［課程－２］

審査の結果の要旨

氏名　福田晋也

本研究は、子宮内膜症の進展に関与すると言われる上皮間葉転換の役割を明らかにするために、子宮内膜症上皮細胞と子宮内膜上皮細胞の RNA sequence 結果の IPA 解析、子宮内膜症上皮細胞における TGFβの機能解析、子宮内膜症上皮細胞における上皮間葉転換関連因子の発現及び機能解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

１．　初代子宮内膜症上皮細胞と初代子宮内膜上皮細胞の RNA シークエンスから得られる遺伝子発現の差異に対して、IPA 解析による上流解析を行ったところ、上位 5 分子として、TNFα、 TGFβ1、エストラジオール、PDGFB、Versican が抽出された。これらの分子が、子宮内膜症の病態制御に関わる因子であることが示唆された。IPA 解析による下流解析では「腫瘍細胞の細胞浸潤、内皮細胞の細胞運動、細胞接着」などの現象が子宮内膜症上皮細胞において亢進しており、NRP2、BDNF、CDH11、FN1 などの分子の関連が関与していると推察された。

２．　不死化子宮内膜症上皮細胞を TGFβ1 にて刺激した所、細胞浸潤能が亢進するとともに、E cadherin の発現減少、N cadherin, Vimentin などの間葉系マーカー、αSMA, fibronectin 1, CTGF などの線維化マーカー、MMPs の上昇を認め、上皮間葉転換が誘導された。また、Snail と ZEB1 といった上皮間葉転換関連の転写因子の発現上昇を確認した所、Snail の TGFβ1 による発現誘導が最も顕著であり、Snail が強く関わっている可能性が示唆された。

３．　免疫組織学的染色の結果、Snail は子宮内膜上皮組織に比して子宮内膜症上皮組織において強く発現していた。不死化子宮内膜上皮細胞において Snail の発現調節を行い、細胞浸潤能の変化、上皮間葉転換関連因子や炎症マーカーの発現変化を調べた。Si-RNA により Snail の発現を低下させた所、TGFβ1 による亢進した浸潤能が減弱した。これは、TGFβ1 による浸潤能亢進は Snail の活性化を介すると推察された。また、ドキシサイクリン誘導性 Snail 強制発現システムを不死化細胞に導入し、Snail を強制発現した所、MMPs の発現亢進と共に細胞浸潤能が上昇した。さらに Snail の強制発現は CCL5, IL8, COX2 などの炎症性サイトカインの分泌を亢進させ、TNFαの存在下にさらに炎症状態を亢進させることが分かった。Snail

が子宮内膜症に特徴的な上皮間葉転換と慢性炎症、両方に関わる因子であると考えられた。

４．　免疫組織学的染色の結果、NRP2 は子宮内膜上皮組織に比して子宮内膜症上皮組織において強く発現していた。不死化子宮内膜症細胞において、TGF β 1 刺激により NRP2 は発現増強し、TGF β 1 により亢進した細胞遊走能は NRP2 の発現低下と共に減弱した。さらに NRP2 単独でも細胞遊走能を亢進させた。NRP2 が上皮間葉転換を介して子宮内膜症の進展に関係することが示唆された。

以上、本論文は子宮内膜症上皮細胞において、SnailやNRP2といった上皮間葉転換関連分子が高発現であることを示すと共に、それらの機能解析を行った。機能解析に関してはこれまでに報告がなく、子宮内膜症の進展にsnailやNRP2が重要な役割を果たしていると推察された。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。