

P1-5-10 カニクイザルにおける子宮内膜症外科的誘因モデル作成手法の確立

自治医大さいたま医療センター¹, 医薬基盤研究所霊長類医学研究センター², 中外製薬株式会社研究本部³
根津幸穂¹, 西本綾子³, 満下淳地¹, 山海 直², 今野 良¹

【目的】マウス・ラットなどの小動物の月経周期はヒトと異なり、子宮内膜症の実験動物モデルとしては限界がある。ヒトと同様の月経周期を有する霊長類では、これまでにヒヒを用いた子宮内膜症誘因モデルが報告されている。我々は全ゲノム解析がなされているカニクイザルを実験対象として子宮内膜症誘因モデルの作成を試みた。【方法】本研究は動物実験委員会の承認を得て実施した。対象はカニクイザル 16 頭 (平均 11.0, 6-18 歳) を用いた。下腹部正中切開で開腹を行い、内膜を部分切除して子宮筋層とともに子宮内膜を採取し腹壁に縫合し、さらに子宮内膜を細切し腹腔内に散布した。閉腹前に HGF2ng/ml を腹腔内に散布した。これらの処置は黄体期に実施した。術後、疼痛緩和としてブプレルノフィン 0.025mg/ml ごとに 4 回投与した。術後は定期的に全身状態の評価、血液検査、MRI および腹腔鏡下の観察を行い病態を評価した。最終的には安楽殺後、病理学的評価を行った。【成績】誘因処置後、食餌の摂取量および体重減少は認めなかった。内膜を縫合した部位の 1 か月後の病変存在は 100% (15/16)、細切した子宮内膜を散布したことによる病変存在は 69% (11/16) であった。移植片の生着のみならず、嚢胞形成を認めた。1 か月目の病理組織所見では CD10 陽性の内膜間質を伴う腺構造とその周囲の線維化、血管新生を認めた。【結論】本研究によりカニクイザルにおいて子宮内膜症の誘因に成功した。カニクイザルには自然発症の子宮内膜症が存在し、その解析も進められており、誘因作成子宮内膜症は疾患モデルとして有用であると考えられた。

P1-6-1 子宮内膜症におけるエピジェネティック機構の検討

千葉大
柿沼敏行, 生水真紀夫

【目的】エストロゲンのプライミング後のプロゲステロンの作用により引き起こされる子宮内膜間質細胞 (HESC) の脱落膜化現象は、妊娠の成立、維持にとって極めて重要であり、この子宮内膜の卵巣ステロイド依存的な増殖・分化には多くの遺伝子が関与し、この遺伝子発現がエピジェネティックなメカニズムの関与が示唆されている。DNA メチル化は遺伝情報の発現を抑制しており、DNA methyltransferase (DNMTs) により修飾および維持され、遺伝子発現の制御機構の一つとして重要な役割を果たすことが知られている。一方、DNA 脱メチル化機構の一つとして機能する Ten-Eleven-Translocation (TET) 蛋白質ファミリーが同定され、これによる遺伝子発現の制御の関与も示唆されている。本研究では、HESC の脱落膜化における DNMTs, TETs 発現の変化を比較検討した。【方法】本研究は IRB の承認のもと、患者の同意を得て行われた。正常月経周期を有する患者より採取された子宮内膜から HESC を分離し、medroxyprogesterone acetate, estradiol, 8-Br-cAMP を添加して 14 日間培養して脱落膜化を誘導した。DNMTs (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), TETs (TET1, TET2, TET3) の発現を RT-PCR, Western blotting 法により評価した。【成績】RT-PCR 解析では、HESC において DNMT1, DNMT3A の mRNA の発現量に変化はなかったが、DNMT3B の mRNA 発現は脱落膜化により、著明に減少した。一方、TET1, TET3 の mRNA 発現は脱落膜化により減少したが、TET2 の発現の変化は認められなかった。Western blotting による解析も同様の結果であった。【結論】二重のエピジェネティック修飾を行うことで、HESC の脱落膜化における遺伝子発現を調節している可能性が示唆された。

P1-6-2 子宮内膜症病巣におけるヒト内在性レトロウイルス (HERVs) mRNA の発現について

日本大
林 忠佑, 千島史尚, 仲尾岳大, 市川 剛, 相田賢司, 山本樹生

【目的】子宮内膜症における自然免疫系の関与が示唆され、我々は子宮内膜症病巣における Toll-like receptors (TLRs) 7, 9 mRNA の発現について報告した。最近の研究により TLR7, 9 は、内在性の DNA や RNA を認識し、自己抗原に対する自己免疫反応を介し樹状細胞や自己反応性 B 細胞の活性化に関与することが解明された。systemic lupus erythematosus (SLE) において、自己抗体の標的は核酸-蛋白複合体であるが、遺伝的異常による自己抗体の選択的活性化により、アポトーシス細胞の除去の低下が生じて内在性レトロウイルス遺伝子の発現増加が示唆されている。今回我々は、子宮内膜における内在性レトロウイルス遺伝子の発現を調べ、TLR や PGE2 合成酵素と何らかの関係があるか検討した。【方法】インフォームドコンセントを得た、当施設で手術を受けた子宮内膜症患者を対象とし、子宮内膜症を伴わない良性疾患の正所性子宮内膜組織を対照とした。検体より RNA を抽出し RT を行い、HERV-w, HERV-k, TLR7, TLR9, COX-2, mPGES-1 mRNA の発現について real-time PCR により解析、検討した。【成績】HERV-w, HERV-k mRNA の発現は、正所性子宮内膜、子宮内膜症性病巣いずれにおいても認められた。HERV-k mRNA の発現は子宮内膜症組織において正所性増殖期子宮内膜と比較し、有意に高かった。腹膜病巣においても HERV-k mRNA の発現は、子宮内膜症患者の正所性増殖期子宮内膜と比較し、有意に高かった。子宮内膜症組織における HERV-w, HERV-k mRNA の発現と COX-2 mRNA の発現との間に有意な相関を認めた。【結論】子宮内膜症組織において HERV-w, HERV-k が発現し、自己免疫的異常が子宮内膜症の病態形成に関与する可能性が示唆された。