

審査の結果の要旨

氏名 中澤（鳥光）明里

本研究は、初代分離培養された報告のない子宮内膜症上皮細胞の分離培養に取り組み、子宮内膜症上皮細胞の網羅的遺伝子解析を行うこと、また子宮内膜症上皮細胞の不死化細胞を樹立し、上皮細胞にフォーカスした子宮内膜症研究の基盤を構築することを試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 東京大学医学部附属病院婦人科において、腹腔鏡下卵巣嚢胞摘出術または腹腔鏡下付属器切除術を施行した患者の卵巣検体を用いて、子宮内膜症上皮細胞の分離培養を独自の方法で行い、子宮内膜症上皮細胞の分離培養に成功した。初代培養子宮内膜症上皮細胞は上皮マーカーである Cytokeratin、PAX8 が陽性であるなど上皮様の形態を維持していることを示した。
2. RNA シークエンスを用いて、得られた初代培養子宮内膜症上皮細胞の網羅的遺伝子解析を行った。PCA 解析では、子宮内膜症上皮細胞、子宮内膜間質細胞及び子宮内膜上皮細胞は其々がクラスターを形成し、これらの細胞が異なる遺伝子プロファイルを持つことが示された。
3. 網羅的遺伝子解析では、子宮内膜症上皮細胞は子宮内膜症間質細胞に比較し、42 遺伝子が有意に高発現であり、30 遺伝子が有意に低発現であった。Ontology 解析によると、basement membrane 等の遺伝子群が高発現で、actin cytoskeleton などの遺伝子群が低発現であった。本研究で分離培養した子宮内膜症上皮細胞は、子宮内膜間質細胞とは異なることが示された。
4. 子宮内膜症上皮細胞は、正所性子宮内膜上皮細胞に比較し、100 遺伝子が高発現であり、48 遺伝子が低発現であった。差のある遺伝子群としては、FN1 等の EMT 関連遺伝子の高発現がみられた。これは、子宮内膜症上皮に EMT 関連分子の発現が高いという報告と整合性があり、子宮内膜症に EMT が関与する可能性を示した。
5. 初代培養子宮内膜症上皮培養は寿命が短く、in vitro 研究に耐えられないため、CDK4R24C、CyclinD1、hTERT の 3 遺伝子を初代培養子宮内膜症上皮細胞に遺伝子導入することで、不死化子宮内膜症上皮細胞を 4 株樹立した。4 株の細胞は 30 経代を越えて長期培養をした後も PAX8 を発現するなど、上皮細胞の性質を保つことが示された。

6. 不死化子宮内膜症上皮細胞 4 ラインの網羅的遺伝子解析を行い、初代子宮内膜症上皮細胞と比較すると優位に高発現であった遺伝子は 18 遺伝子、低発現であったのは 32 遺伝子あった。高発現であった遺伝子群は ontology 解析、KEGG pathway 解析により CDK4、CyclinD1(CCND1)などの導入不死化遺伝子とそれに関連する CDKN1A などの cell cycle 関連の遺伝子であり、導入遺伝子による影響と考えられた。違いのある遺伝子群が少ないことから、これらの不死化子宮内膜症上皮細胞が子宮内膜症上皮細胞の研究として十分用いることができることが示された。

以上、本論文はこれまで報告のない初代子宮内膜症上皮細胞の分離培養方法を樹立し、これらの初代培養細胞より、子宮内膜症上皮細胞の網羅的遺伝子解析を行い、そのデータセットを作成した。またこれらの初代分離培養子宮内膜症上皮細胞を用いて不死化子宮内膜症上皮細胞株を4株樹立することで、上皮細胞にフォーカスした子宮内膜症研究の基盤を構築した。これは今後の子宮内膜症の病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。