

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09451

研究課題名（和文）子宮内膜リンパ球は子宮体がんの形成に關与するか

研究課題名（英文）Intraepithelial lymphocytes associated with uterine cancer

研究代表者

城崎 幸介（Jozaki, Kosuke）

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80721323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：IEL（Intraepithelial Lymphocytes）は腸管や鼻腔などの粘膜組織上皮に常駐し、細菌などの異物から生体を防御しているリンパ球である。腸管に存在するIELは、感染防御ばかりでなく、がんの発生・形成や代謝にも關与する可能性があることが分かっている。今回は免疫組織化学染色法（DAB染色および蛍光色素染色）によってマウス子宮内膜に存在するIELを検出した。その結果、子宮内膜上皮近傍においてCD3、CD4免疫陽性反応を検出した。今後はこれらの細胞がIELマーカーであるCD103を発現しているのが検討する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦において子宮がんは、毎年約28,000人が新たに診断され、6,000人以上が死亡している。そのうち子宮体がん（子宮内膜がん）による死亡は40%近くに上り、対策が必要な疾患のひとつである。現在子宮体がんに対する免疫療法はT細胞の活性化を目的として、化学療法後に増悪した切除不能な進行・再発した患者さんへ抗PD-1抗体であるペムブロリズマブを投与することが承認を受けている。本研究の結果により、子宮内膜上皮に常在するCD3陽性細胞の知見が得られ、新たな免疫治療法の研究と開発に貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：IELs (Intraepithelial Lymphocytes) are lymphocytes that reside in the mucosal epithelium of the intestine and nasal cavity and protect the body from foreign substances such as bacteria. It is known that IELs present in the intestine may be involved not only in infection defense but also in the development and metabolism of cancer. In this study, we detected IELs present in mouse endometrium by immunohistochemistry (DAB and fluorescent staining). As a result, we detected CD3 and CD4 positive reactions near the endometrial epithelium. In the future, it will be necessary to examine whether these cells express CD103, an IEL marker.

研究分野：免疫学

キーワード：子宮体がん T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮がんは本邦では毎年約 25,000 人が新たに診断され、6,000 人以上が死亡している。そのうち子宮体がん(子宮内膜がん)による死亡は 40% 近くに上り、対策が必要な疾患のひとつである。子宮内膜には多様な免疫細胞が存在し、その役割は、月経により損傷した内膜の感染防御、同種異系である胎児に対する免疫寛容誘導のためと考えられているが詳細は不明な点も多い。IEL は、粘膜上皮細胞間に常在する T 細胞を中心としたリンパ球群である。インテグリン E (CD103) 7 を発現し、ターゲット組織の E カドヘリンと相互作用することで、ホーミングし、細菌叢から粘膜を防御する。

近年、腸管 IEL が細菌叢からの防御だけでなく、生理現象やがんの進行など幅広く関与していることが明らかになっている。子宮は腸管と同様に外界と接する臓器であり、子宮内膜上皮には IEL が常在することが推測され、それは子宮内の感染防御やがんの発生や形成に関与している可能性がある。実際に子宮体がん患者に対し抗 PD-L1 抗体投与する臨床試験も実施されている。これまでのところ、子宮内膜上皮細胞間に存在する CD3 陽性細胞についての研究はほとんどなく、そこで本研究では、子宮内膜上皮細胞間に CD3 陽性細胞が存在するのか検討した。

子宮内膜上皮細胞間に常駐するリンパ球の検出は、子宮がんの発生や進行について新たな知見が得られるのみでなく、既存の免疫療法にはない新規の治療のターゲットを見出すツールを提供できる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

腸管同様に外界に接する臓器である子宮の内膜上皮細胞間には、感染防御など子宮内の恒常性の維持に機能する T 細胞を中心としたリンパ球が存在すると推測され、T 細胞のマーカー分子である CD3 をターゲットにした免疫染色を実施し、子宮内膜上皮細胞間に T 細胞が存在するのか検討する。

