

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	成育科学領域 生殖機能病態学教育研究分野 氏名 淵之上 康平
<p>(論文題目) Expression of retinoid-related orphan receptor γt (RORγt) on NK22 cells in the peripheral blood and uterine endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss and unexplained infertility (リスク因子不明不育症患者と原因不明不妊症患者における末梢血および子宮内膜 NK22 細胞に対する RORγt 発現について)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【目的】 リスク因子不明不育症の中には、NK 細胞の異常を有するものが含まれていると考えられる。不育症患者の子宮内膜 NK 細胞では IFN-γ や TNF-α の産生が亢進する、いわゆるタイプ 1 シフトが起こっていることが知られている。我々は、不育症患者では、子宮内膜 NK 細胞の IL-22 産生 NK 細胞(NK22 細胞)発現亢進が IL-22 産生を増加させ、NK 細胞産生サイトカインを制御することによりタイプ 1 シフトを是正している可能性があることを報告した。さて腸管の NK22 細胞は細胞表面に Natural cytotoxicity receptor (NCR)として NKp44 または NKp46 を、細胞内には細胞内転写因子として retinoid-related orphan receptor γt (RORγt)を発現しており、それらが NK22 細胞の IL-22 産生を制御していると考えられている。しかし、末梢血および子宮内膜における、それらの関連は明らかではない。そこで不育症患者の末梢血および子宮内膜 NK22 細胞の NCR と RORγt 発現の関連性を明らかにすることを目的に以下の検討を行った。</p> <p>【方法】 当院倫理委員会の承認および患者への説明と同意のもとに研究を行った。流産歴が 2 回以上で明らかな不育症の原因を有さないリスク因子不明不育症 (unexplained recurrent pregnancy loss; uRPL 群、n=22)を対象とし、原因不明不妊症 (unexplained infertility; uI 群、n=25)を対照として検討を行った。これらの患者から黄体期中期に末梢血および子宮内膜組織を採取した。末梢血は Ficoll-Hypaque 密度勾配法により、単核細胞浮遊液(PBMC)を作成した。子宮内膜組織は MACS Dissociator を用いて組織を物理的に粉碎し、細胞浮遊液を作成した。これらの細胞の表面抗原 (CD45、CD56、NKp46、NKp44)を染色した。次に、ホルムアルデヒド・サポニン細胞膜透過処理法を用いて細胞を固定・透過処理し、細胞内の RORγt を染色した。また、PMA・Ionomycin を用いてサイトカイン産生刺激を行い、前述と同様に表面抗原を染色した。この細胞を固定・透過処理し、細胞内サイトカイン(IL-22・IFNγ・TNFα)を染色した。これらの細胞発現をフローサイトメトリーにて測定した。患者背景、両群間の NK 細胞における表面抗原および RORγt 発現、各種サイトカイン産生の検定は Mann-Whitney U 検定を行った。相関の解析は Pearson の積率相関分析をおこなった。</p> <p>【成績】 ①uRPL 群(末梢血:r=0.626、子宮内膜:r=0.634)、uI 群(末梢血:r=0.636、子宮内膜:r=0.616)ともに末梢血、子宮内膜において IL-22 産生 NK 細胞と CD56⁺/NKp46⁺/RORγt⁺NK 細胞との間に有意な正の相関を認めた。②uRPL 群、uI 群における RORγt⁺NK 細胞の NCR 発現は、末梢血・子宮内膜とも NKp44 発現に比して NKp46 発現が有意に高値であった (いずれも p<0.01)。③ uRPL 群の CD56^{bright}/NKp46^{bright}NK 細胞における RORγt 陽性率は、末梢血、子宮内膜とも uI 群に比して有意に高値であった (p<0.05)。④ CD56^{bright}/NKp46^{bright}/RORγt⁺NK 細胞は</p>	

末梢血、子宮内膜間で有意な正の相関を認めた($r=0.516$)。⑤uRPL群の子宮内膜では、 $CD56^{bright}$ NK細胞における $ROR\gamma t$ 陽性率と $IFN\gamma \cdot TNF\alpha$ 陽性率は有意な負の相関を認めた($IFN\gamma:r=-0.635$ 、 $TNF\alpha:r=-0.644$)。

【考察】本研究により末梢血・子宮内膜において $ROR\gamma t$ の IL-22 産生への関与を初めて示した。また末梢血の $ROR\gamma t$ 発現は、子宮内膜の NK22 細胞の機能を反映している可能性を初めて示した。すなわち、末梢血・子宮内膜 NK22 細胞は $ROR\gamma t$ が発現しており、NKp46 発現が最も優位であることが示された。また、不育症において $NKp46^{bright}$ NK細胞の $ROR\gamma t$ 発現率が増加していることが示された。本研究の結果からは不育症における IL-22 産生亢進は $ROR\gamma t$ が関与しており、不育症における異常 $IFN\gamma \cdot TNF\alpha$ 発現の制御に働いている可能性が示された。また、我々は末梢血 $NKp46NK$ 細胞は子宮内膜 $NKp46NK$ 細胞の状態を反映していることも示しており、本研究の結果から末梢血の $CD56^{bright}/NKp46^{bright}/ROR\gamma t^{+}NK$ 細胞を見ることで子宮内膜の状態を予測できる可能性が示された。