

氏 名 (本籍)	野 田 隆 弘
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 第 3 3 3 2 号
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	平 成 4 年 3 月 24 日 弘前大学医学部医学科卒業
学位論文題目	ヒト 60kDa 熱ショック蛋白の腹腔内単核球 (PFMC) 刺激作用と子宮内膜症の病態に関する研究

(主 査)

論文審査委員	教授 岡 村 州 博	教授 荒 井 陽 一
	教授 笹 野 公 伸	

# 論文内容要旨

## 目 的

卵管を通じた月経血の腹腔内への流入が腹腔局所の免疫担当細胞を刺激し、TNF- $\alpha$ などの液性因子を介して子宮内膜症の進行に関与していると考えられている。しかし、自己の月経血が腹腔内の局所免疫を刺激し、サイトカイン産生を誘導する機序は明らかでは無い。そこで我々は自己抗原としての60 kDa 熱ショック蛋白 (hsp 60) に注目した。Hsp 60 は生理的な状態で子宮内膜細胞に発現している分子シャペロンで、近年、CD 14 を介した単球/マクロファージ系の炎症性免疫反応誘導因子としての作用が注目されている。本研究においては、子宮内膜症におけるhsp 60-CD 14 系の腹腔内免疫環境における働きを明らかにする事を目的とした。

## 方 法

東北大医学部附属病院産婦人科で腹腔鏡を行い、腹水採取に関して informed consent を得た症例を対象とした。採取した腹水から Ficol 比重遠心法で腹水中単核細胞 (PFMC) を分離した。非子宮内膜症患者 4 名から採取した PFMC を用いて hsp 60 刺激による PFMC からの TNF- $\alpha$  産生の時間経過、濃度依存性、最小有効濃度を検討し、更に、この作用が抗 CD 14 抗体で抑制されることを確認した。次いで、腹腔鏡を行った 25 例を非子宮内膜症群、子宮内膜症 I, II 期を有する群、子宮内膜症 III, IV 期を有する群とに分類し PFMC の hsp 60 刺激による TNF- $\alpha$  産生能を比較した。

## 結 果

培養 PFMC への hsp 60 添加後 3 時間で培養上清に TNF $\alpha$  が検出され、6 時間後にピーク濃度を示した。PRMC は濃度 0-1000 ng/ml の hsp 60 刺激により濃度依存性に TNF $\alpha$  を産生した。10 ng/ml の hsp 60 添加は、非刺激群 ( $77 \pm 13$  pg/ml) と比較し TNF $\alpha$  の産生を誘導した ( $717 \pm 209$  pg/ml) ( $p=0.012$ )。Hsp 60 刺激による TNF- $\alpha$  産生は、抗 CD 14 抗体による前処理を受けなかった群 ( $710.7 \pm 238.9$  pg/ml) と比較し抗 CD 14 抗体処理群 ( $252.4 \pm 104.1$  pg/ml) で有意な抑制が認められた ( $p=0.018$ )。

Hsp 60 添加後の PFMC の TNF $\alpha$  産生能は I, II 期子宮内膜症患者は非子宮内膜症患者に比べ有意に高値を示した (非子宮内膜症  $n=8$ ;  $4511.8 \pm 7515.8$  pg/ml, 子宮内膜症 I, II 期  $n=8$ ;  $14067 \pm 4179.5$  pg/ml,  $p=0.031$ )。I, II 期子宮内膜症のグループと III, IV 期子宮内膜症のグループ、非内膜症患者群と III, IV 期子宮内膜症のグループ間に有意差は認めなかった。

## 結 論

本研究において我々は自己抗原としての 60 kDa 熱ショック蛋白が、マクロファージ表面レセプターである CD14 を介して腹腔内単核球からの TNF- $\alpha$  産生を強く誘導する事を確認するとともに、子宮内膜症初期病変を示す症例が高い反応を示すことを明らかにした。この結果は、自己の子宮内膜由来の熱ショック蛋白が腹腔内の局所免疫を刺激する自己抗原として、子宮内膜症の病態に関係している事を示すものである。

## 審査結果の要旨

子宮内膜症は異所性に発生した子宮内膜，あるいはその類似組織が異所性に発育，増殖，浸潤し，周囲組織と強固な癒着を形成する疾患である。難治性の月経痛，骨盤痛と不妊を引き起こし，女性のQOLを著しく損なうためその病態の解明が急務である。以前より卵管を通じた月経血の腹腔内への流入が腹腔局所免疫を刺激するといった現象が知られており，その結果活性化した局所免疫がTNF- $\alpha$ などの液性因子を介して子宮内膜症の進行に関与していると考えられている。

今回筆者は，局所免疫の活性化機構として自己抗原としての60 kDa熱ショック蛋白（hsp60）に注目した。Hsp60は生理的な状態で子宮内膜細胞，血液中に発現している蛋白で，近年，CD14を介した単球/マクロファージ系の免疫反応誘導因子としての作用が注目されている。本研究において，筆者はhsp60-CD14系が腹腔内免疫環境において機能していることを明らかにするとともに，子宮内膜症を有する女性の腹腔内局所免疫はhsp60刺激に対して異なる反応を示すという仮説を検証した。

筆者は，腹腔鏡施行時に採取した腹腔内単核細胞（PFMC）を用いて，hsp60刺激がPFMCからのTNF- $\alpha$ 産生を誘導することを示し，この作用が抗CD14抗体で抑制されることを確認した。次いで非子宮内膜症，子宮内膜症I，II期，子宮内膜症III，IV期の症例のPFMCのhsp60刺激によるTNF- $\alpha$ 産生能を比較，その結果，Hsp60添加後のPFMCのTNF $\alpha$ 産生能は，子宮内膜症I，II期病変を有する症例において高い反応性を示すことを見いだした。

筆者は，従来菌体成分であるリポポリサッカライドを認識するレセプターであるCD14が，hsp60という自己抗原に反応し生理的な状態での腹腔内局所免疫の活性化調節に働いているとの概念を初めて示すと共に，子宮内膜症初期病変に観察される局所免疫の活性化という現象をPFMCのhsp60に対する反応性の違いから考察した。hsp60の免疫刺激作用から子宮内膜症の病態を論じた報告は本研究以外に存在せず，医学博士に十分値する論文である。