3. 研究の方法

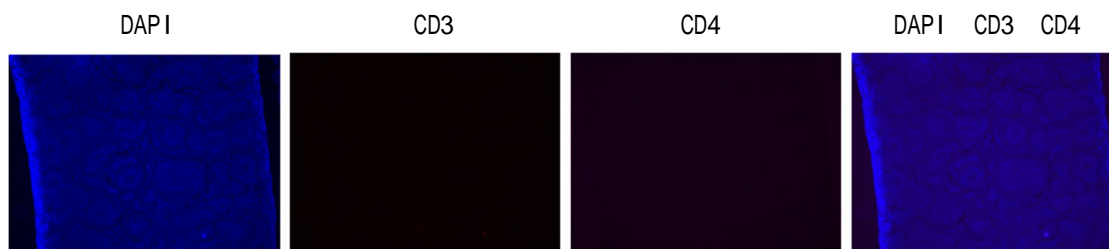
マウス子宮の免疫染色には、蛍光染色法を用いた。免疫染色には、Naïve DBA/2 マウスの雌の個体を用いた。頸椎脱臼を行い、脾臓と子宮を摘出し、10% 中和緩衝ホルマリンに 24 時間浸漬した。浸漬した組織をパラフィンにて包埋してクリオスタットにより 4 μm に薄切して切片を作製した。免疫染色全自動染色システムの VENTANA DISCOVERY ULTRA (Roche Diagnostics) で多重免疫蛍光染色を実施した。一次抗体には、T 細胞の検出のために Rabbit Anti-CD3 antibody (clone SP7; Abcam)、Rabbit Anti-CD4 antibody (clone EPR19514; Abcam)、また、子宮内膜上皮細胞を検出するために Rat Anti-EpCAM antibody (clone G8.8; BioLegend) を使用した。

4. 研究成果

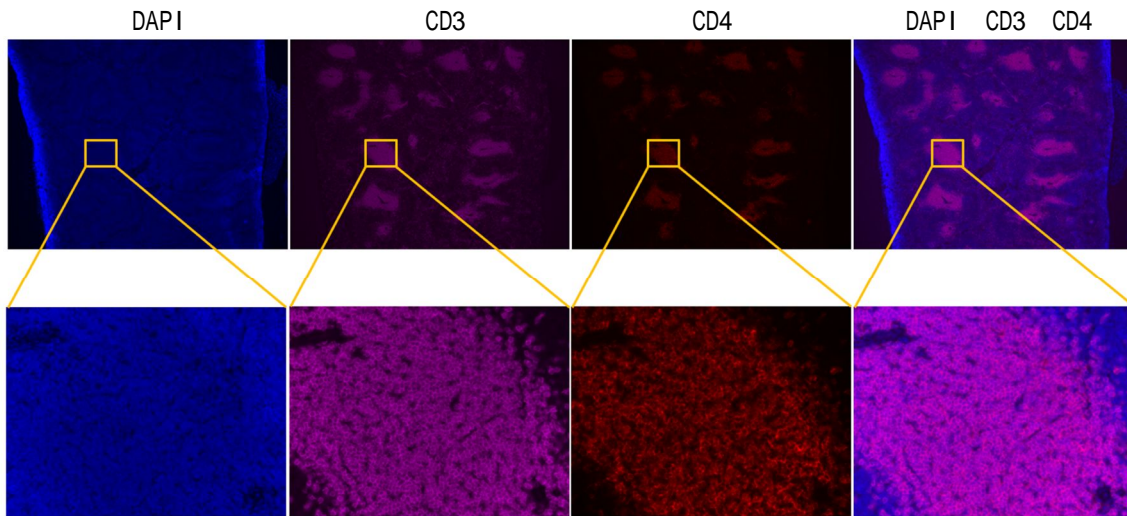
脾臓と子宮における CD3+細胞と CD3+CD4+細胞のシグナル検出および直径の検討

子宮内膜上皮細胞間に局在する T 細胞を検出するために、上皮細胞系マーカーである EpCAM の免疫蛍光染色を試みたが、多重染色すると検出できなかったために、CD3+細胞の局在は、DAPI により核染色を実施することで子宮内膜上皮細胞の領域を明確にすることで確認することにした。DAPI による染色も子宮内膜上皮細胞領域と内膜間質領域を明確に判別できる。

