

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Inflammation related to high-mobility group box-1 in endometrial ovarian cyst

卵巣内膜症性嚢胞の炎症における high-mobility group box-1 および免疫細胞の動態

日本医科大学大学院医学研究科 女性生殖発達病態学分野
研究生 稲津（池田） 真利子

Journal of Reproductive Immunology 第 145 卷（2021 年）掲載
DOI: 10.1016/j.jri.2021.103292.

目的：子宮内膜症は、卵巣内膜症性嚢胞、月経困難症、不妊症、慢性骨盤痛などを引き起こし、女性の Quality of Life を著しく低下させる疾患である。さらに卵巣内膜症性嚢胞の一部は悪性転化することも知られている。子宮内膜症の病態は骨盤内炎症に起因するとされているが、その発症や増悪メカニズムは不明な点が多い。近年、アラームの一つとして注目されている high-mobility group box 1 (HMGB1) は、通常核内に存在しクロマチンの構造維持に関与しているが、細胞障害により細胞質内、細胞外に放出され、生体に無菌性炎症を惹起する蛋白である。HMGB1 は外傷や血栓症、自己免疫性疾患の分野で注目されており、さらに早産や妊娠高血圧症候群など産婦人科領域でもその関与が指摘されている。そこで本研究では HMGB1 に着目し、卵巣内膜症性嚢胞の病態を免疫学的見地より考察した。

方法：当院で手術を施行した卵巣内膜症性嚢胞 14 例と非内膜症性嚢胞 8 例（成熟嚢胞性奇形腫 6 例、漿液性腺腫 2 例）を対象とした。摘出卵巣嚢腫の一部（約 10 x 10 mm）を細断後、細胞を分離しフローサイトメーターを用いて樹状細胞、マクロファージ、CD8 陽性 T 細胞、CD4 陽性 T 細胞、NK 細胞などの細胞数および表面マーカーを測定した。また細胞内染色により細胞質中に放出された HMGB1 レベルを測定、さらに免疫組織染色を行いその放出を可視化した。また共培養実験として、成熟嚢胞性奇形腫 4 例を用い、リコンビナント HMGB1 存在下での CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞での CD69 および CD107a の発現を検出した。

結果：年齢、妊娠歴、腫瘍径などの患者背景において、両群間に有意差は認めなかった。非内膜症性嚢胞に比較して卵巣内膜症性嚢胞では樹状細胞、マクロファージおよび CD45 陰性細胞（非免疫細胞）中の HMGB1 レベルは有意に高値であった。免疫組織染色でも非内膜症性嚢胞では核内に一致して HMGB1 の染色を認めたが、卵巣内膜症性嚢胞では核から細胞質内への放出が確認された。また各免疫細胞数の割合に有意差を認めなかったものの、CD8

および CD4 陽性 T 細胞上の活性化マーカーである CD69、脱顆粒マーカーである CD107a は卵巣内膜症性嚢胞で有意に高発現していた。HMGB1 との共培養実験では、CD8 および CD4 陽性 T 細胞上の CD69 発現に統計学的有意差を認めなかったが、CD107a 発現は有意に亢進した。さらに、卵巣内膜症性嚢胞では M2 マクロファージや制御性 T 細胞といった免疫抑制系の細胞が有意に集積していた。

考察：本研究では CD8 および CD4 陽性 T 細胞といった獲得免疫系の亢進が、卵巣内膜症性嚢胞での炎症に関与している可能性が示唆された。興味深いことに、免疫抑制系である制御性 T 細胞と M2 マクロファージの集積も卵巣内膜症性嚢胞で認められた。これら免疫抑制系の細胞は IL-10 や TGF- β などのサイトカインを分泌し、血管新生や腫瘍の進行を促進すると言われている。すなわち卵巣内膜症性嚢胞では、T 細胞主体の炎症亢進と制御性 T 細胞、M2 マクロファージを主体とした免疫抑制が同時に生じているという一見矛盾した状態が認められた。近年、HMGB1 には炎症亢進作用を有する DAMPs (Damage associated molecular patterns) として働く還元型、逆に抑制作用を有する RAMPs (Resolution associated molecular patterns) として働く酸化型の存在が報告されている。本研究では、それぞれのタイプを区別できなかったが、これら HMGB1 のサブタイプが、T 細胞の活性化および制御性 T 細胞、M2 マクロファージの誘導に寄与している可能性が考えられる。したがって、HMGB1 の働きを阻害することが子宮内膜症の発症、増悪を防ぐ可能性があり、新たな治療法の探索へ繋がっていくとも考えている。また、HMGB1 は組織、細胞障害時に放出され炎症を惹起するが、近年発癌との関係も指摘されており、本研究の結果は卵巣内膜症性嚢胞の発症、増悪および癌化のメカニズム解明の糸口になるかもしれない。

結語：本研究は卵巣内膜症性嚢胞を、HMGB1 に起因する無菌性炎症といった観点から考察した最初の報告である。卵巣内膜症性嚢胞では免疫細胞、非免疫細胞中の HMGB1 レベルの増加とともに、獲得免疫系の活性化が炎症の主体である可能性が示唆され、さらに M2 マクロファージや制御性 T 細胞など免疫抑制作用を有する細胞群も誘導することが示された。

論文の二次審査では HMGB1 に着目した理由とその組織学的分布、発がんとの関連性、T 細胞活性化の意義、黄体ホルモン投与の影響、抗 HMGB1 療法の可能性など多岐にわたる質問がなされたが、的確な解答が得られ、申請者が本研究に関連する科学的知識を十分に有していることが示された。以上のことから本論文は学位論文として価値あるものと認定した。