

機関番号：13201

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390431

研究課題名 (和文) 生殖免疫の立場から見た不育症、早産、妊娠高血圧症候群の病態解明

研究課題名 (英文) Pathophysiology of unexplained recurrent pregnancy loss, preterm labor and preeclampsia from the viewpoint of reproductive immunology

研究代表者

齋藤 滋 (SHIGERU SAITO)

富山大学・大学院医学薬学研究部・教授

研究者番号：30175351

研究成果の概要 (和文)：異物である胎児が拒絶されないことを免疫学的に検討し、また流産、早産、妊娠高血圧腎症 (PE) などの妊娠合併症の免疫状態を対比することは疾患の予防・治療にも繋がる。本研究は免疫系を新たなパラダイムである Th1/Th2/Th17/制御性 T 細胞 (Treg) で検討し、さらに新たな細胞集団である制御性 NK 細胞 (NKreg) につながった。①Treg からの解析：Treg 細胞はアロ妊娠の際の着床や妊娠初期に重要であること、妊娠後期では Treg 細胞が減少しても妊娠異常が生じないことを明らかにした。また父親抗原を認識する Treg 細胞が着床前に子宮領域リンパ節で増加し、着床直後に子宮で増加することを見い出した。②NKreg 細胞からの解析：NKreg 細胞が CD25 を発現し、妊娠子宮に増加すること、NKreg 細胞は免疫抑制に作用する IL-10、TGF- β を産生するが、拒絶に関与する IFN γ 、TNF α の産生はないことを証明した。また LPS や poly (I:C) を妊娠マウスに投与すると流産が引き起こされるが、NKreg 細胞は炎症を抑制する作用があることを証明した。③Th17 細胞からの解析：流産例では進行流産になると子宮内の Th17 細胞が増加し、好中球も増加するが、臨床症状に乏しい初期流産では子宮内 Th17 細胞は変化しなかった。早産例では絨毛膜羊膜炎がⅢ度 (最も進行したもの) では羊水中の IL-17 が増加し、子宮内にも Th17 細胞が増加した。IL-17 は TNF α と協調し、羊膜細胞からの IL-8 の産生を亢進させることも見い出した。④妊娠高血圧腎症 (PE) の際の免疫：PE では末梢血 T 細胞、NK 細胞からの VEGF の産生が低下しており血管新生阻害の要因になること、Galectin 1 発現が低下しトレランス機構が破綻していること、T 細胞中の granulysin が増加しており、かつ Treg 細胞も減少し拒絶反応が起こりやすい状況にあることを見い出した。

研究成果の概要 (英文)：T-helper (Th) cells play a central role in modulating immune responses. We discuss the pathophysiology of unexplained recurrent pregnancy loss, preterm labor and preeclampsia from the viewpoint of new Th1/Th2/Th17 and regulatory T (Treg) cell paradigm. We have reported that Treg cells play an essential role for maintenance of allogeneic pregnancy in early pregnancy, but not in late pregnancy. We also found that paternal antigen-specific Treg cells increase in uterine draining lymphonodes before the implantation and in uterus after implantation. We have found NKreg cells increase in the pregnant uterus and they express CD25 on their surface. They produce immunosuppressive cytokines such as IL-10 and TGF β . Th17 cells increased in the uterus of preterm labor cases with severe chorioamnionitis and of spontaneous abortion cases in late stage, and there were significant positive correlation between Th17 cells number and neutrophil number. IL-17 also augment the TNF α -induced IL-8 secretion by amniotic mesenchymal cells in a dose dependent manner. In preeclampsia, we found the production of VEGF and Galectin-1 by peripheral blood-T cells and -NK cells was decreased suggesting that angiogenesis and tolerance induction systems are dysregulated in preeclampsia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2009年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2010年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：制御性 T 細胞、妊娠、着床不全、流産、早産、妊娠高血圧腎症

1. 研究開始当初の背景

免疫系は Th1/Th2 パラダイムから、新たな Th1/Th2/Th17/Treg パラダイムに移行している状況であったが、妊娠という面からみた解析は正常妊娠、異常妊娠とも不明であった。

