

シンポジウム 1 流産の原因と対策

3) 免疫機構から見た流産の病態解明とその対策

弘前大学 福井 淳 史

【目的】

遺伝学的に非自己である受精卵が子宮内膜に着床し成長して行くためには、その受精卵の受容を可能とする精妙な免疫機能の調整機構が介在し、さらに胎芽の拒絶を阻止しその発育を保証できる機構の存在が必要である。細胞傷害性リンパ球の一種である Natural Killer (NK) 細胞は、末梢血ばかりか子宮内膜にも存在し、子宮内膜における免疫機構の維持に重要な機能を果たしていることが明らかにされている。末梢血 NK 細胞の主構成成分である $CD16^+/CD56^{dim}$ 細胞は主として細胞傷害性に働き、子宮 NK 細胞の主構成成分である $CD16^+/CD56^{bright}$ 細胞は主としてサイトカイン産生に働く。NK 細胞の調節異常は不妊や流産を引き起こすと考えられてきており、末梢血のみならず、子宮内膜、脱落膜中の NK 細胞の絶対数の異常および構成比率の異常、あるいはレセプター発現やサイトカイン産生異常、遺伝子発現異常についての検討がなされ、妊娠の成立、維持における免疫系の関与はほぼ確立された概念となっている。そこで、本研究では着床機構、妊娠維持機構における NK 細胞の機能分担と機能発現をより明確にし、流産の原因としての免疫機構の異常を明らかにすることを目的とし、免疫系の正常化が流産の治療法として成り立つか否かを検討した。

【方法】

①反復流産における NK 細胞上活性化レセプター Natural cytotoxicity receptors の発現：NK 細胞では標的を認識し細胞傷害性を惹起するために Natural cytotoxicity receptors (NCRs) と呼ばれる特異なレセプター (NKp46, NKp44, NKp30) 発現の意義が指摘されてきている。また NCRs は NK 細胞による細胞傷害性のみならず NK 細胞の産生するサイトカインとの関連性が

あることが指摘されている。そこで反復流産における NCRs の関与を検討する目的で非妊時末梢血あるいは非妊時子宮内膜 NK 細胞における NCRs 発現をフローサイトメトリー (FCM) にて測定した。

②反復流産における NK 細胞が産生するサイトカイン：NK 細胞は $TNF-\alpha$ や $IFN-\gamma$ といったタイプ 1 サイトカインや IL-4, IL-5, IL-13 といったタイプ 2 サイトカイン、および IL-10, GM-CSF を産生する。そこで、NK 細胞によるサイトカインの産生がどのように反復流産に関与するのかを明らかにすることを目的に非妊時末梢血あるいは非妊時子宮内膜 NK 細胞によるサイトカイン産生を単一細胞レベルで FCM にて測定した。

③妊娠成立後の NK 細胞上 NCRs 発現と NK 細胞サイトカイン産生：NK 細胞は妊娠の成立のみならず、妊娠の維持にも大きく関与している。末梢血および子宮内膜 NK 細胞上 NCRs と NK 細胞産生サイトカインとの相関につき検討し、これらの異常とその後の妊娠経過との関連を反復流産症例のその後の妊娠経過、妊娠高血圧症候群発症の点から検討した。

④反復流産、着床不全に対する薬物投与：薬物による NK 細胞構成比率の正常化および免疫状態正常化を目的として、NK 細胞活性が高値あるいは NK 細胞の構成比率の異常が見られる反復流産患者に対し妊娠成立時から 4 週間ごとに γ グロブリンを投与した。また 2 回以上の発育良好胚移植にもかかわらず、着床が成立しない症例に対しダナゾールあるいは GnRHa を 12 週間投与し、投与前後での免疫学的な変動を確認のうえ、IVF-ET を施行し、その臨床成績につき検討した。

【成績】

- ①非妊時末梢血における $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞は反復流産で有意に低値であった。また $CD56^{dim}$ 細胞と $CD56^{bright}$ 細胞における NCRs 発現が対照群と反復流産群とは異なっていた。これらは NK 細胞の細胞傷害性の異常、サイトカイン産生の異常を示しているものであると思われた。子宮内膜における $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞も反復流産群で有意に低値であった。また同一症例での末梢血と子宮内膜の $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞との間には有意な正の相関が認められた。末梢血 NK 細胞を測定することの意義については議論が多いが、 $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞に関しては末梢血の測定は子宮内膜の状態を反映しているものと思われた。
- ②末梢血 $CD56^{bright} / IFN-\gamma^+ / TNF-\alpha^+$ 細胞は反復流産群で対照群に比して有意に高値であった。また $CD56^{bright}$ 細胞における $NK1 / NK2$ 比は反復流産群で対照群に比して有意に高値であり、反復流産では非妊時既にタイプ 1 シフトが起こっていることが示された。さらに NK 細胞産生 $TNF-\alpha / GM-CSF$ 比は反復流産群で対照群に比して有意に高値であった。末梢血 NK 細胞産生 $TNF-\alpha$ 、 $GM-CSF$ は安定して測定が可能であり、反復流産の診断において有用である可能性が示唆された。また子宮内膜において $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞は $CD56^+ / IFN-\gamma^+ / TNF-\alpha$ 細胞との間に有意な正の相関を認めた。すなわち反復流産での $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞の低下は着床に有用であると考えられる $IFN-\gamma$ 産生 NK 細胞の低下を示しているものと思われた。
- ③妊娠成立後の末梢血 $NKp46^+ / NK$ 細胞は反復流産既往群で非反復流産群に比して有意に低下していた。またこの $NKp46^+ / NK$ 細胞の低下は妊娠 20 週まで継続した。反復流産では妊娠が成

立・維持されているとしても NCRs の発現異常が存続する可能性が示唆された。またその後妊娠経過で妊娠高血圧症候群 (PIH) を発症した群では $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞が有意に低値であった。さらに $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞は $CD56^{bright} / IFN-\gamma^+ / TNF-\alpha^+$ 細胞と負の相関を示した。すなわち PIH 患者での $CD56^+ / NKp46^+$ 細胞の低下は $TNF-\alpha$ 産生 NK 細胞の増加を示しており、これより $NK1$ シフトが起こり、PIH が発症する可能性が示唆された。

- ④着床不全へのダナゾール投与により子宮内膜 $CD16^+ / CD56^{dim}$ 細胞が有意に増加した。GnRHa 投与による NK 細胞の変動は認められなかった。移植あたり妊娠率は薬物投与前に 4.5% であったものが、ダナゾール投与群で 46.7%、GnRHa 投与群で 50.0% と有意に増加した。反復流産への γ グロブリン投与により NK 細胞活性は有意に低下した。さらに本法を施行した 5 例での妊娠継続率は 80% であった。これらの方法は免疫異常による生殖ロスに対する治療法となり得ると思われた。

【独創点】

本研究は反復流産における末梢血 NK 細胞、子宮内膜 NK 細胞の構成比率や特異的な受容体発現の変化を検索し、これらの変異が妊娠成立に抑制的に作用していることを初めて明らかにした。特に、反復流産における免疫異常の病態を示した点、および免疫系の正常化により流産を治療できる可能性を示したことは、これらの疾患に対する免疫学的な治療法の開発につながるもので極めて独創的である。また NK 細胞に関する免疫異常は妊娠成立後も存在し、流産のみならず NK 細胞異常が PIH の発症にも関与することが明らかとなり、これらの疾患の早期診断法の開発や治療法の開発につながる可能性を示唆した。