

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16846

研究課題名（和文）胎児の炎症性疾患に免疫寛容がおよぼす影響 出生コホート研究

研究課題名（英文）Effects of Immune Tolerance on Fetal Inflammatory Diseases

研究代表者

藤山 聡 (Satoshi, FUJIYAMA)

筑波大学・附属病院・病院講師

研究者番号：20633283

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：子宮内胎児発育遅延児は胎児期発症の炎症性疾患と考えられ、出生後から様々な臓器障害を呈し、将来的な慢性疾患の発症と関連する。一方、その病態の多くは明らかでなく、特異的な治療法は開発されていない。申請者らは、本症が胎児期特有の免疫制御機構の異常と考え、子宮内胎児発育遅延及び早産児の臍帯血を用い、胎児免疫細胞の網羅的解析によりその機構の解明を試みた。その結果、子宮内胎児発育遅延児や早産児の臍帯血中の免疫細胞にはある特異分子が高発現し、免疫応答を制御していることを見出した。遺伝子発現の機能解析及び本分子の活性を制御する分子の発現解析より、本分子が胎児免疫制御に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮内胎児発育遅延児の病態の解明は進んでおらず、特異的な治療法は開発されていない。本研究で明らかにした胎児及び早産児の免疫細胞に発現する特異分子は、胎児免疫の制御に重要な役割を担っていることが示唆され、胎児の炎症性疾患のみならず、早産児の炎症性疾患の病態に関与している可能性がある。さらに、特異分子の活性制御にすることで免疫応答を制御し、早産児の炎症疾患に対する新規治療戦略につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Intrauterine fetal growth retardation is considered a prenatally-onset inflammatory disease, presenting with various organ dysfunction after birth and associated with the future development of chronic diseases. However, most of the pathogenesis of the disease is unclear, and no specific treatment has been developed. In this study, we have attempted to elucidate its mechanism by comprehensive analysis of fetal immune cells using cord blood samples from intrauterine fetal growth retardation and preterm infants. We found that a specific molecule is highly expressed in immune cells in cord blood of intrauterine fetal growth retardation and preterm infants, and that it regulates immune responses. Functional analysis of gene expression and expression analysis of molecules that regulate the activity of this molecule suggested that this molecule may play an important role in the regulation of fetal immunity.

研究分野：小児、新生児、免疫

キーワード：胎児免疫 新生児 炎症 免疫寛容

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

子宮内胎児発育遅延児は、出生後から様々な臓器障害を呈し、低身長やメタボリックシンドロームなどの慢性疾患の発症と関連する。しかし、その病態の多くは明らかでなく、特異的な治療法は開発されていない。胎児と母親は異なる HLA ハプロタイプをもつが、胎児の抑制性の免疫制御機構により、胎盤経由した母体抗原に対し胎児の免疫応答が惹起されない。この機構には、マクロファージや樹状細胞などの抗原提示や貪食に関わる細胞の機能低下や補体成分などの産生量の低下と(免疫学的な未熟性) 制御性 T 細胞 (Treg) を中心とした積極的な免疫抑制機構の作用(免疫寛容)から構成されると考えられてきた。一方、子宮内胎児発育遅延児は出生時より炎症マーカーが上昇し、胎児期発症の炎症性疾患であることが示唆されている。申請者は、子宮内胎児発育遅延児の病態に、胎児 Treg を中心とする胎児の免疫抑制能(胎児免疫寛容)の機能不全が関与しているのではないかと考え、その病的意義を明らかにすることができれば、新生児の免疫応答を調整する薬剤開発などにつながり、医学的に価値が高いと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究は子宮内胎児発育遅延が胎児の Treg などの免疫細胞の機能異常による免疫寛容の破綻に起因する炎症性疾患であると仮説をたて、子宮内胎児発育遅延児や早産児から採取した臍帯血を用いて、早産児の Treg を始めとする免疫細胞の特徴や病態メカニズムの解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

