

氏 名 北澤 純

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 博士甲第 887

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項

学位授与年月日 令和 3 年 3 月 9 日

学位論文題目 Alteration in endometrial helper T cell subgroups in chronic endometritis

(慢性子宮内膜炎における子宮内膜ヘルパーT 細胞亜群の変化の検討)

審査委員 主査 教授 伊藤 靖

副査 教授 西村 正樹

副査 教授 丸尾 良浩

論 文 内 容 要 旨

*整理番号	896	(ふりがな) 氏 名	きたざわ じゅん 北澤 純
学位論文題目	Alteration in endometrial helper T cell subgroups in chronic endometritis (慢性子宮内膜炎における子宮内膜ヘルパーT細胞亜群の変化の検討)		
<p>【目的】慢性子宮内膜炎(CE)は軽度の慢性炎症と考えられ、細菌感染や種々の要因が原因と考えられている。CEは軽度の不正出血や骨盤痛、性交痛、白色帯下などを認めることがあるが一般に臨床症状に乏しい。しかし、近年では我々や他の臨床研究より着床障害や流産の原因となることが示唆されている。組織学的には形質細胞の子宮内膜間質への浸潤を認めることから、免疫学的異常の関与が考えられているが、その詳細は明らかになっていない。</p> <p>子宮内膜には好中球やT細胞、B細胞、肥満細胞、マクロファージ、子宮ナチュラルキラー細胞などが免疫細胞として存在する。これらの細胞は月経周期に伴い変動が見られ、特に着床期には異物である胚を受容するために様々な子宮内膜免疫細胞が関与する。その中でヘルパーT(Th)細胞は少ないものの、着床や妊娠継続において重要な役割を果たしている。</p> <p>CEにおける子宮内膜免疫細胞の変化についての報告は少数で、中でもヘルパーT細胞亜群についての報告は現在まで認めていない。今回我々は、ヒトの着床期子宮内膜内のヘルパーT細胞亜群の分布とそのCEの病態への影響を検討した。</p> <p>【方法】対象は滋賀医科大学医学部附属病院で体外受精治療中の患者とした。経膈超音波検査での卵胞径の測定および排卵検査薬にて排卵日を特定し、着床期に子宮内膜を採取した。一部はパラフィン包埋標本を作製し、CD138免疫組織染色を施行して、形質細胞が1個/10HPF以上認めるものをCEと診断した。残りの検体は細切した後、コラゲナーゼおよび溶血処理した後、MACS SeparatorでCD45陽性細胞を分離した。分離したサンプルはTh1、Th2細胞解析用とTh17、制御性T(Treg)細胞解析用に分け、Th1、Th2細胞解析用はPMA、Ionomycin、Monensinを加えて37℃、5%CO₂下で4時間インキュベートし、Th17、Treg細胞解析用はPMA、Ionomycin、Brefeldin Aを加えて37℃、5%CO₂下で3時間インキュベートした。細胞表面抗原の染色後、固定・膜透過処理を行い、細胞内染色を行ったのち、Flow Cytometry (FACSCanto II)で解析した。また、Th細胞と形質細胞の関連を検討するため、CE患者の着床期子宮内膜パラフィン包埋標本に対してCD4およびCD138蛍光免疫染色を施行した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

【結果】CE 群 12 例、non-CE 群 7 例を対象とした。CE 群および non-CE 群の子宮内膜における Flow Cytometry での解析では、リンパ球あたりの CD4 陽性 T 細胞数には CE 群および non-CE 群で差は無かった。一方で、CE 群は non-CE 群に比べ Th1 細胞が有意に多く、Th2 細胞が少なかった。Th17 細胞、Treg 細胞について差は認めなかった。また、それぞれの細胞数の比を検討したところ、Th1/Th2 細胞比は CE 群で増加していたが、Th1/Treg 細胞比、Th17/Treg 細胞比に差は認めなかった。次に、Flow Cytometry での CD4 陽性細胞中の Th1・Th2 細胞の割合と CD138 免疫組織染色での形質細胞数の相関を検討すると、CE では CD138 陽性細胞が増えるほど Th1 細胞は増加し、Th2 細胞は減少した。子宮内膜における Th 細胞と形質細胞の分布について検討するため、7 例の CE 症例において子宮内膜の CD4 および CD138 蛍光免疫染色を施行したところ、CD4 陽性細胞は有意に CD138 陽性細胞周囲に集簇していることが明らかになった。

