

オートファジー不全と免疫寛容不全から読み解く 多因子疾患としての妊娠高血圧腎症

国立大学法人富山大学 産科婦人科学講座
教授 中島彰俊

はじめに

妊娠高血圧症候群（Hypertensive disorders of pregnancy; HDP）は、過去には妊娠中毒症と言われ“学説の疾患”や“分類の学問”と言われてきた。これを近年の考え方にあてはめれば、生活習慣病や癌に代表される“多因子疾患”であることを表していると考えられる。多因子疾患とは、複数のリスク遺伝子バリエーションの蓄積と、運動、食事、汚染物質などの環境要因の暴露が組み合わさって発症する疾患の総称であり、発症予測にはポリジェニックスコア（関連遺伝子のバリエーションを用いた評価法）が用いられる。一方、HDPではポリジェニックスコアではないが、英国 Fetal Medicine Foundation が提唱する妊娠初期の所見（平均動脈血圧、子宮動脈 pulsatility index, 血中胎盤成長因子（placental growth factor; PlGF）等）により、妊娠高血圧腎症（preeclampsia; PE）の発症予測とアスピリン内服による発症予防が行えるようになってきた。ただ一方で、PE発症後の効果的治療はなく、唯一の治療が妊娠終結であることは、まだまだ大きな臨床上の課題である。本レビューでは、PE病態論と共にその関連リスクとなるオートファジー不全と免疫寛容不全、そしてそこから見える新規治療法について概説する。

Keywords: HDP、PE、オートファジー、免疫寛容、炎症

妊娠高血圧腎症（PE）の病態論：4段階仮説

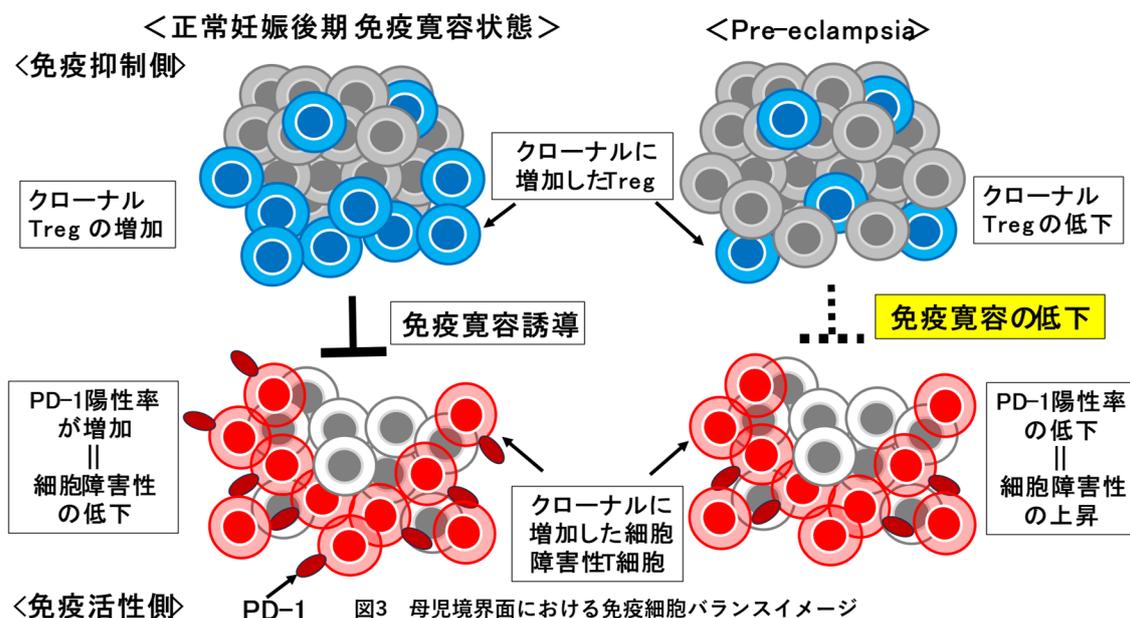
PEの病態生理を語る上で必要な知識として、Redmanが提唱する4段階仮説がある（図1）¹⁾。ここで注目すべきは、着床前後の Stage 0/1 において、父親抗原に対する母体側の免疫の受け入れが不十分、つまり“免疫寛容不全”が一つのリスクとされることである。そのリスクや別の病因も加わり、Stage2以降では胎盤低形成が誘発され、胎盤内は“慢性低酸素”状態に晒されると考えられる。その後、低酸素は酸化ストレスや小胞体ストレス、更には我々の研究テーマである“オートファジー不全”を誘導する。その中でも最も有名な病因は

