

学位請求論文の内容の要旨

| | |
|---|----------------------------|
| 論文提出者氏名 | 生育科学領域生殖機能病態教育研究分野 氏名 船水文乃 |
| (論文題目) Expression of Natural Cytotoxicity Receptors and Natural Killer Cells Cytokines Production in Peritoneal Fluid of Women with Endometriosis (子宮内膜症における腹水中 NK 細胞の Natural Cytotoxicity Receptor 発現とサイトカイン産生) | |
| 【諸言】 子宮内膜症は、子宮外で子宮内膜類似組織が発育する疾患であり、生殖年齢の女性に好発することが知られているが、その病態の詳細は未だ不明な点が多い。近年、子宮内膜症患者では腹水中の NK 細胞数が減少していることから、月経に伴い腹腔内に逆流してきた子宮内膜細胞が免疫学的に排除出来ず、その結果、子宮内膜症が進展する可能性が報告されている。NK 細胞の機能は抑制性レセプターと活性型レセプターのバランスにより制御されており、子宮内膜症では抑制性レセプターのひとつである Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR)の発現が増加していると報告されてきた。しかし、活性型レセプターのひとつである Natural Cytotoxicity Receptor (NCR: NKp30、NKp44、NKp46)と子宮内膜症との関連はいまだ報告されていない。また、腹水中の炎症性サイトカインの増加は腹腔内の慢性炎症を引き起こし、子宮内膜症細胞を増加させ、子宮内膜症の進展に重要な役割を示すと報告されている。しかし、NK 細胞とサイトカイン産生の直接的な関係を示した報告はない。 そこで、本研究では、子宮内膜症患者の腹水を採取し、その中に含まれる NK 細胞の NCR 発現とサイトカイン産生を分析し、その病態の一端を明らかにすることを目的とした。 | |
| 【方法】 【対象】 当院倫理委員会および患者の同意のもと、当科で腹腔鏡手術を施行した子宮内膜症患者(R-ASRM III、IV 期)18 例(子宮内膜症群)、および子宮筋腫、卵巢嚢腫などの良性腫瘍の治療目的で腹腔鏡手術を施行した 28 例(コントロール群)より腹水を採取した。 【NK 細胞の細胞表面抗原発現】 Ficoll-Hypaque 法により腹水細胞浮遊液を作成したうえで NK 細胞表面マーカー (CD45、CD56、CD16) および NCR (NKp30、NKp44、NKp46) を染色し、マルチカラーフローサイトメトリー解析を行った。 【NK 細胞のサイトカイン産生】 腹水細胞浮遊液中の NK 細胞を Brefeldin-A 存在下で PMA、Ionomycin で刺激した。NK 細胞を標識する CD45、CD56 で染色し、さらにサイトカイン (TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IL-10、GM-CSF、TGF- β_1) を細胞内染色した。それらについてマルチカラーフローサイトメトリー解析を行った。 【統計解析】 患者背景のうち年齢、妊娠分娩率、流産率は Mann-Whitney U 検定を行い、月経周期や薬物療法の有無は χ^2 検定を行った。両群間の NK 細胞表面抗原およびサイトカイン産生の検定には Mann-Whitney U 検定を用い、NCR 発現とサイトカイン産生との相関は Pearson 積率相関分析で検討した。 | |

【結果】

患者背景（年齢、妊娠分娩率、流産率、月経周期、薬物療法の有無）には両群間に差を認めなかった。

【NK 細胞表面抗原発現】 子宮内膜症群の CD56⁺/NKp46⁺細胞の割合(22.84 (11.58－46.34)、中央値 (四分位))は、コントロール群(30.20(18.72－51.20))に比べて有意に低値であった($p<0.05$)。また、CD56⁺発現により CD56^{bright}細胞と CD56^{dim}細胞に細分すると、子宮内膜症群の CD56^{dim}/NKp46⁺細胞の割合(16.67(8.95－33.09))がコントロール群(26.12(14.60－41.14))に比べて有意に低値であった($p<0.01$)。CD16、NKp30、NKp44については両群間に有意差を認めなかった。

【NK 細胞のサイトカイン産生】 子宮内膜症群の TNF- α (33.87(25.21－60.73))および IFN- γ 産生(50.04(26.98－71.33))NK 細胞の割合はコントロール群(TNF- α :25.42(17.56－30.43) IFN- γ :19.41(6.01－38.37))に比べて有意に高値であった($p<0.05$)。IL-4、IL-10、GM-CSF、TGF- β については両群間に有意差を認めなかった。

【NK 細胞の NKp46 発現とサイトカイン産生の相関】 子宮内膜症群において CD56⁺/NKp46⁺細胞の割合と TNF- α 産生NK細胞の割合との間に有意な負の相関を認めた($r=-0.708$ 、 $p<0.05$)。しかし、コントロール群においては相関を認めなかった。

【考察】

子宮内膜症群ではコントロール群に比べて CD56⁺/NKp46⁺細胞および CD56^{dim}/NKp46⁺細胞の割合が有意に低かった。CD56 発現の弱い CD56^{dim}細胞は細胞傷害性に関連すると考えられているので、このことから、子宮内膜症群ではNK細胞の細胞傷害性が減少していることが考えられた。

一方、子宮内膜症群ではコントロール群に比べて TNF- α と IFN- γ 産生 NK細胞の割合が有意に高かった。TNF- α は炎症性サイトカインの一つで、子宮内膜症細胞の細胞増殖と血管新生にも関与していることが知られている。また、IFN- γ は炎症と血管新生を促進するなど、血管リモデリングにおいて重要な役割を果たしている。子宮内膜症では豊富な血管新生が観察されているが、これらは TNF- α と IFN- γ の増加に起因する可能性が考えられた。

子宮内膜症群で CD56⁺/NKp46⁺細胞と CD56⁺/TNF- α ⁺細胞の間に有意な負の相関を認めたのに対し、コントロール群では両者間に相関は認められなかった。この結果は、子宮内膜症では慢性炎症が起こっており、そのためNK細胞が活性化されて反応性が高くなっていることを示唆するものと考えられた。

これまでの研究で、我々は着床不全や不育症など不妊女性ではNKp46発現が減少し、TNF- α が増加していると報告してきた。子宮内膜症は骨盤臓器の強固な癒着をもたらすために不妊症の大きな要因となる疾患であるが、今回の結果は、子宮内膜症患者でのNKp46発現の減少とTNF- α とIFN- γ の増加もまた、子宮内膜症患者の不妊症の原因のひとつとして挙げられることを強く示唆した。

※1 乙の場合、〇〇領域〇〇教育研究分野にかえて、所属の〇〇講座を記入すること。

※2 論文題目が英文の場合は（ ）内に和訳を付記すること。