筑波大学附属病院 NICU に入院した子宮内胎児発育遅延児、早産児の患者から採取した臍帯血、末梢血、及び正常対照として満期産児の臍帯血を用いた。(1) 採取した臍帯血から単核球を分離し、フローサイトメトリー法を用いて各種免疫細胞をサブセットに分類し、各々の細胞に発現する免疫受容体の発現を解析した。(2) 免疫細胞の機能を解析するため、セルソーターを用いて免疫細胞を単離後、炎症反応を惹起させ、各種手法を用いて免疫応答を解析した: サイトカインの産生能、細胞分裂能、シグナル伝達経路など。(3) 炎症反応を惹起させた免疫細胞から RNA を抽出し、RNA シークエンス碎石及び RNA 定量解析を実施し、遺伝子レベルでの炎症応答を解析し、発現が変動した遺伝子を基に機能解析を実施した。(4) (1) ~ (3) の結果に基づき生体内で胎児・早産児の免疫細胞の免疫応答を制御する鍵となる機構を検索した。

### 4. 研究成果

#### (1) 早産児の免疫細胞は特異的な免疫制御機構を有する

申請者らは、早産児および満期産児の臍帯血由来の免疫細胞、成人の免疫細胞をフローサイトメトリー法により網羅的に解析した。その結果、免疫を制御する特異分子の発現量が臍帯血由来の免疫細胞に高く発現していた。さらに、この特異分子は出生週数の早い早産児ほどより多く発現していたことから、この特異分子が胎児期に特有の免疫制御機構に関与している可能性を考えた。

#### (2) 早産児の免疫細胞に発現する特異分子は免疫応答を制御する

そこで、臍帯血由来の免疫細胞に高発現する特異分子の機能解析を実施した。臍帯血由来の免疫細胞と成人由来の免疫細胞を単離し、免疫応答を惹起させた。その結果、臍帯血および成人由来の免疫細胞は同等のサイトカイン産生能と細胞分裂能を示した。次に、臍帯血由来の免疫細胞に発現する特異分子の活性を制御する分子を用いて調整すると、用量依存性に炎症応答が変化した。シグナル伝達経路を解析すると、特異分子に関連するシグナル伝達経路の活性が変化していた。以上より、新生児の免疫細胞は成人と同等の免疫応答を保持し、特異分子によって免疫応答が制御されていると考えられた。

#### (3) 早産児の免疫細胞に発現する特異分子の遺伝子レベルの機能解析

次に、早産児の免疫細胞に発現する特異分子の活性を制御し、炎症応答を惹起した場合の免疫細胞の機能を遺伝子レベルで解析した。その結果、RNA シークエンス解析に基づく RNA 定量解析およびパスイ解析より特異分子の活性制御を受けた免疫細胞は胎児免疫に重要な役割を担っていることが示唆された。

