

# 論 文 内 容 要 旨

Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period

(制御性 T 細胞は早期新生児期に著明に増加する)

Clinical & Experimental Immunology, in press.

主指導教員：小林 正夫 教授

(医歯薬保健学研究科 小児科学)

副指導教員：工藤 美樹 教授

(医歯薬保健学研究科 産科婦人科学)

副指導教員：川口 浩史 講師

(広島大学病院 小児科)

早川 誠一

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

## 論文内容要旨

制御性 T 細胞 (Treg) は、広範な免疫細胞を抑制することで免疫の恒常性を維持している。新生児は、子宮内から子宮外への環境変化において、様々な外来抗原へ暴露され、外来抗原に対する過剰な免疫反応はアレルギー疾患や炎症性疾患の原因となる可能性がある。新生児期における Treg は、環境の劇的変化による過剰な免疫反応を抑制することで重要な役割を果たしている可能性が考えられるが、新生児期における Treg の変化を詳細に検討した報告は少ない。本研究では、新生児期における Treg の数と表現型の変化、および臍帯血リンパ球の Treg 誘導を *in vitro* で検討した。

2013 年 11 月から 2014 年 12 月に広島大学病院 NICU に入院した新生児 49 例 (男児 24 例、女児 25 例、平均在胎週数  $34.0 \pm 1.6$  週) を対象とした。保護者への説明、同意を得た上で、臍帯血、新生児期早期 (日齢 7~8) と新生児期後期 (生後 2~4 週) の末梢血を採取し、フローサイトメトリーにて解析した。

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞を total Treg と定義した。さらに CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞を naïve T 細胞に発現する CD45RA と Treg のマスター転写因子である Foxp3 の発現により resting Tregs (CD45RA<sup>+</sup> Foxp3<sup>low</sup>)、activated Tregs (CD45RA<sup>-</sup> Foxp3<sup>high</sup>)、newly activated T cells (CD45RA<sup>-</sup> Foxp3<sup>low</sup>) のそれぞれ 3 つの Treg subpopulation に分類した。resting Treg と activated Treg は共に抑制活性をもつが、resting Treg が活性化、増殖することで activated Treg となり最も強い抑制活性を示すことが報告されている。一方で newly activated T cells は、抑制機能をもたず、炎症性サイトカインを産生する。新生児期早期末梢血では、臍帯血と新生児期後期末梢血に比し、total Treg の有意な増加が認められた。新生児期早期の total Treg の増加に一致して、activated Treg が他の Treg subpopulation と比し、著明に増加していた。Treg の抑制機能に関連する分子である CTLA-4、活性化に関連するケモカインレセプター CCR4、CCR7 の発現を解析したところ、新生児期早期の total Treg の増加に一致して、Treg における CTLA-4 発現の増強、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> 細胞における CCR4 発現の増加と CCR7 発現の低下が認められた。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> 細胞は Treg を豊富に含む細胞集団として報告されていること、CCR4 と CCR7 のケモカインレセプターの変化から、新生児期早期には、抑制活性をもつ機能的な Treg の増加と活性化が起こっていることが示唆された。

臍帯血単核球と成人末梢血単核球を用いて、*in vitro* において抗 CD3 抗体刺激による Treg の誘導を行った。臍帯血単核球では、成人末梢血単核球に比し、培養 2 日目、5 日目に CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>Foxp3<sup>high</sup> 細胞が有意に誘導された。臍帯血リンパ球は適切な刺激に応じて、Treg が誘導される特性を有していることが示唆された。

新生児期の Treg の変化に関連する種々の因子を検討した。従来報告と一致して、臍帯血 Treg の数と在胎週数、ならびに出生体重とに負の相関を認めた。さらに、母体へのステロイド投与と臍帯血ならび新生児期後期末梢血における Treg の増加、母体への抗菌剤投与と新生児期早期末梢血における Treg、activated Treg の減少、組織学的

絨毛膜羊膜炎と新生児期早期における **Treg**、**activated Treg** の減少との関連が認められた。**Treg** の発生、誘導に様々な因子が影響することが報告されており、胎児期、新生児期における **Treg** へ影響する因子を明らかにするためには、更なる検討が必要である。

以上結果から、新生児期早期における機能的な **Treg** の増加は、出生後の環境の変化に適応するための免疫学的な制御に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。