2. 研究の目的

周産期領域で臨床的に大きな問題となっている原因不明習慣流産、早産、妊娠高血圧症候群の病態を生殖免疫学的立場で明らかにし、新たな治療法の開発につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

培養細胞を用いた in vitro の実験系に加えて、in vivo の実験系をマウスを用いて行ない、臨床検体から得られた結果と比較した。

4. 研究成果

①Treg からの解析：Treg 細胞はアロ妊娠の際の着床や妊娠初期に重要であること、妊娠後期では Treg 細胞が減少しても妊娠異常が生じないことを明らかにした。また父親抗原を認識する Treg 細胞が着床前に子宮領域リンパ節で増加し、着床直後に子宮で増加することを見出した。

②NKreg 細胞からの解析：NKreg 細胞が CD25 を発現し、妊娠子宮に増加すること、NKreg 細胞は免疫抑制に作用する IL-10、TGF-β を産生するが、拒絶に関与する IFNγ、TNFα の産生はないことを証明した。また LPS や poly (I:C) を妊娠マウスに投与すると流産が引き起こされるが、NKreg 細胞は炎症を抑制する作用があることを証明した。

③Th17 細胞からの解析：流産例では進行流産になると子宮内の Th17 細胞が増加し、好中球も増加するが、臨床症状に乏しい初期流

産では子宮内 Th17 細胞は変化しなかった。早産例では絨毛膜羊膜炎がⅢ度（最も進行したもの）では羊水中の IL-17 が増加し、子宮内にも Th17 細胞が増加した。IL-17 は TNFα と協調し、羊膜細胞からの IL-8 の産生を亢進させることも見出した。

④妊娠高血圧腎症（PE）の際の免疫：PE では末梢血 T 細胞、NK 細胞からの VEGF の産生が低下しており血管新生阻害の要因になること、Galectin 1 発現が低下しトレランス機構が破綻していること、T 細胞中の granulysin が増加しており、かつ Treg 細胞も減少し拒絶反応が起こりやすい状況にあることを見出した。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 46 件）

1. Molvarec A., Shiozaki A., Ito M., Toldi G., Stenczer B., Szarka A., Nakashima A., Vászrhelyi B., Rigó J. Jr., Saito S. Increased prevalence of peripheral blood granulysin-producing cytotoxic T lymphocytes in preeclampsia. J Reprod Immunol in press. (査読有)
2. Saito S., Nakashima A., Shima T.: Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immune etiologies. J Reprod Immunol. in press. (査読有)
3. Molvarec A, Blois M S, Stenczer B, Toldi G, Tirado-Gonzalez I, Ito M, Shima T, Yoneda S, Vászrhelyi B, Rigó J., Saito S. Peripheral blood galectin-1-expressing T and natural