	想定される免疫学的機序		
	父親抗原に対する免疫寛容誘導不全	精液曝露による父親抗原に対する免疫寛容誘導不全	児が完全異物であるため拒絶反応が起こりやすい
初めての妊娠	○		
パートナーチェンジでリスク上昇	○		
最後の分娩から10年以上経過するとリスク上昇	○		
コンドームでの避妊歴が長いとリスク高い		○	
同棲してから短期間で妊娠するとリスクが高い		○	
精子提供妊娠		○	
卵子提供妊娠			○
胚提供妊娠		○	○
胞状奇胎 (全遺伝子は父親由来)			○

図2 PEへの免疫学的関与が示唆される疫学データ (文献4より一部改変)

母体免疫寛容不全のメカニズムとPE発症

我々はマウス妊娠モデルにおいて父親抗原（そのように推定する物質）は精子ではなく、精漿に多く含まれており、精漿内父親抗原特異的に制御性 T (Treg) 細胞が増加することを報告した⁵⁾。そして、それをヒトでも検証するため、脱落膜内にある制御性 T 細胞の T 細胞受容体 (T cell receptor; TCR) の均一性 (クローナリティー) を比較した。TCR はそれぞれ一つの抗原にしか結合せず、その数は数千万種類あると想定される。TCR に抗原が結合すると、T 細胞はクローン化・活性化し機能する。正常妊娠に比し PE では脱落膜中の Treg 率には変化がないものの、クローン化 Treg が PE 症例では有意に低下していた。これは、抗原特異的 Treg 細胞の誘導不全と考えられ、半移植片を受け入れるための免疫寛容が不十分となる原因と考えられた。さらに数名ではあるが、同じパートナーに対する初回および二回目の同一妊婦の脱落膜中 Treg の比較において、同一 TCR を持つ Treg 細胞が複数認められた。数千万種類の中から同じクローンが偶然見つかる確率は低く、このクローン重複は偶然ではなく、母由来 Treg が母子境界面の抗原に反応し増殖したクローンであると結論付けた⁶⁾。他方、細胞傷害性 T 細胞も同様にクローンが増加するが、正常妊娠に比し PE ではその T 細胞上の PD-1 (Programmed death receptor-1、免疫抑制に働く) 発現率が低下し、絨毛細胞には PD-L1 が発現しているため、絨毛細胞への傷害性が増加していた⁷⁾。以上より、PE 患者では絨毛細胞に対する免疫寛容不全と細胞傷害性の増加による拒絶反応が、母児境界面で起きていることが分かってきた (図 3)⁸⁾。



胎盤におけるオートファジー不全とその表現型

オートファジーとは全ての細胞が持つ細胞内恒常性維持機構であり、胎盤絨毛細胞にも備わっている。主な役割は2つあり、1) 細胞飢餓時に細胞内小器官を自己食食することでエネルギーを産生することと、2) 細胞内に蓄積する余剰あるいは異常タンパクを除去し細胞内のタンパク代謝を維持する、というものである。我々は、低酸素および酸化ストレス、小胞体ストレスへ対抗する機構として捉え、オートファジー不全絨毛細胞や胎盤特異的オートファジー欠損モデルマウスを作成し、その機構を解明してきた。

絨毛細胞浸潤不全は胎盤低形成の一因となるが(図1、Stage2)、オートファジー不全絨毛細胞は低酸素下で浸潤能が低下すること、そしてPE胎盤組織外に浸潤した絨毛細胞ではオートファジー不全が起きていることを示した⁹⁾。他方、胎盤絨毛を被覆する合胞体栄養膜細胞は、胎児へ酸素および栄養供給を行っている。我々は、オートファジー抑制剤(Bafilomycin; Baf)を用いた実験において、Bafは絨毛細胞の合胞体化を抑制(hCG産生の低下、細胞融合の抑制、分化マーカー抑制など)することも明らかとした。そこには細胞内小器官のリソソームが重要な役割を果たすようである¹⁰⁾。