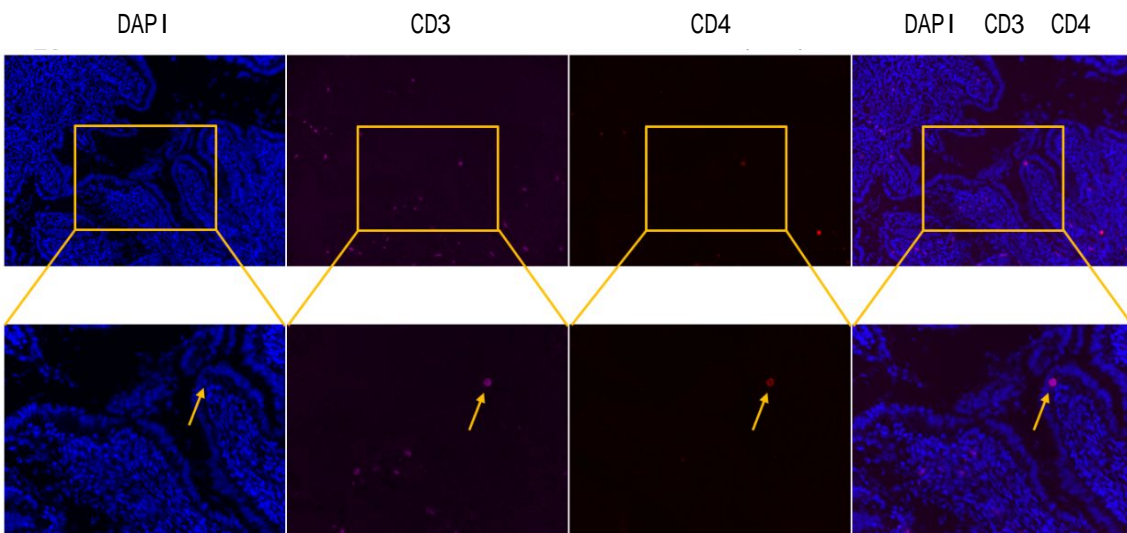
マウスの子宮内膜上皮近傍に CD3+CD4+細胞が存在するか検討するために、蛍光検出系の免疫組織化学染色を行った。ポジティブコントロールとして脾臓を用いた。その結果、脾臓において CD3+CD4+細胞を検出した。また、子宮内膜間質と子宮内膜上皮近傍においても CD3+CD4+細胞が検出された。



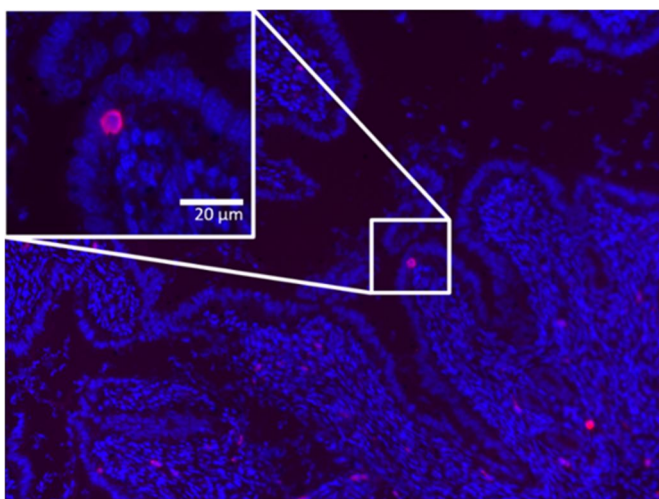
1 次抗体なし (脾臓)



脾臓における CD3+ CD4+細胞



子宮における CD3+ CD4+細胞



子宮における CD3+CD4+細胞 (拡大)

今回、子宮内膜上皮近傍で検出された CD3+細胞と CD3+CD4+細胞はそれぞれ 5 cells/cm と 0.7cells/cm であった。一方、腸管上皮に存在する CD3+細胞は 200~300 cells/cm であり、子宮内膜上皮近傍の CD3+細胞は腸管よりも大幅に細胞数が少なかった。健常人の子宮内に存在する細菌叢は *Lactobacillus* 属の細菌が大部分を占めており、腸管との CD3+細胞数の違いは防御対象である細菌の数や種類の違いによって生じている可能性が考えられた。本研究において、子

宮内膜上皮に存在する IEL は同じ粘膜組織を有する腸管と比較して細胞数が少ないことが推測されたが、その機能については未解明な点が多く、今後も研究を続けてゆく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------