【考察】本研究により、CE 患者の着床期子宮内膜では Th1/Th2 細胞のバランスが Th1 細胞優位となることが明らかとなった。通常、着床期子宮内膜は Th2 細胞優位となることが知られているが、CE ではこの Th 細胞のバランスが変動していた。また、CE では子宮内膜の形質細胞数が増加するほど Th1 細胞優位となり、Th 細胞は形質細胞周囲に集簇していた。この要因として、以下の可能性が考えられる。

①CE の原因となる細菌やウイルスに対して、Th1 細胞と形質細胞が共に免疫応答している。これまで CE の原因は腸球菌や大腸菌、マイコプラズマやウレアプラズマなどの細菌感染が考えられていたが、細胞性免疫に関与する Th1 細胞が増加していることから、何らかのウイルス感染が関与している可能性も示唆された。

②Th 細胞や形質細胞が子宮局所で分化しており、その分化に相互が関与している。この場合、子宮内に形質細胞の分化の場である胚中心が形成されている可能性がある。今回の検討では、Treg 細胞や Th17 細胞には変動は認められなかった。一方で、CE 症例で Th1/Th2 細胞比は上昇していたが、Th1/Treg 細胞比には有意差が認められなかった。このことから、CE では Th1 細胞増加による炎症状態は増強している一方で、Treg 細胞による免疫寛容性は維持されている可能性が示唆された。

現在、CE の治療は主にドキシサイクリンやメトロニダゾール、シプロフロキサシンなどの抗菌薬が用いられている。抗菌薬治療で CE が陰性化すれば non-CE 症例と同等の妊娠率に改善するが、抗菌薬治療を数クール施行しても CE が陰性化しない症例も存在する。このような CE 持続症例に対して、Th1/Th2 細胞バランスの変動を改善するような免疫抑制剤が妊孕性の改善につながる可能性があると考えられた。

【結論】CE の子宮内膜 Th1/Th2 細胞バランスは Th1 細胞優位となり、また、形質細胞の増加と共に Th1 細胞の割合が増加すること、Th 細胞は形質細胞周囲に集簇していることから、CE は着床期子宮内膜内の Th 細胞バランスを修飾することを明らかとした。

別紙様式9 (課程博士・論文博士共用)

博士論文審査の結果の要旨

整理番号	896	氏名	北澤 純
論文審査委員			
<p>(博士論文審査の結果の要旨)</p> <p>本論文では、不妊症で来院した慢性子宮内膜炎患者12名と対照の患者7名の内膜組織のリンパ球のサブセットをフローサイトメーターを用い検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 慢性子宮内膜炎患者の内膜では、対照の内膜組織に比較し、TNF-α産生Th1細胞が有意に多く、IL-4産生Th2細胞が有意に少なかった。 2) 慢性子宮内膜炎の内膜では、Th1/Th2細胞比が増加していた。Th1/Treg比、Th17/Tregに差は見られなかった。 3) 慢性子宮内膜炎の内膜では、CD138陽性形質細胞の浸潤数にはTh1細胞の割合と正の相関が見られた。 4) 慢性子宮内膜炎の内膜では、CD138陽性形質細胞の浸潤数にはTh2細胞の割合と負の相関が見られた。 5) 慢性子宮内膜炎の内膜では、形質細胞周囲にCD4陽性T細胞の集簇が見られた。 <p>本論文は、慢性子宮内膜炎の内膜では、Th1細胞が優位となるバランスの変化が生じていることが判明し、慢性子宮内膜炎について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(令和3年1月25日)</p>			