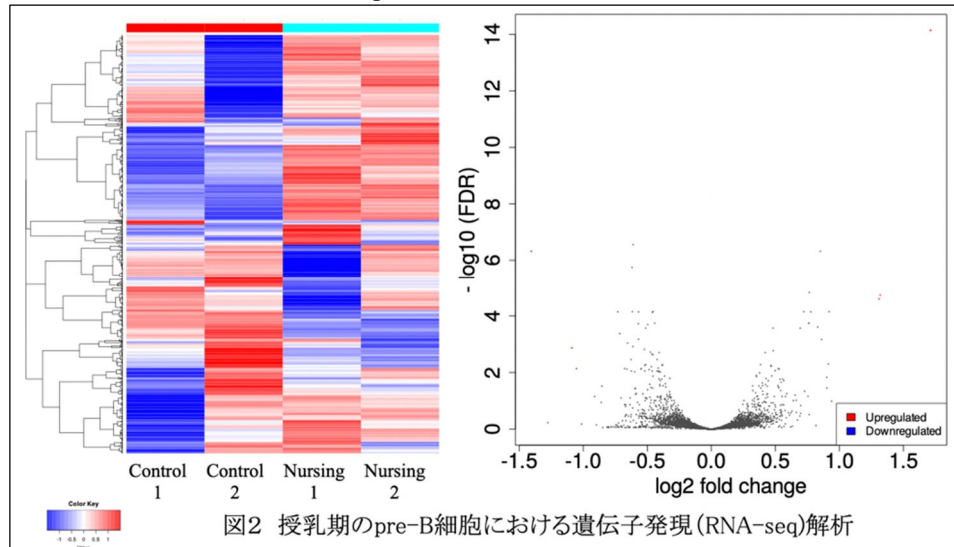
まず授乳期における骨髄 B 細胞分化を評価するため、IVF により C57Bl/6 メスマウスを妊娠させ、離乳期に同腹メス対照マウスと一緒に骨髄 B 細胞分化を評価した (図 1)。右図に示す様に離乳期 (nursing) マウスでは、骨髄中の B 細胞の割合 (%) が半分以下に減少していた。特に分化障害が顕著であったのは、pre-B 細胞の段階であり、その後の IgM+ 未熟 B 細胞でも優位に現象を認め



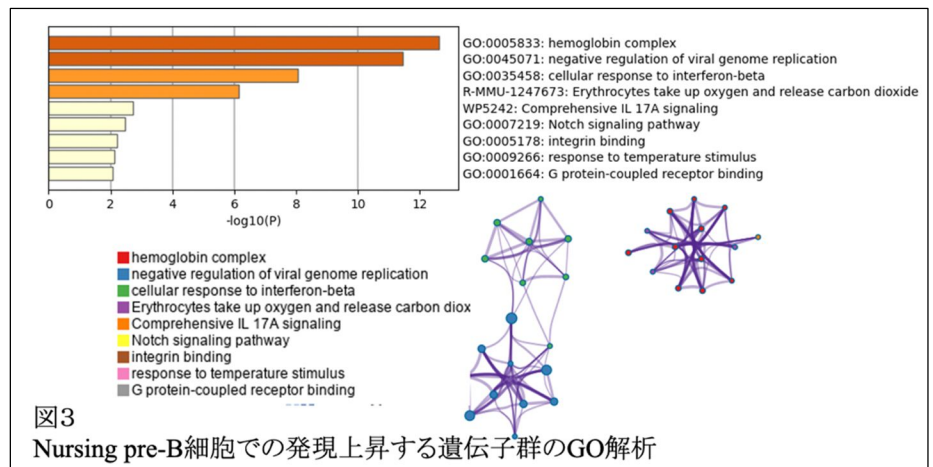
めた。そこで、これらの B 細胞分化障害の原因を探索する目的で、離乳期のメスマウスの骨髄 pre-B 細胞を sorting により集めて RNA-seq 解析を行った。問題となったのは、妊娠中または授乳期中に数匹のメスマウスが死亡したため、実験条件を合わせるために何度も IVF を行わざるを得なかったことであった。結局、2 組のサンプルのみの解析となった。

図 2 は、対照と授乳期の pre-B 細胞における RNA-seq 解析の Heat map と Volcano plot である。細胞数の減少が認められたが、遺伝子発現は個体差が大きく、予想した程多くは得られなかった。

これらの遺伝子群の特徴を知るために、metascape 解析を行った。図3に示す様に、発現上昇した遺伝子は、hemoglobin complex, cellular response to interferon-beta, IL17A signaling といった、赤血球分化、炎症・感染に関わる遺伝子群が挙げられた (図



