

8-1 ヒト子宮内膜における6Ckineの発現, 局在および月経周期による変動に関して

京都府立医大

中山 毅, 北宅弘太郎, 大黒信依, 本庄英雄

【目的】ヒト子宮内膜では, 増殖期に比べ分泌期にCD16陰性CD56陽性ナチュラルキラー(NK)細胞が増加する。その機序のひとつとして, 子宮内膜がこれらのNK細胞を末梢血管から選択的に取り込んでいる可能性が考えられる。今回, 我々は末梢血CD16陰性CD56陽性NK細胞に対し, 選択的遊走作用を持つケモカイン, 6Ckineの子宮内膜における発現, 局在および月経周期による変動を調べ, これらのNK細胞の選択的取り込みへの関与について検討した。【方法】同意を得た子宮筋腫, 子宮頸部上皮内癌患者より手術時に子宮内膜を採取した。月経周期各期の子宮内膜における6Ckineの蛋白含有量はELISA法を用いて調べた。6Ckineの局在は免疫組織化学法により調べた。この際, 子宮内膜間質における6Ckine陽性細胞を同定するため, 連続切片法を用いた。単位面積あたりのCD56陽性細胞数をカウントし, 6Ckine蛋白含有量との相関を観た。【成績】6Ckineの蛋白の発現は全ての子宮内膜検体に認め, その発現は増殖期と比較し分泌期に有意に強かったが, 分泌期中期ではやや発現が弱かった。6Ckineは月経周期を通して, 表面上皮, 腺上皮細胞および血管周囲間質細胞に局在し, 特に分泌期にはより広範囲の血管周囲細胞に免疫染色を認めた。さらに間質には散在性に6Ckine陽性細胞が認められ, これらの細胞の中にはCD3, CD56, CD68陽性のものを認めた。またCD56陽性細胞数と6Ckine蛋白含有量の間には正の相関を認めた。【結論】6Ckineが子宮内膜において末梢血CD16陰性CD56陽性NK細胞の選択的取り込みに関与する可能性が示唆された。

4 一般演題
月 12 日 月

8-2 子宮内膜 natural killer (NK) 細胞におけるNK1/NK2サブセットに関する検討

弘前大

葛西剛一郎, 藤井俊策, 福井淳史, 水沼英樹

【目的】近年, 末梢血NK細胞ではTh1/Th2細胞と産生cytokineの類似したNK1/NK2細胞の存在が明らかにされた。また, 子宮内膜NK細胞(uNK細胞)subsetは末梢血のそれとは大きく異なる。そこでuNK細胞におけるNK1/NK2subsetの関係と, subtype別の機能, 特に血管新生作用につき検討した。【方法】当科外来患者28名と手術患者10名より同意のもと採取した分泌期子宮内膜を分散, ろ過し細胞浮遊液を調製した。それを抗CD16, 45, 56抗体で標識しflowcytometryにてuNK細胞subsetを測定するとともに, 各subsetにおけるIFN- γ (NK1cytokine), IL-13, IL-5(NK2cytokine)の発現からNK1/NK2細胞の分布をみた。次にuNK細胞の分化様式を検討する目的で, 浮遊液をA: control, B: IL-12添加, C: IL-12 \rightarrow IL-4添加, D: IL-4添加, E: IL-4 \rightarrow IL-12添加の5群に分け, 同様にsubsetを解析した。さらに抗CD16, 56磁気ビーズにて各subset浮遊液を作成, RT-PCR法にて血管新生関連因子の発現を調べた。【成績】CD56^{bright}細胞ではCD56^{dim}細胞よりもIL-5産生細胞比率が有意に高かった($p < 0.01$, $30.6 \pm 26.2\%$ vs $14.7 \pm 19.2\%$)。CD56^{bright}細胞にIL-12を添加するとIFN- γ , IL-5, IL-13産生細胞の割合が有意に増加したが, IL-4では変化しなかった。また, CD56^{bright}細胞ではCD56^{dim}細胞よりもVEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, Flt-1が有意に強く($p < 0.05$)発現していた。【結論】cytokine産生や刺激に対する反応という観点からは, uNK細胞の大部分を占めるCD56^{bright}細胞はNK2やNK0typeに類似していたが, 末梢血NK細胞とはsubtypeが異なると推測された。また, CD56^{bright}細胞は子宮内膜の血管新生を促し, 着床に有利な環境を形成している可能性が示唆された。

8-3 子宮内膜免疫担当細胞の機能分担と機能発現に影響を与える因子

弘前大

福井淳史, 藤井俊策, 葛西剛一郎, 水沼英樹

【目的】免疫応答の改善が期待されるDanazolの着床不全症例に対する臨床効果, ならびに子宮NK細胞(uNK細胞)の機能分担をみる目的に2種類のuNK細胞の構成比率を変えてのサイトカイン, ケモカインの違い, 外因性にuNK細胞の機能発現に影響を与える因子をみる目的にDanazolのuNK細胞への作用を検討した。【方法】IVF-ETで2回以上良好胚を移植したにも関わらず着床が成立しなかった22例の同意のもとDanazolを12週間投与し, 再度IVF-ETを施行した。また子宮内膜日付診を施行した41例から同意を得て子宮内膜を採取した。磁気ビーズにてCD16⁺CD56⁺子宮内膜浮遊液とCD16⁺CD56⁺子宮内膜浮遊液とを作成のうえ培養し, 培養上清中のG-CSF, GM-CSF, MIP-1 α をELISAで測定した。また子宮内膜浮遊液に各種濃度(無添加, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M)のDanazolを添加・培養しuNK細胞サブセットをflowcytometryで測定した。【成績】22例30周期中15周期(50.0%)に妊娠が成立した。CD16⁺CD56⁺子宮内膜浮遊液ではCD16⁺CD56⁺子宮内膜浮遊液に比してGM-CSF, G-CSF, MIP-1 α とも高濃度であった。Danazol添加により子宮内膜CD16⁺CD56⁺細胞の比率は無添加群($16.0 \pm 8.5\%$)に比して有意に増加した($17.0 \pm 8.8\%$ (10^{-5} M, $p < 0.02$), $17.4 \pm 9.6\%$ (10^{-6} M, $p < 0.02$), $17.5 \pm 9.9\%$ (10^{-7} M, $p < 0.05$))。しかし子宮内膜CD16⁺CD56⁺細胞の比率には変動を認めなかった。【結論】良好胚の胚移植にも関わらず妊娠が得られなかった症例に対しDanazolの投与は妊娠率を向上させた。uNK細胞の表面抗原の違いによる培養上清中サイトカイン, ケモカインが異なることが示唆された。また子宮内膜CD16⁺CD56⁺細胞の比率はDanazol添加により変動することが示唆された。