- killer cells in normal pregnancy and preeclampsia. *Clin. Immunol* in press. (査読有)
4. Yoneda S., Shiozaki A., Shima T., Ito M., Yamanaka M., Hidaka T., Sumi S., Saito S.: Prediction of exact delivery time in patients with preterm labor and intact membranes at admission by amniotic fluid interleukin-8 level and preterm labor index. *J Obstet Gynecol. Res.* in press. (査読有)
 5. Lin Y., Li C., Shan B., Wang W., Saito S., Xu J., Di J., Zhong Y., Li D.J.: Reduced stathmin-1 expression in NK cells associated with spontaneous abortion. *Am J Pathol.* 178:506-514, 2011. (査読有)
 6. Saito S., Shima T., Nakashima A., Lin Y.: Immune surveillance during pregnancy. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* 54:60-63, 2010. (査読有)
 7. Molvarec A., Ito M., Shima T., Yoneda S., Toldi G., Stenczer B., Vásárhelyi B., Rigó J. Jr, Saito S.: Decreased proportion of peripheral blood vascular endothelial growth factor-expressing T and natural killer cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 203: 567.e1-567.e8, 2010. (査読有)
 8. Saito S.: Th17 cells and regulatory T cells: New light on pathophysiology of preeclampsia. *Immunology and Cell Biology.* 88:615-617, 2010. (査読有)
 9. Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M.: Th1/Th2/Th17 and regulatory T cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 63:601-610, 2010. (査読有)
 10. Shima T., Sasaki Y., Itoh M., Nakashima A., Ishii N., Sugamura K., Saito S.: Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance during early stage of pregnancy, but not necessary during late stage of pregnancy in allogeneic mice. *J. Reprod Immunol* 85:121-129, 2010. (査読有)
 11. Nakashima A., Ito M., Shima T., Bac N. D., Hidaka T., Saito S.: Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases. *Am J Reprod Immunol.* 2010: 64:4-11. (査読有)
 12. Nakashima A., Ito M., Yoneda S., Shiozaki A., Hidaka T., Saito S.: Circulating and decidual Th17 cell levels in healthy pregnancy. *Am J Reprod. Immunol.* 63:104-109, 2010. (査読有)
 13. Ito M., Nakashima A., Hidaka T., Okabe M., Bac N. D., Ina S., Yoneda S., Shiozaki A., Sumi S., Tsuneyama K., Nikaido T., Saito S.: A role for IL-17 in induction of an inflammation at fetomaternal interface in preterm labour. *J. Reprod Immunol.* 84:75-85, 2010. (査読有)
 14. Lin Y., Nakashima A., Shima T., Zhou X., Saito S.: Toll-like receptor signaling in uterine natural killer cells-role in embryonic loss. *J. Reprod Immunol.* 83:95-100, 2009. (査読有)
 15. Saito S.: The Causes and Treatment of Recurrent Pregnancy Loss. *JMAJ.* 52(2): 97-102, 2009. (査読有)
 16. 145. Lin Y., Ren L., Wang W., Di J., Zeng S., Saito S.: Effect of TLR3 and TLR7 activation in uterine NK cells from non-obese diabetic (NOD) mice. *J. Reprod Immunol.* 82:12-23, 2009. (査読有)
 17. Lin Y., Wang W., Jin H., Zhong Y., Di J., Zeng S., Saito S.: Comparison of murine thymic stromal lymphopoietin- and polyinosinic polycytidylic acid-mediated placental dendritic cell activation. *J Reprod Immunol.* 79:119-128, 2009. (査読有)
 18. Izumi-Yoneda N., Toda A., Okabe M., Koike C., Takashima S., Yoshida T., Konishi I., Saito S., Nikaido T.: Alpha/antitrypsin activity is decreased in human amnion in premature rupture of the fetal membranes. *Mol Hum Reprod.* 15(1):49-57, 2009. (査読有)
 19. Lin Y., Zhong Y., Saito S., Chen Y., Shen W., Di J., Zeng S.: Characterization of natural killer cells in nonobese diabetic/severely compromised immunodeficient mice during pregnancy. *Fertil Steril.* 2009:91:2676-2686. (査読有)
 20. Nakashima A., Shiozaki A., Myojo S., Ito M., Tatematsu M., Sakai M., Takamori Y., Ogawa K., Nagata K., Saito S.: Granulysin produced by uterine natural killer cell induces apoptosis of extravillous trophoblast in spontaneous abortion. *Am J Pathol.* 173:653-664, 2008. (査読有)
 21. Lin Y., Zhong Y., Shen W., Chen Y., Shi J., Di J., Zeng S., Saito S.: TSLP-induced placental DC activation and IL-10+ NK cell expansion: Comparative study based on BALB/cx C57BL/6 and NOD/SCID X C57 BL/6 pregnant models. *Clin Immunol* 126:104-117, 2008. (査読有)
 22. Saito S., Nakashima A., Myojo-Higuma S.,

