

シンポジウム2 母児間免疫応答の異常

母児間の免疫応答系の異常からみた妊娠中毒症ならびに
子宮内胎児発育遅延の病因病態

東京大学講師 藤 井 知 行

目 的

同種移植片である胎児が母体に受容され、子宮内で発育するためには免疫学的妊娠維持機構が円滑に作動することが不可欠であり、その破綻により習慣流産、妊娠中毒症、子宮内胎児発育遅延 (intrauterine growth restriction, IUGR) などの病態が生起すると考えられている。本研究では、妊娠中毒症とIUGRの病態成立における母児間の免疫応答の異常の関与を探究した。具体的には第1にtrophoblastに特異的に発現するhuman leukocyte antigen (HLA) であるHLA-Gに着目し、その発現の低下に伴う一連の母児間免疫応答系の異常が妊娠中毒症の病態に関与しているか否か、第2にリンパ球のアロ抗原反応性を評価するリンパ球混合培養反応 (mixed lymphocyte reaction, MLR) を用い、母児間、特に児の父系アロ抗原に対する母体の免疫応答の異常がIUGRを引き起こすという仮説を検証する目的で本研究を行った。

方 法

*臨床検体はすべてinformed consentを得て、採取した。

1. 妊娠中毒症の病態成立に関する免疫学的研究

(1) 妊娠中毒症5例、正常妊娠7例の胎盤を出産時に採取し、その胎盤組織 (絨毛外trophoblast) におけるHLA-Gの発現を、免疫組織染色により、検討した。

(2) HLA class I抗原を有さないB lymphoblast細胞株である721.221細胞並びにそれにHLA-Gをtransfectした細胞を用いて、HLA-G発現の有無が、それを認識するリンパ球の機能に及ぼす影響について、特にリンパ球の細胞傷害能とcytokine

分泌能に焦点をあて、検討した。

(3) 妊娠中毒症患者の胎盤においてcytokine産生の異常があるか否かを検索した。特にinterleukin (IL)-2に着目し、妊娠中毒症5例、正常妊娠7例の胎盤を出産時に採取し、母体側を代表する脱落膜組織におけるIL-2の存在の程度を、免疫組織学的に検討した。

(4) 妊娠後期に妊娠中毒症を発症した妊婦16例と、妊娠経過が正常であった16例の妊娠初期における血清中のIL-2濃度、tumor necrosis factor (TNF)- α 濃度を検討した。

(5) IL-2は、癌細胞をはじめとして多くの細胞の増殖を直接抑制することが知られている。そこで、HLA-Gを自然発現している絨毛癌細胞株JEG-3及びBeWoとHLA-Gを発現していない絨毛癌細胞株JAR、さらにJARにHLA-Gをtransfectした細胞を用いて、こうした細胞の増殖にIL-2がどのような影響を与えるか検討した。

(6) 胎盤血管系の構築におけるtrophoblastの役割として、trophoblastに由来する血管新生因子が注目されている。そこで、trophoblastが産生する血管新生因子を特定し、さらにこの産生能がIL-2の刺激を受けたリンパ球によりどのように影響されるか検討した。

2. IUGRの病態成立に関する免疫学的研究

(1) 原因不明IUGRの母体リンパ球をresponderとし、夫リンパ球をstimulatorとしたMLRを行い、第三者リンパ球をstimulatorとした場合と比較した。

(2) 原因不明IUGRで出生した児の細胞の代表として、臍帯血管内皮細胞を採取、これを標的細胞とし、母体リンパ球を攻撃細胞とした細胞傷害試験を実施し、正常発育児の臍帯血管内皮細胞及

び胎児発育が正常な母体のリンパ球を対照として両者を比較、検討した。

成 績

1. 妊娠中毒症の病態成立に関する免疫学的研究

(1) 妊娠中毒症胎盤全例において、絨毛外trophoblastにおけるHLA-G発現の著明な低下が認められた。一方、正常妊娠胎盤では全例でHLA-Gの明瞭な発現が認められた。

(2) HLA-Gが発現している細胞にリンパ球を接触させると、その細胞傷害活性が低下した。また、trophoblast増殖活性のあるIL-3の分泌が増加し、逆にtrophoblast傷害活性のあるIL-1 β やTNF- α の分泌が低下した。

(3) 妊娠中毒症胎盤5例中4例において、脱落膜組織内にIL-2が認められた。正常妊娠胎盤7例においては、全例脱落膜組織内IL-2は認められなかった。

(4) 妊娠中毒症を妊娠後期に発症した妊婦と妊娠経過が正常であった妊婦の、妊娠初期血清中IL-2濃度及びTNF- α 濃度は、いずれも前者において高かった。すなわち、妊娠中毒症例ではそれが顕在化する以前に末梢血ですでにcytokine濃度が高値を示していた。

(5) 絨毛癌細胞株において、HLA-G発現細胞株(JAR-G1, JEG-3, BeWo)ではIL-2添加、非添加培養液間で生存細胞数に差はなかったのに対して、HLA-G非発現細胞株(JAR)では、IL-2添加培養液における生存細胞数がIL-2非添加培養液における生存細胞数に比べて有意に減少していた。

(6) 正常妊娠初期胎盤から採取したtrophoblastの培養上清は、成人血管内皮細胞の増殖を促進し、trophoblastがin vitro系で血管新生因子を放出することが確認された。この活性は主としてbasic fibroblast growth factor (bFGF)に

因るものであった。Trophoblastを、末梢血リンパ球又は脱落膜中リンパ球からIL-2により誘導したlymphokine activated killer (LAK)細胞で処理すると血管新生因子放出能が低下した。

2. IUGRの病態成立に関する免疫学的研究

(1) IUGRの母体リンパ球をresponderとし、夫リンパ球をstimulatorとしたMLRは、第三者リンパ球をstimulatorとした場合に比べ、明らかに低下していた。

(2) IUGRの母体リンパ球は、臍帯血管内皮細胞との間の親子関係の有無に関わらず、IUGR児の臍帯血管内皮細胞を、正常発育胎児の母親に由来するリンパ球より強く傷害した。しかし、正常発育胎児の臍帯血管内皮細胞は、IUGR又は正常発育胎児の母体リンパ球のいずれからでも、ほとんど傷害を受けなかった。

結 論

妊娠初期にtrophoblast上のHLA-G発現が低下していると、脱落膜組織でのIL-2産生が亢進し、その結果脱落膜リンパ球が活性化され、trophoblastに攻撃的に作用する。一方、trophoblastのHLA-G発現低下により、母体リンパ球からのcytokine分泌が攪乱され、trophoblastの増殖や機能発現が障害されると考えられる。このことが、trophoblastからの血管新生因子放出の低下にもつながり、胎盤血管系の構築も障害される。こうして妊娠中毒症が発症していくと示唆された。

一方、IUGRの両親に由来するリンパ球のMLRの低下は、母親のリンパ球の夫のそれに対する細胞傷害活性が高く、そのためstimulatorである夫リンパ球数が早期に減少し刺激が不十分となり、結果としてMLRが低下したと解釈された。また、IUGRにおいては胎児由来の細胞もリンパ球の攻撃を受けやすい状態であると考えられ、母児間の免疫応答の異常が推知された。