

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20129

研究課題名(和文)子宮内膜症の病態における樹状細胞の関与の解明と治療戦略

研究課題名(英文)Dendritic cell involvement in endometriosis

研究代表者

泉 玄太郎 (IZUMI, Gentaro)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30714125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は腹腔内myeloid dendritic cell type I(MDC1)の表面抗原を解析した。CD206陽性MDC1が子宮内膜症患者で増加している以外は、他のType CレクチンであるCLEC1、CLEC2、Dectin-1、Dectin2の発現は有意差が見られなかった。次に、CD206の発現をD-mannanにてブロックしたところ、子宮内膜細胞の貪食能が低下した。そのため、樹状細胞表面のCD206は子宮内膜細胞の貪食を介して、子宮内膜症を増悪させている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We analyse Myeloid dendritic cell type I(MDC1) in the peritoneal cavity. In endometriosis patient, CD206 expression is significantly higher in endometriosis patients, though other type C lectin such as CLEC1, CLEC2, Dectin-1, Dectin-2 is not different. Next, we blocked the expression of CD206 by D-mannan on dendritic cell. Endometriotic cell phagocytosis by dendritic cell was suppressed by d-mannan. From our experiment, CD206 on dendritic cell in peritoneal cavity of endometriosis patients progress phagocytosis of endometriotic cells in retrograde menstruation, thus progress the endometriosis by secretion of inflammatory cytokines.

研究分野：生殖医療

キーワード：子宮内膜症 樹状細胞 子宮卵管造影 逆流説 腹腔

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、疼痛と不妊症を主症状とする原因不明の疾患で、女性の 5-10% が罹患している。治療法はホルモン療法に限られ、特に挙児を希望する患者の治療には苦慮することが多い。

本症の病態には、何らかの免疫学的異常の関与があることが知られている。これまでに国内外の研究者が本症における免疫学的異常（腹腔内のマクロファージ・NK 細胞の機能異常、病巣におけるケモカイン・サイトカインの異常発現など）について報告してきた。一方我々は、免疫応答から免疫寛容までを広く制御している樹状細胞に注目して、特に逆流月経血中の壊死子宮内膜細胞が腹腔内で樹状細胞に貪食除去される際に、樹状細胞が引き起こす免疫応答が、子宮内膜症の増悪に関与しているという仮説のもと研究を行ってきた。そして、これまでの研究で、子宮内膜症患者の腹腔内の樹状細胞は、マンノース受容体（MR）を高発現した貪食能の高いサブセットであること、子宮内膜死細胞を貪食した樹状細胞は IL6 などの炎症性サイトカインを分泌すること、を示した。樹状細胞は IL6 を分泌することで、強い炎症反応を引き起こす Th17 を誘導し、一方で免疫寛容を引き起こす制御性 T 細胞の分化を抑制することが知られている。また、我々が所属する研究室は Th17 が子宮内膜症の増悪に関与していることを明らかにしている。これらを合わせ、腹腔内の樹状細胞と逆流月経血の相互作用が、子宮内膜症を増悪させている可能性を示した。

一方、疫学的に子宮内膜症性不妊症の妊孕能を改善させることが知られている子宮卵

管造影の油性造影剤である脂肪酸エチルエステルに注目し、油性造影剤を用いた子宮卵管造影後の患者で、成熟樹状細胞と制御性 T 細胞が多くみられることを明らかにした。そして、その機序を明らかにするために、脂肪酸エチルエステルと樹状細胞の相互作用を解析し、脂肪酸エチルエステルを加えて培養した樹状細胞は、IL6 分泌能が低く、制御性 T 細胞の分化誘導能が高いことを示した。さらに子宮内膜症モデルマウスの腹腔内に脂肪酸エチルエステルを投与することで本症の発症が制御されることも明らかにした。これらの研究から、樹状細胞は、逆流月経血と相互作用を起こした時と、脂肪酸エチルエステルと相互作用を起こした時とで、全く逆の反応を起こし、前者は子宮内膜症の増悪に、後者はその抑制に働いている可能性があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究は、上記の結果を発展させ、子宮内膜症の発症・進展や子宮内膜症合併不妊症における樹状細胞の関与を解明し、さらに、樹状細胞の制御による治療戦略を開発することを目的としている。具体的には、以下のような点を明らかにしたい。