- Shiozaki A.: The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy. *J Reprod Immunol* 77:14-22, 2008. (査読有)
23. 齋藤 滋, 中島彰俊, 島 友子: 妊娠と免疫. *周産期医学*, 40:1569-1573, 2010. (査読無)
 24. 島 友子, 中島彰俊, 齋藤 滋: 胎盤と免疫. *周産期医学*, 40:1037-1042, 2010. (査読無)
 25. 齋藤 滋: 免疫機構からみた妊娠高血圧症候群. *産婦人科の実際*, 59:1013-1018, 2010. (査読無)
 26. 島 友子, 中島彰俊, 齋藤 滋: 凝固系と炎症反応. *産科と婦人科*, 77:956-962, 2010. (査読無)
 27. 塩崎有宏, 伊藤実香, 米田徳子, 山中美樹子, 米田 哲, 齋藤 滋: 細菌性膣症と切迫早産. *産婦人科の実際*, 59: 875-881, 2010. (査読無)
 28. 齋藤 滋, 島 友子, 中島彰俊: 着床、妊娠維持における制御性(regulatory)T細胞の重要性. *医学のあゆみ*, 233: 129-134, 2010. (査読無)
 29. 齋藤 滋: わが国における早産の現状と将来. *産婦人科治療*, 100:23-27, 2010. (査読無)
 30. 齋藤 滋: 周産期 習慣流産に対する抗凝固療法—アスピリン単独療法か、アスピリン+ヘパリン併用療法か—. *産婦人科の実際*, 59: 299-302, 2010. (査読無)
 31. 米田 哲, 塩崎有宏, 齋藤 滋, 伊奈志帆美: 切迫早産例の分娩時期を予測することによるNICU病床の有効活用. 第28回周産期学シンポジウム 2010: シンポジウム「周産期と医療安全: 周産期医療システムと医療安全」, 99-104, 2010. (査読無)
 32. 米田哲, 青木藍子, 鮫島梓, 米田徳子, 島友子, 伊藤実香, 立松美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: ワークショップ4「切迫早産の治療」妊娠28週未満の胎胞形成症例の特徴と治療的頸管縫縮術の成績. *日本周産期・新生児医学会雑誌*, 45:1051-1054, 2009. (査読無)
 33. 齋藤 滋, 杉浦真弓, 田中忠夫, 藤井知行, 杉俊隆, 丸山哲夫, 竹下俊行, 山田秀人, 小澤伸晃, 木村正, 山本樹生, 藤井俊策, 中塚幹也, 下屋浩一郎: ワークショップ12「不育症の新たな原因探索と治療」本邦における不育症のリスク因子とその予後に関する研究. *日本周産期・新生児医学会雑誌*, 45: 1144-1148, 2009. (査読無)
 34. 齋藤 滋: わが国における早産の実態とその予防対策. *産婦人科治療*, 98: 337-342, 2009. (査読無)
 35. 齋藤 滋: 「早産リスクの評価法—絨毛膜羊膜炎の関与も含めて—」*日本医事新報*, 4457, 55-59, 2009. (査読無)
 36. 齋藤 滋: 「炎症を中心とした免疫反応」*周産期医療とinflammatory response*. *周産期医学*, 39:675-679, 2009. (査読無)
 37. 米田 哲, 伊奈志帆美, 塩崎有宏, 伊藤実香, 島 友子, 米田徳子, 齋藤 滋: 羊水中チオレドキシン, IL-6, IL-8からみたFIRS. *日本周産期・新生児医学会雑誌*, 44: 1034-1038, 2008. (査読無)
 38. 齋藤 滋: 不育症の原因と治療. *日本医師会雑誌*, 137:39-43, 2008. (査読無)
 39. 齋藤 滋: 8. 合併症妊娠の管理と治療. *日本産科婦人科学会雑誌*, 60:41-49, 2008. (査読無)
 40. 齋藤 滋: シンポジウム2「早産—予防・出生児の管理・手術の限界」日本における早産の実態と予防対策. *日本周産期・新生児医学会雑誌*, 44:845-849, 2008. (査読無)
 41. 塩崎有宏, 齋藤 滋: 45. 絨毛膜羊膜炎の検査. *周産期医学増刊 周産期臨床検査のポイント*, 38: 200-206, 2008. (査読無)
 42. 島 友子, 齋藤 滋: 第3章 臓器特異的な樹状細胞 4. 生殖器における樹状細胞サブセット機能. 「*実験医学増刊*」140-145, 2008. (査読無)
 43. 中島彰俊, 伊藤実香, 齋藤 滋: 妊婦の感染症 妊婦の免疫学. *臨床婦人科産科*, 62(6):807-811, 2008. (査読無)
 44. 齋藤 滋: 妊娠高血圧症候群の発症と免疫. *臨床免疫・アレルギー科*, 50(1):82-89, 2008. (査読無)
 45. 齋藤 滋: 周産期脳障害の原因とその予防—周産期脳障害の予防と治療—抗炎症, 免疫調節による脳保護. *周産期医学*, 38(6):739-741, 2008. (査読無)
 46. 塩崎有宏, 齋藤 滋: 病態生理を解く 免疫と妊娠高血圧症候群. *産婦人科の実際*, 57(1):23-30, 2008. (査読無)
- [学会発表] (計14件)
1. 米田徳子, 米田 哲, 青木藍子, 鮫島梓, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 頸管無力症例で腔内に胎胞が膨隆する例では子宮内炎症が高度に存在する. 第62回日本産婦人科学会, 2010, 4, 23-25, 東京. (ポスター発表)
 2. 島 友子, 青木藍子, 福田香織, 稲田貢三子, 橋本佳子, 中島彰俊, 長谷川徹, 日高隆雄, 齋藤 滋: 遺伝子解析にて全胎状奇胎と共存胎児の双胎妊娠と診断した一例. 第31回北陸臨床遺伝研究会, 2010, 11, 21, 富山.
 3. Nakashima A., Ito M., Shima T., Yoneda

