



子宮内膜培養細胞におけるCA125産生動態に関する研究－正所内膜と異所内膜の比較－

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井田, 若葉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/939

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 86号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏 名	井 田 若 葉		
論文題目	子宮内膜培養細胞における CA125 産生動態に関する研究 —正所内膜と異所内膜の比較—		

医学博士 井田若葉 論文題目

子宮内膜培養細胞におけるCA125産生動態に関する研究 －正所内膜と異所内膜の比較－

論文の内容の要旨

〔目的〕

子宮内膜症、とくに子宮腺筋症における高CA125血症の発生機序を解明するために、子宮内膜細胞の *in vitro* の培養系を確立し、子宮腺筋症の正所内膜および異所内膜を、腺管上皮細胞と間質細胞に分離、培養した。また、フローサイトメトリー (FCM) を用いて細胞周期とCA125産生能との関係を比較検討した。

〔対象と方法〕

症例は、子宮腺筋症13例、子宮筋腫7例の合計20例であり、組織はすべて手術時に無菌的に採取した。子宮内膜腺管上皮細胞の培養は、Satyaswaroopらの方法を改変して以下の如く行った。

子宮内膜組織を小鉢で1mm³角に細切したのち、2時間酵素処理を行い、細胞の大きさにより分離した。すなわち、増殖期内膜の場合には38μmのスチレンス製メッシュを、分泌期内膜の場合には105μmのスチレンス製メッシュを用いて、メッシュに残存した細胞成分を回収して、培養に供した。間質細胞は、培養時にプラスチック壁面に付着させることにより除去し、腺管細胞を分離した。培養液は、Ham's F12を基本培地とし、これに200μl/ml FCS、40μg/ml Insulin、100IU/ml Penicillin、100μg/ml Streptomycinを加えたものを用いた。培養は、37℃、95% air-5% CO₂条件下で行い、培地交換は3～4日間隔で行った。

培養細胞数を連日算定することにより増殖曲線を作成し、同時に培養液中のCA125濃度を測定し、U/10⁵ cells/24hrsに換算してCA125産生能を求めた。また、各種子宮内膜培養細胞における細胞周期とCA125産生能との関係を検討するため、CA125とDNAの2重染色を行い、FCMにて解析した。培養細胞におけるCA125免疫染色は、酵素抗体間接法と蛍光抗体間接法により行った。

〔結果〕

1.形態学的観察

本法で子宮内膜腺管上皮細胞の培養を行うと、増殖期内膜の腺管は分泌期に比べて全体に細長く、短い傾向を示した。子宮内膜腺管上皮細胞は形態的におたまじゃくし状を呈し、紡錘状を呈する間質細胞とは明らかに区別された。しかし、位相差顕微鏡を用いた形態学的観察では、正所および異所子宮内膜腺管上皮細胞の区別は、識別が困難であった。

2.培養細胞におけるCA125染色

培養細胞のCA125染色を行うと、正所および異所子宮内膜腺管上皮細胞では、共に細胞膜のみならず、細胞質にも染色された。一方、正所および異所子宮内膜間質細胞の蛍光抗体法によるCA125染色では弱陽性に染色され、間質細胞にもわずかながらCA125産生能が認められた。

3.培養細胞の増殖曲線とCA125産生能

正所子宮内膜腺管上皮細胞の培養液中CA125濃度は培養2日目と細胞の対数増殖期(5～10日目)に高値を示し、定常期にはむしろCA125産生が低下した。これに対し異所子宮内膜腺管上皮細胞のCA125産生能は細胞の増殖期のみならず、定常期にも非常に亢進していた。一方、間質細胞のCA125産生能は、正所、異所を問わず極めて低下していた。

4.FCMによる細胞周期とCA125産生能

FCMによる2重染色の結果、正所子宮内膜腺管上皮細胞のCA125産生能は、G₀期の細胞がcell cycleに介入する時期のみならず、S期、G₂/M期の細胞が増加する対数増殖期にも亢進していた。