以上より、オートファジー不全が絨毛細胞の浸潤抑制および合胞体分化抑制に寄与し、胎盤低形成の原因となる可能性が*in vitro*で示唆された。さらにオートファジー不全とPEの関与を明らかにすべく、胚盤胞に対してレンチウイルス感染を利用した絨毛細胞特異的Atg7(オートファジー活性化に必須因子)欠損モデルを作成した

(図4 上段)。“オートファジーが正常な”偽妊娠母獣にその胚盤胞を生着させ、その後の妊娠経過を観察した。その結果、“オートファジー不全胎盤”は正常に比し重量の低下を認めると共に、母獣は妊娠後半に血圧が有意に上昇した(タンパク尿は認めなかった)。2018年に発表されたHDPの新分類に照らし合わせれば、妊娠高血圧に胎盤機能不全が合併することからPEモデルと考えられ、オートファジー不全はPEのリスクになりうると想定された¹¹⁾。

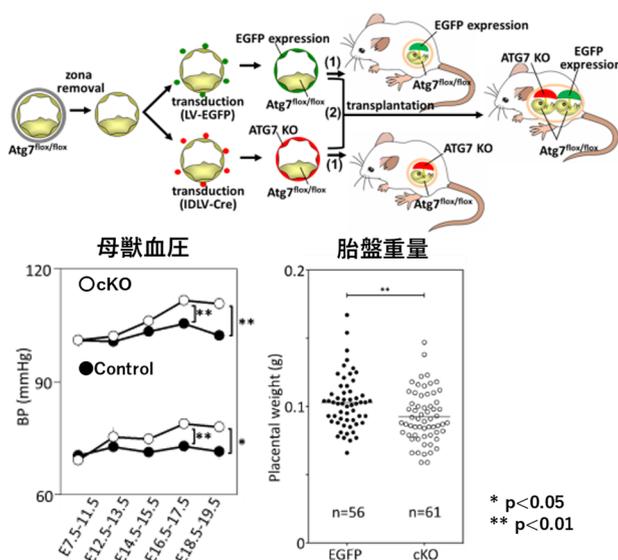


図4 胎盤特異的オートファジー欠損マウスモデル(cKO)の作成と表現型 (文献11より改変)

胎盤オートファジー不全と異常たんぱく蓄積と炎症

オートファジー不全と絨毛細胞の機能低下を検討するにあたり、細胞内異常タンパク蓄積に注目した。これに関連する代表的な疾患として、アルツハイマー病などに代表される神経変性疾患がある(異常なアミロイドタンパクの蓄積が要因)。最初に絨毛組織における異常タンパク蓄積の評価を行い、我々のモデルマウス同様、PE胎盤内には異常たんぱくの蓄積が確認された。上述のノックアウト胎盤はAtg7ノックアウトによる人為的モデルであったため、PE胎盤のオートファジー制御因子の検索を行い、オートファジー制御因子として注目されているTFEB(Transcription factor EB)の発現がPEで低下していることを明らかとした。更に、*in vitro*実験において慢性的低酸素が、初代絨毛細胞のTFEB発現を抑制し、リソソームの加水分解酵素発現も低下することを明らかとした¹²⁾。加えて、PE妊婦血清中には正常妊婦血清では認めないTFEB抑制因子が含まれることも推定され、それらを現在研究中である。

オートファジーはインフラマソーム除去作用を持ち、抗炎症作用

を持つことが知られている。実際、オートファジー欠損絨毛細胞に PE 血清処理するとインフラマソームの活性化が起こりやすく、低酸素を介した小胞体ストレスの過剰蓄積がインフラマソーム活性化の原因となるようである。その結果、絨毛細胞には Pyroptosis 細胞死が誘導され、強い炎症が誘導される¹³⁾。上述のごとく、PE 妊婦では制御性 T 細胞の減少・細胞障害性 T 細胞の活性化状態にあるため、これらも複合的に関与し PE 妊婦の全身性炎症につながると想定される。

