




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ① 課 ・ 論	第 号	氏 名	津野 晃寿
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	馬山正胤 
		副査氏名	吉松博信 
		副査氏名	三股浩光 
論文題目 : Decidualization attenuates the contractility of eutopic and ectopic endometrial stromal cells : implications for hormone therapy of endometriosis			
論文掲載誌名 : J Clin Endocrinol Metab 2009; 94 (7) : 2516-2523			
<p>論文要旨</p> <p>本研究では、collagen gel を用いた 3 次元培養系によって、子宮内膜間質細胞の機能を特に間質細胞の contractility の観点から検討した。手術時に採取し、分離培養した正常子宮内膜間質細胞・卵巣子宮内膜症性間質細胞およびその正所性子宮内膜間質細胞に対して、dibutyl-3-(3',5'-diisobutyl-1-methylxanthine) adenosine monophosphate (db-cAMP) + medroxyprogesterone acetate (MPA) もしくは dinogest を用いて刺激し、脱落膜化させ、10%血清存在下で 3 次元培養を行った。脱落膜化させた群では、collagen gel の収縮抑制が認められた。また、脱落膜化により myofibroblast への分化に関与する <math>\alpha</math>-SMA、細胞運動、接着に関与する collagen I receptors (integrin <math>\alpha 1 \beta 1</math> および <math>\alpha 2 \beta 1</math>)、Ras-homology A、Rho-associated coiled-coil-forming kinase (ROCK) I、ROCK II の蛋白質発現が抑制された。collagen gel 内の細胞形態の観察により、脱落膜化させた群では細胞濃度の低下が認められ、collagen 線維への接着と収縮の減弱が示唆された。卵巣ステロイドホルモンは子宮内膜間質細胞の脱落膜化を誘導することにより contractility を抑制し、子宮内膜の tissue remodeling を誘導していると考えられた。また、progestin や経口避妊薬は子宮内膜症細胞においても脱落膜化を誘導し、contractility を抑制することにより、子宮内膜症による癒着や瘢痕形成を軽減することが示唆された。</p> <p>本研究は、子宮内膜間質細胞の収縮機能とそのメカニズムを collagen gel を用いた 3 次元培養系によって初めて明らかにした意義ある研究であり、審査委員の合議により本論分は学位論文に値するものと判定した。</p>			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 津野 晃寿

## 論 文 題 目

Decidualization attenuates the contractility of eutopic and ectopic endometrial stromal cells : implications for hormone therapy of endometriosis

(脱落膜化は正所性および異所性子宮内膜間質細胞の contractility を軽減する:子宮内膜症に対するホルモン治療にも関連して)

## 要 旨

【緒言】子宮内膜は月経周期に伴い周期的に tissue remodeling を繰り返している。子宮内膜の脱落膜化は分泌期中期以降に子宮内膜機能層で開始し、妊娠が成立した場合には分娩まで持続する。一方、妊娠が成立しなかった場合には、子宮内膜機能層は剥離して月経が開始する。炎症細胞の浸潤や間質の増殖、浮腫が脱落膜化の際に認められ、卵巣ステロイドホルモンによって調節されていると考えられているが、そのメカニズムの詳細は未だ解明されていない。また、腹腔内での癒痕化を特徴とする子宮内膜症は、正所性子宮内膜と同様に月経周期に伴い、組織学的構造および機能も周期的変化が認められ、出血、凝血、吸収を繰り返して癒痕化し、増悪する。その結果、病状は進行し、不妊症や慢性骨盤痛等の特徴的な症状が出現する。今回、正常子宮内膜間質細胞について tissue remodeling の観点から脱落膜化のメカニズムについて検討するとともに、子宮内膜症の治療薬である progestin や OC による卵巣子宮内膜症間質細胞に対する作用についても、3次元培養系を用いて contractility の観点から検討した。

【研究対象および方法】子宮筋腫・子宮腺筋症および卵巣子宮内膜症性嚢胞の手術時に、患者の同意を

得て採取した正所性子宮内膜および嚢胞壁から正常子宮内膜間質細胞・卵巣子宮内膜症間質細胞および内膜症合併正所性子宮内膜間質細胞を分離・培養し、dibutyl-cyclic adenosine monophosphate ( $5.0 \times 10^{-4}$  M)+medroxyprogesterone acetate (MPA)( $1.0 \times 10^{-7}$  M) および dienogest ( $1.0 \times 10^{-7}$  M)で10日間刺激し、脱落膜化させた。Type I collagen 溶液 (Cellmatrix type I-A; Nitta gelatin 社) 内に  $6 \times 10^5$  cells/ml の細胞濃度になるように細胞を懸濁した。次に 35 mm dish に 2 ml ずつ分注し、37°C で 2 時間培養して gel 化させた。Tapping して collagen gel を dish から浮遊させ、10%血清存在下で 48 時間、collagen gel contraction assay を行った。48 時間後に gel の表面積を測定した。さらに collagen gel の収縮メカニズムについて解明するため、癒痕形成の際の myofibroblast への分化に関与する  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)、細胞運動、接着に関与する collagen I receptors (integrin  $\alpha 1 \beta 1$  および  $\alpha 2 \beta 1$ )、Ras-homology (Rho) A、Rho-associated coiled-coil-forming kinase (ROCK) 1、ROCK 2 の発現について、Western blot 法を用いて検討した。また、共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡 (Carl Zeiss PASCAL) により collagen gel 内の細胞形態を解析した。

【結果】それぞれの細胞の collagen gel はともに、MPA もしくは dienogest を用いて脱落膜化させた群では、非脱落膜化群と比較して収縮抑制が認められた。Western blotting 法では、脱落膜化により  $\alpha$ -SMA の発現が抑制されていた。同様に細胞運動、接着に関与する collagen I receptors (integrin  $\alpha 1 \beta 1$  および  $\alpha 2 \beta 1$ )、Rho A、ROCK 1、ROCK 2 の発現も抑制された。共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡では、非脱落膜化群と比較して、脱落膜化させた群では細胞濃度の低下が認められ、collagen 線維への接着と収縮の減弱が示唆された。

【結語】妊娠の成立(着床)・維持にとってきわめて重要な子宮内膜間質細胞の脱落膜化には、contractility の減少が関与していることがわかった。卵巣ステロイドホルモンは子宮内膜間質細胞の脱落膜化を誘導することにより contractility を抑制し、脱落膜化の際にみられる子宮内膜の tissue remodeling を誘導していると考えられた。また、progestin や OC は卵巣子宮内膜症間質細胞においても脱落膜化を誘導し、contractility を抑制することにより、子宮内膜症による癒痕化を軽減することが示唆された。