1. 子宮内膜症患者の腹腔内樹状細胞の、サイトカイン分泌能と表面抗原およびを解析、対照女性と比較し、どのような機能異常があるのかを明らかにする。

2. 樹状細胞が子宮内膜死細胞の貪食をする際に関与するマンノース受容体（MR）と協調して働くパターン認識受容体や細胞内シグナルを明らかにする。

3. 脂肪酸エチルエステルに暴露した樹状細胞は、どのような性質を持つか、そのサ

イトカイン分泌能や表面抗原を解析して明らかにする。

4. マンノース受容体 (MR) や、その他上記の知見から得られた新規因子をターゲットとして、樹状細胞を制御することにより、子宮内膜症の発症・進展を制御できるかどうかを、マウスモデルを用いて明らかにする。

3. 研究の方法

同意のもと、婦人科良性疾患に対して腹腔鏡下手術を行った患者から腹腔内貯留液を回収し、その中に含まれる樹状細胞の解析を行う。フローサイトメトリーにおいて、BDCA1 陽性 CD19 陰性の細胞は、ミエロイド樹状細胞 Type I (以下 MDC1) と呼ばれ、これまでの応募者らの検討から腹腔内の単核球中の 5-20%、腹腔内樹状細胞の 9 割以上を占めていることがわかっている。MDC1 は多様なサブセットに分かれているが、応募者の検討から MR 陽性の MDC1 が子宮内膜症患者の腹腔内に有意に多くみられることが示されている。本研究では、フローサイトメトリーで MDC1 の表面抗原の解析を進める。

さらに *in vitro* の共培養系実験を用いて、腹腔内へ逆流した子宮内膜を貪食した樹状細胞の性質の変化を、サイトカイン分泌能や表面抗原に着目して評価する。逆流子宮内膜を *in vitro* でミミックする手段として、応募者が既に確立している子宮内膜間質細胞に壊死を誘導する方法を適用する。すなわち、同意のもと、婦人科良性疾患に対して子宮摘出術を受けた患者から摘出子宮の内膜を得、間質細胞を単離培養したのち、凍結融解刺激により細胞壊死を誘導して共培

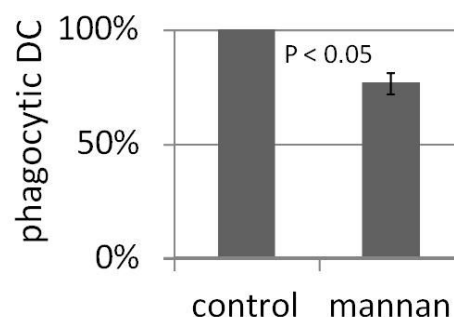
養に供与する。一方腹腔内樹状細胞をミミックする手段としては、Pickle らの方法 (1996, *J Immunol*, 3850-) を用いて末梢血単球を GM-CSF および IL-4 存在下で培養し、樹状細胞を誘導する方法を適用する。そしてこの樹状細胞を子宮内膜間質細胞と共培養し、樹状細胞の変化を観察する。

4. 研究成果

腹腔内貯留液を回収して、CD206 陽性細胞と陰性の樹状細胞のサブセットを、フローサイトメトリーにて解析した。CD206 と同じ Type C レクチンである、CLEC1、CLEC2、Dectin-1、Dectin-2 などの表面抗原の発現を比較した。CD206 陽性樹状細胞と CD206 陰性樹状細胞において、これらのレクチン型受容体の発現を比較したが、有意な差は見られなかった。

そこで、子宮内膜症において増加している樹状細胞は、CD206 に特化した機能が病因として存在している可能性が示唆された。

ヒト末梢血から、単球を単離して、G-CSF 存在下で Monocyte-derived dendritic cell (MoDC) を作成した。MoDC の細胞表面のマンノース受容体を、D-Mannan でブロックして子宮内膜細胞と共培養したところ、D-Mannan 投与群では、子宮内膜細胞の貪食能が有意に低下した。



このため、子宮内膜症患者においては、CD206を介した樹状細胞への貪食能の亢進が存在することが示唆された。

これらの知見から、腹腔内のCD206をターゲットにした治療が、子宮内膜症の治療に有効である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

著者名 : Izumi G., Koga K, Takamura M, Makabe T, Nagai M, Urata Y, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y.

雑誌表題 : Mannose receptor is highly expressed by peritoneal dendritic cells in endometriosis.

雑誌名 : Fertil Steril. 2017 Jan;107(1):167-173.

査読の有無 : 有

〔学会発表〕(計 1 件)

発表者 : 泉玄太郎

発表表題 : Mannose receptors are highly expressed by peritoneal dendritic cells in endometriosis

学会名 : 5th Asian conference on endometriosis

発表年月日 : 2016年9月22日

発表場所 : 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況(計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泉玄太郎 (IZUMI Gentaro)

東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科

研究者番号 : 30714125

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()