

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：14202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640054

研究課題名(和文)サル内膜症モデルの免疫抑制細胞除去カラムによる治療研究

研究課題名(英文) Treatment by a column absorbing immunosuppressing cells in macaques with endometriosis

研究代表者

小笠原 一誠 (OGASAWARA, Kazumasa)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：20169163

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)：子宮内膜症のサルにおいてはNK細胞の活性低下が見られ、腹腔内に逆流した子宮内膜組織を排除できないと考えられた。病変部では、有意ではなかったがTregの増加傾向が見られた。病変部にはM2マクロファージの有意な増加も認められ。

2頭のカニクイザルで免疫抑制細胞除去カラムによる体外循環を行い、病変の明確な縮小が腹腔鏡で確認できた。免疫抑制細胞除去カラムにより抹消血ではLAP(latency associated protein)陽性の単球の明確な減少が見られた。以上の結果から、内膜症ではTreg、M2マクロファージに分化するLAP陽性単球の両者が重要な役割を果たすことが推測された。

研究成果の概要(英文)：Cynomolgus macaques with endometriosis decreased NK activity, suggesting that they would not have eradicated endometrial tissues spilled into the peritoneum. In the ectopic endometrial tissues, Treg increased and M2 macrophages significantly increased.

In two macaques, extracorporeal circulation with a column absorbing immunosuppressing cells could decrease lesion of ectopic endometrial tissues. After the treatment, analysis of peripheral blood showed decrease of latency associated protein (LAP)-positive monocytes. All together, it seemed that Treg and LAP positive monocytes with potential to M2 macrophages were critical for pathogenesis of endometriosis.

研究分野：実験病理学

キーワード：子宮内膜症 カニクイザル LAP陽性細胞 免疫抑制細胞除去カラム Treg

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は内分泌と免疫の両領域に跨る複雑な病態を示す難病である。性成熟期女性の 10~15%にみられ骨盤痛、月経痛、不妊などを伴う婦人科領域の難病であるが、1927年 Sampson によって報告されて以来、80年経過した今日に至るもその発症機序は未解明のままである。これまで主として病理的、内分泌的解析が試みられ、内分泌病態に基づいた対象療法に留まり原因療法は未開発である。本症はマウスなどには卵管の腹腔端開存がないため自然発症せず適切な実験モデルがなく、そのため治療法の開発の進展を阻んでいる。霊長類のみが卵管の腹腔端開存のため子宮内膜症を自然発症する。本学は 700 頭のカニクイザルを保有しており、我々も感染実験 (Itoh, Nature, 2009, Itoh, Vaccine, 2010, Arikata PLoS ONE, 2012, Pham PLoS ONE, 2013) などのサルを使用した研究の実績があり、すでに 4 頭の内膜症を自然発症したカニクイザルを有している。そこで、カニクイザルで自然発症した子宮内膜症を動物モデルとして、新規治療法の開発を目指すことにした。

2. 研究の目的

霊長類のみが卵管の腹腔端開存のため子宮内膜症を自然発症する。我々や他の研究者により内膜症患者や内膜症サルで Foxp3 陽性調節性 T 細胞 (Treg) が組織内に増加していることが判明している。また、我々はすでに 4 頭の内膜症を自然発症したカニクイザルを同定している。そこで、この免疫抑制性の Foxp3 陽性調節性 T 細胞 (Treg) を除去して、異所性内膜を免疫細胞により排除することを目的に、我々の作成した Treg 除去カラムによる体外循環を行い、

子宮内膜症の新規治療法の開発を目指すことにした。

3. 研究の方法

子宮内膜症と確認されたカニクイザルを使用して、病変部への Treg の浸潤、腹水中の免疫抑制性因子を確認する。その後、独自に開発した Treg 除去カラムで体外循環を行い、Treg の除去を試みる。指標としては、月経時に見られる症状の軽減と病変部への Treg 浸潤の減少とする。

4. 研究成果

子宮内膜症のサルにおいては、抹消血の NK 細胞は増加していたが、逆に活性は低下していた。NK 細胞の活性低下により腹腔内に逆流した子宮内膜組織を排除できないと考えられた。病変部では有意ではなかったが (Control vs Ectopic $p = 0.48$) (図 1)、Treg の増加傾向が見られた。また、病変部には M2 マクロファージの有意な増加 (Control vs Ectopic $p = 0.01$) が認められ (図 2) 異所性内膜組織の維持の一端を担っていると考えられた。以上のように、Treg や M2 マクロファージなどの免疫抑制性の細胞が異所性内膜組織に認められ、免疫細胞による内膜組織の排除を防いでいると考えられた。