オートファジー不全と免疫寛容不全から見た新規治療戦略

マラリアや SLE 治療に使用されるヒドロキシクロロキンはオートファジー抑制剤という側面があるものの、妊婦に使用可能であり、疫学的には PE 発症率を増加させるという報告はない。実験的に絨毛細胞毒性を検証するため、Baf およびクロロキン(CQ)の比較を行った。その結果、Baf は抗酸化酵素である Heme oxygenase-1 (HO-1) 低下作用、強力なリソソームおよびオートファジー抑制作用を示すものの、CQ のオートファジー抑制作用は軽度であり、HO-1 低下作用を示さないことが分かった。また、その分子メカニズムの比較から、Baf のみが酸化ストレス耐性に関わる NBR1(Neighbor of BRCA1 gene1)発現抑制作用を持つことが明らかとなった¹⁴⁾。そこで、図 1 /stage3 に示す酸化ストレスへの耐性改善を目標とし、NBR1 や HO-1 増加およびオートファジー活性化を誘導する薬剤を検索している。また、免疫寛容不全に関しては、父親抗原特異的 Treg 細胞の効率的同定と誘導系を確立できれば、免疫寛容誘導による治療が可能となるのではないかと考えている。文献的には Treg 誘導にオートファジー活性化が必要という報告もあるため¹⁵⁾、オートファジー活性化は Treg 維持にも有利に働く可能性がある。

終わりに

血管新生抑制因子は PE 発症予測に使用されるが、今後は sFlt-1 除去により重症 PE 妊婦の妊娠期間の延長が期待されている¹⁶⁾。我々は、多因子疾患として HDP をとらえ、将来的には癌治療のごとく、その病因によりオーダーメイド化され、治療法も細分化していくと予想する。そこに、オートファジー活性化治療や免疫寛容改善が含まれるよう、今後も研究を続けていきたい。

【引用文献】

1. Redman CW. Pre-eclampsia: Definitions, paternal contributions and a four stage model. *Pregnancy Hypertens.* 2011;1:2-5.
2. Levine RJ et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med.* 2006;355:992-1005.
3. Masoudian P et al. Oocyte donation pregnancies and the risk of preeclampsia or gestational hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2016;214:328-39.
4. 齋藤滋. 妊娠高血圧症候群の Up-to-date —特に免疫を中心に—. *日本産科婦人科学会雑誌* Vol70, 1139-1147, 2018.
5. Shima T et al. Uterine CD11c+ cells induce the development of paternal antigen-specific Tregs via seminal plasma priming. *J Reprod Immunol.* 2020;141:103165.
6. Tsuda S et al. Clonally Expanded Decidual Effector Regulatory T Cells Increase in Late Gestation of Normal Pregnancy, but Not in Preeclampsia, in Humans. *Front Immunol.* 2018;9:1934.
7. Morita K et al. Analysis of TCR Repertoire and PD-1 Expression in Decidual and Peripheral CD8+ T Cells Reveals Distinct Immune Mechanisms in Miscarriage and Preeclampsia. *Front Immunol.* 2020;11:1082.
8. Tsuda S et al. 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. *Hum Immunol.* 2021;82:346-352.
9. Nakashima A et al. Impaired autophagy by soluble endoglin, under physiological hypoxia in early pregnant period, is involved in poor placentation in preeclampsia. *Autophagy.* 2013;9:303-16.
10. Furuta et al. The Autophagy-Lysosomal Machinery Enhances Cytotrophoblast-Syncytiotrophoblast Fusion Process. *Reprod. Med.* 2022;3:112-126.
11. Aoki A et al. Trophoblast-Specific Conditional Atg7 Knockout Mice Develop Gestational Hypertension. *Am J Pathol.* 2018;188:2474-2486.
12. Nakashima A et al. Evidence for lysosomal biogenesis proteome defect and impaired autophagy in preeclampsia. *Autophagy.* 2020;16:1771-1785.
13. Cheng SB et al. Pyroptosis is a critical inflammatory pathway in the placenta from early onset preeclampsia and in human trophoblasts

- exposed to hypoxia and endoplasmic reticulum stressors. *Cell Death Dis.* 2019;10:927.
14. Furuta A et al. Chloroquine is a safe autophagy inhibitor for sustaining the expression of antioxidant enzymes in trophoblasts. *J Reprod Immunol.* 2023;155:103766.
15. Wei J et al. Autophagy enforces functional integrity of regulatory T cells by coupling environmental cues and metabolic homeostasis. *Nat Immunol.* 2016;17:277-85.
16. Thadhani R et al. Removal of Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 by Dextran Sulfate Apheresis in Preeclampsia. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27:903-13.