#### (4) 早産児の免疫細胞に発現する特異分子の活性制御分子の生体内での発現

最後に早産児の免疫細胞に発現する特異分子の活性制御分子の生体内での発現解析を行った。その結果、胎児免疫の制御に関与する組織に多く発現することが明らかになった。以上の点から、本分子が胎児免疫の制御の重要な役割を担い、早産児の炎症制御に関連する事が示唆され、早産児の炎症性疾患の治療ターゲットになることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nagafuji Motomichi, Fujiyama Satoshi, Ishii Ryota, Shime Michiru, Kitatsu Toshinori, Hoshino Yusuke, Kanai Yu, Arai Junichi, Miyazono Yayoi, Takada Hidetoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of maturation at birth on the clinical features of neonatal cow's milk protein allergy: A retrospective study	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jpn3.12157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amano Anri, Nagafuji Motomichi, Fujiyama Satoshi, Hitaka Daisuke, Miyazono Yayoi, Takada Hidetoshi	4. 巻 64
2. 論文標題 Immune response to Listeria monocytogenes infection in a preterm infant: A case report	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pediatrics and neonatology	6. 最初と最後の頁 698 ~ 700
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pedneo.2023.07.002	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 Hitaka Daisuke, Fujiyama Satoshi, Nishihama Yukiko, Ishii Ryota, Hoshino Yusuke, Hamada Hiromi, Miyazono Yayoi, Nakayama Shoji F., Takada Hidetoshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Assessment of Alcohol Exposure From Alcohol-Based Disinfectants Among Premature Infants in Neonatal Incubators in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JAMA Network Open	6. 最初と最後の頁 e230691 ~ e230691
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1001/jamanetworkopen.2023.0691	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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 S. Fujiyama, D. Hitaka, Y. Nishihama, R. Ishii, Y. Hoshino, H. Hamada, Y. Miyazono, S. F. Nakayama, H. Takada
2. 発表標題 Alcohol Exposure Among Premature Infants in Neonatal Incubators: Proposal of a Newly Designed Method to Reduce Alcohol Exposure
3. 学会等名 22nd Congress of the Federation of Asian and Oceania Perinatal Societies（国際学会）
4. 発表年 2023年 ~ 2024年

1. 発表者名 S. Fujiyama, D. Hitaka, Y. Nishihama, R. Ishii, Y. Hoshino, H. Hamada, Y. Miyazono, S. F. Nakayama, H. Takada
2. 発表標題 Alcohol Exposure Among Premature Infants in Neonatal Incubator
3. 学会等名 2023 Hot Topics in Neonatology (国際学会)
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 藤山聡、日高 大介、赤星博和、西浜柚季子、石井亮太、星野雄介、宮園 弥生、濱田洋実、中山祥嗣、高田英俊
2. 発表標題 閉鎖型保育器内の早産児へのアルコール曝露の実態と改善策の検討～新規医療機器の開発～
3. 学会等名 AMED革新的医療技術創出拠点令和4年度成果報告会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 藤山聡、日高 大介、星野雄介、松本貴史、岡田侑樹、花木麻衣、中村由里、永藤元道、竹内秀輔、金井雄、宮園 弥生、高田英俊
2. 発表標題 閉鎖型保育器内における早産児へのアルコール曝露の実態調査と対策法の検討
3. 学会等名 第67回日本新生児成育医学会・学術集会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 永藤 元道、藤山 聡、松本 貴史、森島 直子、中村 由里、竹内 秀輔、日高 大介、金井 雄、宮園 弥生、高田 英俊
2. 発表標題 免疫動態を解析した早産児先天梅毒の1例
3. 学会等名 第67回日本新生児成育医学会・学術集会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 天野 安理, 永藤 元道, 岡田 侑樹, 花木 麻衣, 中村 由里, 竹内 秀輔, 金井 雄, 日高 大介, 藤山 聡, 宮園 弥生, 高田 英俊
2. 発表標題 経時的な免疫細胞解析を行った早発型リステリア敗血症の一例
3. 学会等名 第59回日本周産期・新生児医学会学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 竹内 秀輔, 藤山 聡, 永藤 元道, 岡田 侑樹, 花木 麻衣, 中村 由里, 金井 雄, 日高 大介, 眞弓 みゆき, 小畠 真奈, 濱田 洋実, 高田 英俊
2. 発表標題 免疫疾患の予後因子 有核赤血球による自然免疫制御機序の解明
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 角田 侑以, 中村 由里, 竹内 秀輔, 松本 貴史, 山足 公美絵, 花木 麻衣, 永藤 元道, 穂坂 翔, 金井 雄, 日高 大介, 藤山 聡, 福島 紘子, 宮園 弥生, 内山 徹, 小野寺 雅史, 高田 英俊
2. 発表標題 出生時の皮膚所見とリンパ球減少を契機に免疫異常を疑い、早期に感染対策が開始できたOmenn症候群の1例
3. 学会等名 第123回日本小児科学会
4. 発表年 2020年～2021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
---------	---------