図 1

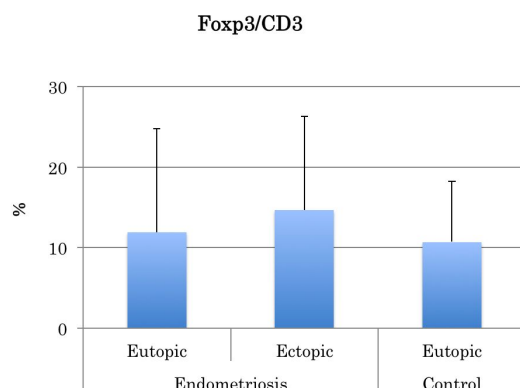
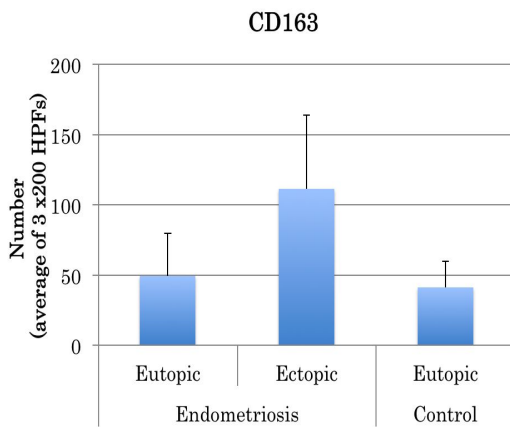
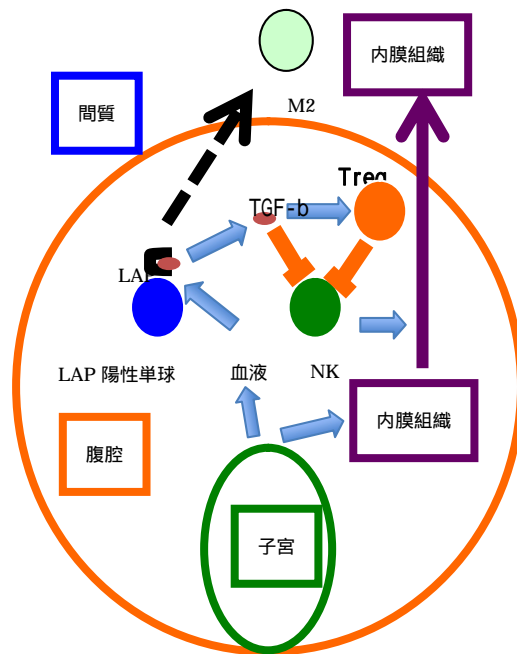


図 2



そこで2頭のカニクイザルで Treg 除去カラムによる体外循環を行った。この Treg 除去カラムは LAP(latency associated protein)に親和性があり、LAP を有する活性化 Treg 以外にも LAP 陽性単球を除去できることが判明しているため、免疫抑制細胞除去カラムであると考えられる。この免疫抑制細胞除去カラムを使用した体外循環により、内膜症サルの症状の改善は判定が困難であったが、いずれのサルにおいても病変の明確な縮小が腹腔鏡で確認できた。免疫抑制細胞除去カラムによる体外循環後の抹消血では Treg の有意な減少は見られなかったが、LAP 陽性の単球の明確な減少が見られた。以上の結果から、内膜症では Treg、M2 マクロファージに分化する LAP 陽性単球の両者が重要な役割を果たすことが推測された(図 3)。

図 3



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)

[学会発表](計 2件)

1) 中村紳一朗、仲山美沙子、塚本真由美、土屋英明、野々口耕介、小笠原一誠、森崇英；子宮内膜症カニクイザルの単球とNK細胞の挙動、第37回日本エンドメトリオーシス学会 2016年1月23日 熊本

2) 中村紳一朗、仲山美沙子、塚本真由美、土屋英明、野々口耕介、小笠原一誠、森崇英；子宮内膜症カニクイザル末梢血の単球およびNK細胞の動態解析、第36回日本エンドメトリオーシス学会 2015年1月25日 東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

小笠原 一誠 (OGASAWARA Kazumasa)
 滋賀医科大学・医学部・教授
 研究者番号：20169163

(2)研究分担者

中村 紳一郎 (NAKAMURA Shinichiro)
滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・准教授
研究者番号：50307980

伊藤 靖 (ITO Yasushi)
滋賀医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90324566