

ンを融合させた野生型 Six5 (VP16-Six5), 及び特異的 DNA 結合能を欠く変異型 Six5 (VP16-Six5W241R) をコードする cDNA をアデノウイルスベクター AxCAwt に組み込み, 野生型と変異型 Six5 を過剰発現する組換えアデノウイルスを構築した。2 種類の組換えウイルスをヒト水晶体上皮細胞 SRA01/04, 子宮顆粒膜細胞 KGN に感染させた。感染後, 短時間 (24 時間) で RNA を抽出, Cy3 と Cy5 で標識した cDNA プローブを合成し, Agilent 社製 cDNA マイクロアレイ (12,814 遺伝子を搭載) に対する競合ハイブリダイゼーションを行い, 野生型 Six5 の過剰発現により発現レベルが 2 倍以上増加 (野生型/変異型 > 2) した遺伝子を標的候補として同定した。

結果と考察

水晶体上皮細胞で同定した 227 遺伝子には白内障との因果関係がすでに示されている 4 遺伝子 (転写因子 PITX3, 成長因子 TGFB2, 酵素 KMO, コネクシン GJA1) が含まれていた。さらに水晶体透明度の維持に不可欠な複数の Na や K イオンチャンネル, グルコーストランスポーターの遺伝子が含まれていた。顆粒膜細胞で同定した 311 遺伝子には性腺機能低下症との因果関係が示されている遺伝子 (アロマトラーゼ CYP19A1, エストロゲン受容体 ESR1, エストロゲン受容体の転写コファクター NR1P1, 転写因子 GATA4, ニューロトロフィン BDNF) が含まれていた。さらに, 白内障に関わる KMO, Six ファミリータンパク質と協調してはたらく Dach をはじめ, 50 個を越える遺伝子が 2 種類の由来の異なる細胞で標的候補として同定された。このことは本研究で用いた標的遺伝子の同定方法の有効性を示すものと考えられた。10 個以上の遺伝子について RT-PCR による検証実験を行い, アレイ解析で検出した発現レベルの変動パターンを確認することができた。水晶体, 卵巣周辺での SIX5 の発現低下がこうした遺伝子の発現レベルを局所的に増減させ, 白内障や性腺の機能を低下させるという機序が示唆され, 非常に興味深い。今後は今回同定した標的候補遺伝子について, DM1 患者に類似の白内障や性腺機能低下症を発症する Six5 遺伝子欠損

マウス組織における発現パターンの検証を予定している。また, Six5 標的遺伝子プロモーターの構造, 配列上の特徴を見だし, その転写制御機構を調べることで, 将来治療法の開発に結びつく可能性があるのではないかと期待している。

子宮内膜症とアレルギー反応：発生・進展メカニズムに基づく疼痛治療ターゲットの研究

* 1 自治医科大学産科婦人科学教室

* 2 自治医科大学大宮医療センター婦人科

藤原 寛行*1, 今野 良*2, 鈴木 光明*1

ロイコトリエンの産生源のひとつである肥満細胞が子宮に存在することは古くから知られているが, 子宮内膜症との関係を示す報告は少なく, 数編が認められるのみである¹⁻³。今回我々は, 子宮内膜症の発生・進展に肥満細胞が関与しているか否かを形態学的に検討し, 肥満細胞が子宮内膜症の治療ターゲットとなり得るかを考察したので報告する。

内膜症組織 53 検体に対し, HE およびトルイジンブルー (TB) 染色を行い肥満細胞を同定した。上記染色に加え電子顕微鏡による検討も加え, 肥満細胞であることの再確認, および脱顆粒の証明を行った。コントロールとして正常子宮内膜組織 (非子宮内膜症患者), 子宮内膜症患者の正所性子宮内膜組織を用い, 同様の検討を行い, 内膜症病変部肥満細胞との数的および脱顆粒などの質的相違について検討した。さらに, 卵巣子宮内膜症性嚢胞 13 検体において肥満細胞の局在および脱顆粒の有無を検討した。いずれの検体もインフォームドコンセントを得て研究に供した。

肥満細胞は濃いブルーから紫色に染まり, 同定が可能であり, 脱顆粒像も確認できた。電子顕微鏡で検討すると形態的にもこれらが肥満細胞であることが確認でき, またその多くが脱顆粒しており, 活性状態にあることが解った。内膜症病変部の肥満細胞は数的にも多く, また脱顆粒している比率も高く, 活性状態にある肥満細胞が病変部に多数認められることが確認され

た。卵巢子宮内膜症性嚢胞における肥満細胞の局在を検討したが、内膜症と病理学的に診断する根拠となる内膜腺様構造の認められる部分（直下間質含む）にはあまり肥満細胞が認められず、一方、血管や線維化の認められる間質部分に肥満細胞が多数認められた。光顕400倍の5視野平均で比較すると腺直下間質0.18個に比べ、間質部分は4.46個 ($P=0.0018$) と有意差を認めた。

異所性内膜症組織中に肥満細胞が同定でき、その多くが脱顆粒していたこと、子宮内膜症性嚢胞において、肥満細胞は内膜腺様腺腔の認められる部位に比べ、膠原線維および血管新生の増生した間質部分に多数認められたことにより、肥満細胞を介する免疫反応は内膜症の発生・進展に関係しており、特に線維化と関係がある可能性が示唆された。preliminary なデータであるが、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて、卵巢子宮内膜症性嚢胞の遺伝子発現を包括的に解析したところ、上位50項目中21項目は肥満細胞をはじめ、免疫系に関するものであった。以上の結果は気管支喘息における肥満細胞の役割と良く似ており、肥満細胞から放出される子宮収縮物質のひとつであるロイコトリエンに対し、ロイコトリエン受容体拮抗薬の使用が新しい治療薬となり得る可能性が示唆された。

引用文献

- 1) Matsuzaki S, Canis M, Darcha C et al. Increased mast cell density in peritoneal endometriosis compared with eutopic endometrium with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 40 : 291-4, 1998.
- 2) Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O et al. Stem cell factor (SCF) concentrations in peritoneal fluid of women with or without endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 44 : 231-5, 2000.
- 3) Uchiide I, Ihara T and Sugamata M. Pathological evaluation of the rat endometriosis model. *Fertil Steril* 78 : 782-6, 2002.