〔考察〕

最近、oncodevelopmental antigenであるCA125が卵巣癌患者のみならず子宮内膜症患者の診断や治療経過のモニタリングにも臨床応用されており、子宮内膜症におけるCA125上昇機序解明に興味を持たれる。われわれは、子宮内膜を腺管上皮細胞と間質細胞に分離、培養し、形態学的観察を行うとともに、培

養細胞の増殖態度とCA125産生能との関係を検討した結果、異所子宮内膜腺管上皮細胞ではCA125産生が顕著であり、正所内膜の約16倍（培養12日目）のCA125産生能を有していることが確認された。

以上より、子宮内膜症、とくに子宮腺筋症患者が高CA125血症を呈する理由は、正所子宮内膜腺管上皮細胞のCA125産生に加え、異所内膜腺管上皮細胞のCA125産生亢進による相乗効果が示唆された。

論文審査の結果の要旨

CA125は1981年にBastらが卵巣漿液性嚢胞腺癌由来細胞株より樹立したモノクローナル抗体OC125が認識するoncodevelopmental antigenである。以来、卵巣癌の血清学的診断や経過観察の方法は飛躍的に進歩した。しかし、子宮内膜症でもかなり高い陽性率を示すことが判明し、この疾患でも実地臨床上非常に有用であることが報告されている。そこで子宮内膜症、特に子宮腺筋症患者が高CA125血症を呈する原因を検討するため、申請者は子宮の正常部位にある正所内膜組織と腺筋症における筋層内に存在する異所内膜組織を用い、*in vitro*においてその増殖とCA125の産生能を検索した。共同研究者の一人によって改変された方法により、子宮内膜を腺管上皮細胞と間質細胞とに分離、培養し、どの細胞がCA125産生に関与しているかを調べた。また、フローサイトメトリーを用いて細胞周期とCA125産生能の関係を検討した。

本研究では以下のことが判明した。

1. 位相差顕微鏡による形態学的観察では、腺管上皮細胞はおたまじゃくし状を、間質細胞は紡錘状を呈しており両者は明らかに区別されたが、正所と異所の区別は困難であった。
2. CA125は大部分腺管上皮細胞から産生されるが、間質細胞でも少量ながら産生されることが定量的に確かめられた。蛍光抗体法によるCA125免疫組織化学においても、前者が強陽性に、後者が弱陽性に染色された。
3. フローサイトメトリーにより細胞のphase fractionを算出すると、正所内膜腺管上皮細胞は主にS期、G₂/M期細胞の増加している時期（増殖期）にCA125産生が亢進し、G₀/G₁期細胞がほとんどを占める定常期では低下した。これに対し、異所内膜腺管上皮細胞では、増殖期のみならず定常期にもCA125の産生が亢進しており、正所に比べて最高16倍（培養12日目）高値を示した。

以上より、子宮腺筋症患者が高CA125血症を呈する理由として、正所内膜腺管上皮細胞に加え異所内膜腺管上皮細胞からもCA125が産生され、かつそのCA125産生能亢進による相乗効果が示唆された。

これに対して次のような討論がなされた。

1. 形態的に差のない正所内膜腺管上皮細胞と異所内膜腺管上皮細胞との間にCA125産生能が異なる理由は何か。
2. 腺管上皮細胞と間質細胞の分離、培養の際、contaminationの可能性はないか。
3. 培養液の交換日が正所と異所内膜で異なっている理由は何か。厳密には同日に行うべきではないか。
4. CA125産生能が対数増殖期に亢進する理由は何か。

これらの質疑討論の結果、本論文は子宮内膜症における高CA125血症の機序の基礎的解明に寄与した点で高い評価が与えられ、医学博士の学位授与に値するものであると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 喜 納 勇

副査 教授 川 島 吉 良 副査 教授 菅 野 剛 史

副査 教授 吉 見 輝 也 副査 助教授 右 藤 文 彦