

## ★P1-7 習慣流産および着床不全症例における末梢血NK細胞産生サイトカインについての検討

弘前大  
福井淳史, 水沼英樹

【目的】妊娠時子宮NK細胞産生サイトカインは、脱落膜化の補助やトロホプラストの侵入制御を行うと考えられているが、非妊時習慣流産、着床不全患者における末梢血NK細胞の役割は明らかではない。そこでこれらの患者と正常者における末梢血NK細胞産生サイトカインの差違につき検討した。【方法】IRBの承認および被験者の同意のもと、習慣流産患者(n=25, 35.1±4.8才)、着床不全患者(n=20, 32.7±2.7才)、正常妊孕能を持つ対照(n=15, 36.1±4.8才)の非妊時末梢血を用い、flow cytometryにてNK細胞(CD56<sup>+</sup>細胞, CD56<sup>dim</sup>細胞, CD56<sup>bright</sup>細胞)におけるサイトカイン(IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, GM-CSF)産生細胞の分布差を測定した。【成績】CD56<sup>bright</sup>/IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>/TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>細胞は習慣流産群で41.0(33.6—47.5)% (中央値, 95%CI)、着床不全群で43.5(39.9—50.1)%であり、対照群の31.4(24.6—36.7)%に比して有意に高値であった(それぞれp<0.05, p<0.01)。CD56<sup>bright</sup>細胞におけるIFN- $\gamma$ /IL-4, IFN- $\gamma$ /IL-10, TNF- $\alpha$ /IL-10比は習慣流産群で74.4(65.6—80.7), 70.0(62.0—78.4), 45.5(38.2—50.9)と対照群の64.4(55.3—71.5), 56.6(50.4—65.8), 29.9(24.0—39.6)に比して有意に高値であった(いずれもp<0.05)。さらにTNF- $\alpha$ /GM-CSF比は習慣流産群で0.60(0.53—0.68)、着床不全群で0.67(0.59—0.77)であり、対照群の0.45(0.40—0.54)に比して有意に高値であった(いずれもp<0.01)。【結論】非妊時末梢血における習慣流産患者のNK1シフトが確認された。また末梢血NK細胞産生TNF- $\alpha$ /GM-CSF比の測定は習慣流産や着床不全の診断において有用である可能性が示唆された。

## ★P1-8 子宮内膜症の癒痕化形成におけるin vitroモデルでの検討

大分大  
弓削彰利, 奈須家栄, 西田正和, 松本治伸, 橋原久司

【目的】子宮内膜症は、腹腔内癒着や卵管閉塞などを生じ、不妊の原因となる。皮膚科や眼科領域では癒痕化組織の線維芽細胞を用いた三次元培養をin vitroモデルとした研究が多くなされている。今回、正常子宮内膜間質細胞と子宮内膜症間質細胞を用いた三次元培養を行い、両細胞間で比較検討を行った。【方法】正常子宮内膜間質細胞と子宮内膜症間質細胞は、患者から同意を得て採取した。それぞれの細胞を1型コラーゲン溶液内に3×10<sup>6</sup>/mlの濃度になるよう懸濁、37℃で2時間培養、ゲル化後、DMEMを1ml加え、48時間培養した。培養後、写真撮影し、収縮率を比較検討した。また、 $\alpha$  smooth muscle actin( $\alpha$ SMA), Rho A, ROCK-1, ROCK-2をウエスタンブロット法で、fibronectinをELISA法で測定した。更にROCK阻害薬Y27632を用いてゲル収縮への影響を検討した。【成績】コラーゲンゲル三次元培養では、子宮内膜症間質細胞でより強い収縮が認められた。ウエスタンブロット法では、癒痕化の際に強く発現する筋線維芽細胞のマーカーである $\alpha$ SMAと細胞接着・浸潤に関与するRho A, 更にその下流にあるROCK-1, ROCK-2が子宮内膜症間質細胞でより強く発現した。ELISA法では、細胞-細胞外基質間接着に関与するfibronectinが子宮内膜症間質細胞でより強く発現した。ROCK阻害薬であるY27632を用いて三次元培養を施行したところ、その収縮は著明に抑制された。【結論】以上の結果から、子宮内膜症では癒痕化を生じやすいことがin vitroモデルでも確認された。 $\alpha$ SMAやRho-ROCK pathwayがその癒痕化に関与していることが示唆された。また、ROCK阻害薬Y27632はこの癒痕化に対する治療薬となる可能性が考えられた。

## ★P1-9 Metforminは、子宮内膜症細胞において、IL-8産生、細胞増殖、aromatase発現を抑制する

東京大  
竹村由里, 大須賀穰, 平田哲也, 広田 泰, 森本千恵子, 原田美由紀, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 甲賀かをり, 吉野 修, 矢野 哲, 武谷雄二

【目的】Metforminは、インスリン感受性改善作用を持つ糖尿病治療薬で広く使用されており、産婦人科領域では多嚢胞性卵巣症候群の治療に試みられている。この他に、metforminは、抗炎症作用を持つことやステロイド合成に影響を及ぼすことが知られている。そこで今回、metforminが子宮内膜症に対して治療効果を持つかを調べるために、子宮内膜症細胞におけるmetforminの作用についての検討を行った。【方法】患者の同意の下、子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術検体より子宮内膜症間質細胞(ESC)を分離培養した。ESCにmetformin(10, 100, 1000 $\mu$ M)とIL-1 $\beta$ を添加し、培養上清中のIL-8産生量をELISA法にて測定した。また、ESCにmetforminとcAMPを添加し、aromataseの遺伝子発現を定量的PCR法で評価した。さらに、ESCにmetforminを添加し、細胞増殖能をBrdU取り込みで、細胞毒性をLDH放出の測定により各々評価した。【成績】Metforminの添加は、ESC培養上清中のIL-8産生量を対照に比べ濃度依存性に67%まで低下させた。また、metforminの添加は、ESCにおけるaromataseの遺伝子発現を濃度依存性に対照に比べ最大58%に抑制した。さらに、metforminの添加は、ESCの細胞増殖能を濃度依存性に対照に比べ最大44%に抑制したが、細胞毒性は認められなかった。【結論】本検討により、metforminは、子宮内膜症間質細胞において、IL-1 $\beta$ によって誘導されるIL-8産生、細胞増殖、aromatase発現を抑制する作用を持つことが示された。Metforminがこれらの作用を発揮することにより子宮内膜症治療薬となり得る可能性が示唆された。