

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1704 号

An improved method for the isolation of endometrial epithelial and stromal cells from the human endometrium

(ヒト子宮内膜腺上皮細胞及び間質細胞における新たな分離精製法の確立)

増田 彩子 (ますだ あやこ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

子宮内膜は、腺管構造を成す腺上皮細胞 (endometrial epithelial cell, EMEC) とその周囲の間質細胞 (endometrial stromal cell, EMSC) から構成されており、EMSC の脱落膜化と EMEC の腺機能が、初期胚着床・発生・妊娠継続に重要な役割を担っている。従来子宮内膜の研究では、容易に生着・増殖する EMSC を長期培養と継代によって純化するプロトコルが広く用いられていた。一方で EMEC は、単離が難しく、*in vitro* での生着能・増殖能も弱いため、多数の細胞を用いた研究が困難であった。我々は、従来のプロトコルでは破棄される初回フィルター通過後の遺残組織片に、EMEC、EMSC が大量に残存していることを免疫組織化学によって明らかにした。そこで、これらの細胞の回収量向上を試みた。すなわち、初回フィルター通過画分 (コラゲナーゼ処理のみで単離される細胞及び血球成分) を除去した後、これまで破棄していたフィルター上の遺残組織片をピペッティングによりプロテアーゼ処理し、細胞塊を分散させ、培養皿上に播種生着後 48~96 時間で速やかに無脊椎動物由来酵素を用いて低侵襲的に細胞を剥離回収した。続いて蛍光活性化セルソーター (FACS) により、EMEC の特異的膜タンパク質である EPCAM (Epithelial cell adhesion molecule, 上皮細胞接着分子) 陽性細胞と、EMSC 分離マーカーとして広く用いられている CD13 陽性細胞を分離回収した。この手法を用いた回収を 4 回行い、平均して約 2.8×10^6 個の EMSC と、約 1.2×10^6 個の EMEC を単離することに成功した。得られた単離細胞のトランスクリプトーム解析結果は、これまでに報告されている EMEC および EMSC の遺伝子発現状態と同様であり、性質を維持していると考えられた。以上の様に、我々の改変プロトコルにより、長期間の培養や継代を行わずに、 10^6 個以上の EMEC と EMSC を高純度に回収することができた。それに伴い、長期培養・継代による性質の変化等の影響を最小限に抑え、また、回収細胞数が少ないために不可能であった解析 (ヒストン修飾解析等) が可能となった。本研究成果の応用により、生体内を反映した子宮内膜機能の分子機構と、その破たんによる病態の解明が促進されることが期待される。