

分担課題：正常妊娠と流産における Th17 細胞に関する検討

研究代表者 齋藤 滋 富山大学産科婦人科学教授
研究協力者 中島彰俊 富山大学産科婦人科学助教
島 友子 富山大学産科婦人科学助教
伊藤実香 富山大学産科婦人科学研究生

研究要旨

Th17 細胞は炎症を惹起し、拒絶反応にも関わる。Th17 細胞が妊娠中どのような変化をするかは明らかでない。そこで flow cytometry を用いて CD4⁺IL-17⁺細胞を Th17 細胞として同定し、免疫組織染色にて IL-17⁺細胞を同定した。正常妊娠では妊娠初期、中期、後期とも末梢血中の Th17 細胞は変動せず、流産例でも末梢血中の Th17 細胞は変化しなかった。Th17 細胞は正常妊娠において末梢血よりも脱落膜で増加していた。また流産例で進行流産となると脱落膜中の Th17 細胞は増加し、好中球数と Th17 細胞は正の相関を示した。なお稽留流産では Th17 細胞は増加せず Th17 細胞の増加は流産の原因ではなく結果と考えられた。

A. 研究目的

新たに同定された Th17 細胞は IL-17 を産生し炎症を引きおこし種々の病態を引き起こすことが判ってきている。妊娠時には全身ならびに子宮局所の免疫系は変化するが妊娠時に Th17 細胞がどのように変化し、流産の際に Th17 細胞が変化するか否かは明らかでない。そこで検討を行った。

B. 研究方法

本研究は富山大学倫理委員会の承認を得て行っている。患者の同意を得た上で、末梢血ならびに人工妊娠中絶時の子宮内膜の一部から単核球を分離し、PMA、イオノマイシンとブレフェルジン A を添加し 4 時間培養後、ホルムアルデヒド同定、細胞膜透過性バッファー処理後、細胞表面マーカー CD4、CD8、CD14、CD56、と細胞内サイトカイン IL-17 を染色し flow cytometer にて解析し CD4⁺IL-17⁺細胞を Th17 細胞とした。また免疫組織染色にて脱落膜中の IL-17 陽性細胞を同定した。

C. 研究結果

末梢血、脱落膜とも IL-17 陽性細胞の大部分は CD4⁺T 細胞でありごく少数の CD8⁺T 細胞にも IL-17 は認められたが、NK 細胞、単球成分には

IL-17 産生は認められなかった。妊娠初期、中期、後期とも末梢血の Th17 細胞は不変で非妊婦人と差を認めなかった。一方、脱落膜中の Th17/CD4⁺率は 3.2% (0.4-9.1%) と末梢血の値 1.1% (0.4-2.9%) に比し有意に低値であった。次に、IL-17 陽性細胞数について、正常妊娠群と流産群について免疫組織染色で検討したが、2 群間に有意な差を認めなかった。しかしながら、流産例を稽留流産群と進行流産群に分けて検討したところ、進行流産と正常妊娠群の間に有意差を認め (P<0.05)、それらの IL-17 陽性細胞は、脱落膜全体に分布しており、周囲の好中球浸潤細胞数と有意な正相関を示した (R=0.86)。

D. 考察

Th17 細胞は慢性関節リウマチなど、炎症を引き起こすことが知られている。一方、妊娠中は胎児への免疫寛容が誘導され、免疫抑制的状態にあることが知られており、Th17 細胞は減少するであろうとする予想されたが、実際には妊娠中の Th17 細胞は正常妊娠では変化しなかった。しかしながら、局所では Th17 と流産との強い相関を示唆する結果が得られた。出血等の臨床症状を伴わない稽留流産（比較的初期段階の流産）では Th17 細胞の増加は認めず、進行流産で Th17 細胞が増加すること、さらに、Th17 細胞の周囲

に好中球浸潤を伴うことは、胎児拒絶の実行段階にTh17細胞が関与していることを示す結果であった。

E. 結論

Th17細胞は流産進行に伴う炎症誘導に関わり、炎症の増強を促すことで流産を引き起こしていることが分かった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S. Circulating and decidual Th17 cell level in healthy pregnancy. *Am. J Reprod. Immunol* 63:104-109, 2010.
- 2) Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac ND, Hidaka T, Saito S. Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases. *Am. J Reprod. Immunol.* 64:4-11, 2010.

2. 学会発表

- 1) 中島彰俊, 伊藤実香, 米田哲, 塩崎有宏, 齋藤滋:「T細胞・NK細胞と妊娠維持」シンポジウム. Trophoblastに関わる免疫と臨床病態. 第17回日本胎盤学会学術集会, 2009, 10, 16-17, 東京.
- 2) Akitoshi Nakashima, Mika Ito, Tomoko Shima, Satoshi Yoneda, Shigeru Saito:「The role of IL-17 in the pathogenesis of preterm labor」International symposium for immunology of reproduction, symposium “Infectious immunity“ Osaka Aug 28th-29th 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S.	Circulating and decidual Th17 cell level in healthy pregnancy.	Am. J Reprod . Immunol	63	104-109	2010
Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac ND, Hidaka T, Saito S.	Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases.	Am. J Reprod . Immunol	64	4-11	2010