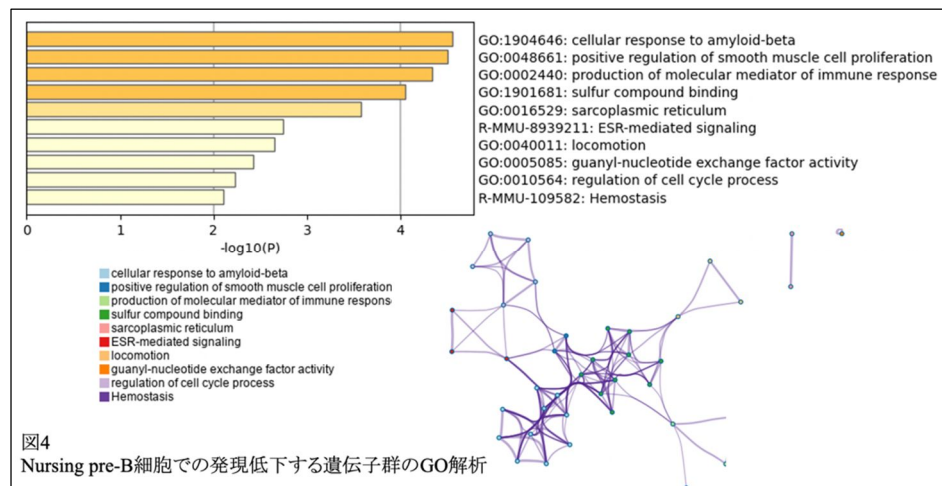
3) 一方、発現低下を認めた遺伝子は、cellular response to amyloid-beta, production of molecular mediator of immune response, ESR-mediated signaling などであり、予想とは異なり、B細胞分化に関わる遺伝子群は認められなかった (図



現在、T細胞に関しても同様の遺伝子発現解析を進めており、T, B細胞分化に及ぼす妊娠・授乳期でのリンパ球分化への影響の分子機構の解明を進める。

結果の考察

今回の結果は、実験上の問題 (複数回の母体の死亡など) があり未だ解析途中であるが、pre-B細胞での分化障害が妊娠・授乳期のホル



ルモンにより直接影響されているわけではなく、間接的な影響が強いと考えられる。引き続き、妊娠・授乳における免疫寛容の分子機構の解明のため、リンパ球分化への影響の解析を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Miyazaki Masaki, Miyazaki Kazuko	4. 巻 172
2. 論文標題 The E-Id axis specifies adaptive and innate lymphoid lineage cell fates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 259 ~ 264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvac068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hidaka Reiko, Miyazaki Kazuko, Miyazaki Masaki	4. 巻 13
2. 論文標題 The E-Id Axis Instructs Adaptive Versus Innate Lineage Cell Fate Choice and Instructs Regulatory T Cell Differentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.890056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abe Shinya, Asahi Takuma, Hara Takahiro, Cui Guangwei, Shimba Akihiro, Tani-ichi Shizue, Yamada Kohei, Miyazaki Kazuko, Miyachi Hitoshi, Kitano Satsuki, Nakamura Naotoshi, Kikuta Junichi, Vandenbon Alexis, Miyazaki Masaki, Yamada Ryo, Ohteki Toshiaki, Ishii Masaru, Sexl Veronika, Nagasawa Takashi, Ikuta Koichi	4. 巻 42
2. 論文標題 Hematopoietic cell-derived IL-15 supports NK cell development in scattered and clustered localization within the bone marrow	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 113127 ~ 113127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.113127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Asahi Takuma, Abe Shinya, Cui Guangwei, Shimba Akihiro, Nabekura Tsukasa, Miyachi Hitoshi, Kitano Satsuki, Ohira Keizo, Dijkstra Johannes M, Miyazaki Masaki, Shibuya Akira, Ohno Hiroshi, Ikuta Koichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Liver type 1 innate lymphoid cells lacking IL-7 receptor are a native killer cell subset fostered by parenchymal niches	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.84209	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uehata Takuya, Yamada Shinnosuke, Ori Daisuke, et al.	4. 巻 143
2. 論文標題 Regulation of lymphoid-myeloid lineage bias through regnase-1/3-mediated control of Nfkbiz	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 243 ~ 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2023020903	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宮崎正輝
2. 発表標題 To B or not to B. That is the question.
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮崎正輝
2. 発表標題 Amplifier Circuit of E2A-Notch1 Axis Orchestrates T-cell Lineage Priming, Specification, and Commitment and Suppress the ILC Lineage
3. 学会等名 第52回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------