

〈7〉子宮内膜症上皮細胞を用いた子宮内膜症発生、慢性炎症、癌化に関するジェネティック、エピジェネティックな遺伝子発現動態の網羅的解析

The establishment of platform for genetic and epigenetic studies on endometriosis

東京大学医学部附属病院女性外科 平田 哲也

子宮内膜症は子宮内膜に類似した組織が子宮以外の部位に発生する疾患である。組織学的には子宮内膜様上皮、間質、それを取り巻く線維化組織からなる。内膜症組織は増殖、浸潤し、周囲臓器と癒着を形成し、月経困難症、不妊症の原因となる。生殖年齢層の 10%、不妊症患者の 50%と罹患率の高い疾患にも関わらず、子宮内膜症の発生についてはこれまで子宮内膜移植説、体腔上皮化生説などの仮説が提唱されるも、その発生については解明されていない。また、子宮内膜症間質細胞を用いた検討は多数報告されているが、子宮内膜症上皮細胞の分離培養は非常に困難であり、その報告はない。

そこで、子宮内膜症上皮細胞由来の初代培養を試みた。子宮内膜症性卵巣嚢胞より内腔を scrape し、子宮内膜症上皮細胞の分離を行った。我々の方法によると、子宮内膜症上皮細胞は非常に purity が高く、cytokeratin 陽性、PAX8 陽性、ARID1A 陽性、CD10 陰性であった。しかしながら、これらの細胞は、2 継代までしか生存できず、様々な基礎研究に用いるためには不死化遺伝子の誘導が必要であると考えた。そこで、CDK4, CyclinD1, hTERT の各遺伝子をレンチウイルスで導入した。これらの不死化細胞はいずれも CDK4, CyclinD1, hTERT を mRNA、タンパクレベルで強発現していることを確認した。これらの不死化細胞を 6 ライン樹立し、いずれも 100 日以上継代培養が可能であった。また、これらの不死化細胞は全例 cytokeratin 陽性、CD10 陰性、6 ライン中 4 ラインで PAX8 陽性であった。

そこで、子宮内膜症上皮細胞 7 検体、子宮内膜症間質細胞 5 検体、子宮内膜上皮細胞 4 検体、卵巣表層上皮細胞 1 検体、不死化した子宮内膜症上皮細胞 6 ラインより、totalRNA を回収し、RNA シーケンスに供した。子宮内膜症と子宮内膜の間質細胞で transcriptome では、クラスター解析にて明らかな差は見られないが、DNA メチレーション解析にて明らかに異なるクラスターに属するとの報告もあり、これらの細胞より DNA も抽出し、DNA メチレーション解析を行っている。

さらなる検討により、子宮内膜症上皮細胞の性質を明らかにし、ジェネティック、エピジェネティックな子宮内膜症研究の基盤の構築を目指している。