

8-4 ヒト妊娠初期脱落膜における Natural killer (NK) 細胞のサイトカイン産生パターンに関する研究

富山医薬大

樋熊須晴, 佐々木泰, 宮崎聡美, 斎藤 滋

【目的】ヘルパー T 細胞の Th1/Th2パラダイムは免疫抑制に関与する Tr1 (IL-10>TGF- β), Th3 (IL-10<TGF- β) が同定されたことにより Th1/Th2/Th3パラダイムへと進化した。NK 細胞に関しても T 細胞と同様に NK1, NK2細胞に大別されることが明らかになったが、これまで脱落膜中の NK (uNK) 細胞や T 細胞における TGF- β , IL-10産生を詳細に検討した報告はない。今回我々はヒト妊娠初期脱落膜中の単核球の TGF- β , IL-10産生を検討し、uNK 細胞にも Th1/Th2/Th3パラダイムが適応されるのかを解析した。【方法】日産婦倫理規定を遵守した上で妊娠初期脱落膜 (妊娠6-9週, n=13) を採取し、単核球の細胞表面マーカーと細胞内サイトカイン (TGF- β , IL-10, IFN- γ , TNF- α) 発現を Flow cytometry にて検討した。【成績】1) CD56^{bright} NK 細胞中の TGF- β , IL-10, IFN- γ , TNF- α 陽性細胞率はそれぞれ $20.0 \pm 8.9\%$, $6.0 \pm 6.1\%$, $2.0 \pm 2.4\%$, $0.7 \pm 0.9\%$ であり、Th1型サイトカイン (IFN- γ , TNF- α) 産生は軽微であり、Th3型のサイトカイン産生 (TGF- β >IL-10) を示した。2) CD56^{dim} NK 細胞でのサイトカイン産生パターンは CD56^{bright} NK 細胞と同様であった。3) CD56 リンパ球 (T 細胞が主体を占める) の TGF- β , IL-10, IFN- γ , TNF- α 陽性細胞率は $18.3 \pm 11.5\%$, $2.0 \pm 2.2\%$, $10.7 \pm 9.8\%$, $3.5 \pm 4.7\%$ で Th3細胞が主体ではあるが、かなりの IFN- γ を産生する Th1細胞も存在していた。【結論】正常妊娠脱落膜中の NK 細胞は NK3細胞 (Th3型) が主体を占め NK1細胞 (Th1型) がほとんど存在しないことが判明した。一方、T 細胞は Th3細胞が主体を占めているが、かなりの Th1細胞の存在も確認された。これらの結果は正常妊娠では uNK 細胞は主として TGF- β を産生し免疫抑制に関与している可能性を示唆している。

8-5 活性型 NK 受容体 NKG2C は脱落膜 NK 細胞で発現しているか

東京大

久須美真紀, 山下隆博, 永松 健, 金井孝夫, 兵藤博信, 三木明德, 藤井知行, 上妻志郎, 武谷雄二

【目的】半同種移植片である胎児が母体によって拒絶されない理由は不明であるが、近年母体 NK 細胞が注目されている。妊娠初期に脱落膜には NK 細胞として、CD56^{bright}CD16⁻細胞が豊富に存在している。この細胞は NK 細胞ではあるが細胞傷害活性が弱く、むしろ trophoblast の発育を調節していると考えられている。trophoblast には HLA-C, E, G が発現しているがこれらを認識する NK 受容体の一つ、NKG2に着目した。NKG2には抑制型の NKG2A と活性型の NKG2C があり、後者の活性が過剰となると trophoblast を攻撃、排除する可能性がある。そこで今回脱落膜 NK に NKG2C がどの程度発現しているか解析した。【方法】informed consent を得た妊娠5-10週の人工妊娠中絶症例の脱落膜よりリンパ球を分離、NKG2A mAb または NKG2C mAb と CD56 mAb との2重染色にて脱落膜 NK における NKG2C を発現する細胞集団の比率を FACS にて確認した。【成績】脱落膜 NK 集団において抑制型の NKG2A は100%の細胞で発現していたが活性型の NKG2C は $13.0 \pm 5.6\%$ の細胞にしか発現していなかった。【結論】CD56^{bright}CD16⁻の脱落膜 NK における活性型および抑制型受容体である NKG2C と NKG2A の発現を解析した。妊娠免疫を担うであろう脱落膜 NK 細胞において胎児を拒絶する方向に働く活性型の受容体の発現比率は抑制型に比べ有意に少なく、脱落膜 NK 細胞が免疫寛容の方向に働き、その細胞傷害性が小さい理由の一つとなるのではないかと考えられる。

8-6 流産例の着床部では granulysin 陽性 NK 細胞が増加している

富山医科薬科大学

塩崎有宏, 酒井正利, 佐々木泰, 米田 哲, 斎藤 滋

【目的】Granulysin は細胞傷害性 T 細胞ならびに活性化 NK 細胞の細胞内顆粒のみに発現し、殺細胞活性を有し、腫瘍細胞をアポトーシスに陥らせる。現在のところ、granulysin が流産に関与しているかは不明である。今回我々はヒト初期正常胎盤及び流産胎盤脱落膜における granulysin 蛋白の発現とその局在について検討した。【方法】患者同意の下、手術によって得られたヒト初期正常妊娠ならびに流産の胎盤、脱落膜の組織切片における granulysin 蛋白の局在を抗 CD3抗体 (T 細胞), 抗 CD8抗体 (CD8T 細胞), 抗 CD56抗体 (NK 細胞) と抗 granulysin 抗体で二重免疫染色を行い、光学及び共焦点レーザー顕微鏡により検討した。また細胞傷害活性を持つ顆粒蛋白である perforin および granzyme B の発現も検討した。【成績】1) Granulysin 陽性細胞は、脱落膜にのみ存在し、正常脱落膜 (非着床部 5.5 ± 3.7 /HPF 及び着床部 37.8 ± 9.1 /HPF) に比べ流産脱落膜 (非着床部 54.4 ± 14.4 /HPF 及び着床部 216.9 ± 83.4 /HPF) において有意に多かった ($p=0.002$ 及び $p=0.0076$)。2) Granulysin 陽性細胞は流産例で非着床部 (54.4 ± 14.4 /HPF) に比べ、着床部 (216.9 ± 83.4 /HPF) で有意に増加していた ($p=0.0081$)。3) Granulysin の発現は CD56陽性細胞が主体であり、CD8陽性細胞では発現していなかった。4) Perforin 及び granzyme B の発現は正常例 (63.6 ± 33.8 /HPF 及び 70.5 ± 19.0 /HPF) と流産例 (65.0 ± 22.1 /HPF 及び 68.6 ± 26.3 /HPF) との間で有意差がなかった。【結論】Granulysin 陽性 NK 細胞は流産脱落膜の着床部に増加しており、着床部で細胞傷害を引き起こしている可能性が初めて示唆された。