S., Saito S.: The role of IL-17 in the pathogenesis of preterm labor. International symposium for immunology of reproduction, symposium "Infectious immunity", 2010, 8, 28-29, Osaka.

4. 米田 哲, 米田徳子, 福田香織, 高地圭子, 鮫島 梓, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 切迫早産例で出生前に組織学的絨毛膜羊膜炎を予測する方法に関する検討. 第 58 回日本産科婦人科学会北日本連合地方部会総会・学術講演会, 2010, 9, 18-19, 金沢.
5. 米田 哲, 米田徳子, 青木藍子, 鮫島 梓, 立松美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 妊娠 28 週未満の頸管長短縮症例における早産リスク因子に関する検討. 第 62 回日本産科婦人科学会総会, 2010, 4, 23-25, 東京. (ポスター発表)
6. 米田 哲, 米田徳子, 青木藍子, 鮫島 梓, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 無症状の頸管長短縮例において妊娠 23 週未満の発症、5mm 以下の頸管長短縮、高度の頸管炎が早産リスクになる. 第 46 回日本新生児・周産期医学会, 2010, 7, 11-13, 神戸. (ポスター発表)
7. 米田 哲, 米田徳子, 福田香織, 伊藤実香, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 頸管無力症例では子宮内の炎症(絨毛膜羊膜炎)が高度に存在する. 第 22 回富山県母性衛生学会, 2010, 2, 20, 富山.
8. 米田 哲, 米田徳子, 福田香織, 伊藤実香, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 切迫早産例における羊水マイコプラズマ・ウレアプラズマ、一般細菌、真菌感染迅速測定系の確立. 第 13 回富山県母子医療研究会, 2010, 2, 12, 富山.
9. 齋藤 滋: 早産の予防と治療に関する最近の知見. 兵庫県産科婦人科専門医生涯研修会, 2010, 12, 18, 兵庫. (招待講演)
10. 齋藤 滋: 日本における早産の実態と早産予防対策. 京都産婦人科医会, 2010, 7, 17, 京都. (招待講演)
11. 齋藤 滋: 早産について考える. 第 23 回福井県母性衛生学会, 2010, 6, 27, 福井. (招待講演)
12. 齋藤 滋: 早産について考える. 広島県南部地区産婦人科医会学術講演会, 2010, 6, 18, 広島. (招待講演)
13. 齋藤 滋: 早産について考える. 前期山梨県産婦人科集談会, 2010, 6, 4, 山梨. (招待講演)
14. 米田徳子, 米田 哲, 福田香織, 伊藤実香, 山中美樹子, 塩崎有宏, 齋藤 滋: 羊水中マイコプラズマ、ウレアプラズマ、細菌、真菌迅速検査システムの確立と今後の期待. 第 46 回日本周産期・新生児医学会学術集会, 2010, 7, 11-13, 神戸. (ポ

スター発表)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 滋 (SAITO SHIGERU)

富山大学・大学院医学薬学研究部・教授
研究者番号: 30175351

(2) 研究分担者

中島 彰俊 (NAKASHIMA AKITOSHI)

富山大学・大学院医学薬学研究部・助教
研究者番号: 00436792

(3) 連携研究者

()

研究者番号: