

(様式3号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 坂井 宜裕

〔題名〕

Establishment of a 3D spheroid culture system to evaluate the responsiveness of uterine leiomyoma cells to female hormones

(女性ホルモンに反応性を有する子宮筋腫平滑筋細胞の 3D スフェロイド培養系の確立)

〔要旨〕

背景：子宮筋腫細胞は生体では女性ホルモンに反応し増殖するが、培養系におけるホルモン反応性については統一見解が得られていない。子宮筋腫の約 70% で *MED12* 変異が検出されるが、変異を持つ *MED12*(+)筋腫と持たない *MED12*(-)筋腫で女性ホルモン反応性に差異があるかは明らかでない。本研究ではエストロゲン(E)・プロゲステロン(P)に反応性を有する培養系の確立を目指し、さらに *MED12*(+)と *MED12*(-)で E・P に対する反応に差異があるかを検討した。

方法：子宮筋腫組織をコラゲナーゼ処理で、単一細胞に乖離して初代培養に供した。この細胞は約 80%が平滑筋細胞で、P 受容体を有することを確認した。女性ホルモン反応性の検討のため、初代培養細胞に次のホルモン添加を行った。①平面培養；コントロール、E のみ、P のみ、E+P の 4 群で 7 日間培養し細胞数を計測した。②三次元培養；細胞を低接着の 96 ウェルプレートで 24 時間培養し、スフェロイド形成を確認した後、コントロール、E のみ、P のみ、E+P、E+P+選択的 P 受容体修飾薬(SPRM)の 5 群で 7 日間培養し、断面積を測定した。

結果：①平面培養；*MED12*(+)・*MED12*(-)とも、どのホルモン添加でも細胞は増殖しなかった。②三次元培養；両筋腫とも E+P および P 群でスフェロイドは縮小せず維持された。一方、コントロール、E のみ、E+P+SPRM 群では平滑筋細胞の縮小によりスフェロイドは縮小した。従って、P がスフェロイドの成長を維持し、両筋腫間で反応性に差はない事が判明した。一方、トリクローム染色により、*MED12*(+)でのみ P を添加した E+P と P 群において膠原線維が検出された。これは、生体での *MED12*(+)におけるコラーゲン産生の亢進が再現された可能性がある。

結論：子宮筋腫平滑筋細胞の培養において、P に反応するスフェロイド培養系を確立した。

(800 文字)

学位論文審査の結果の要旨

令和7年8月6日

報告番号	医博甲第 174/ 号	氏名	坂井 宜裕		
論文審査担当者	主査教授	伊藤 浩久			
	副査教授	白石 晃司			
	副査教授	杉野 法広			
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Establishment of a 3D spheroid culture system to evaluate the responsiveness of uterine leiomyoma cells to female hormones (女性ホルモンに反応性を有する子宮筋腫平滑筋細胞の3Dスフェロイド培養系の確立)					
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Establishment of a 3D spheroid culture system to evaluate the responsiveness of uterine leiomyoma cells to female hormones (女性ホルモンに反応性を有する子宮筋腫平滑筋細胞の3Dスフェロイド培養系の確立) 雑誌掲載名 Reproductive Medicine and Biology 第24巻 第1号 P.e12627 (2025年 2月 掲載) 著者 (全員を記載) Takahiro Sakai, Shun Sato, Tetsuro Tamehisa, Hitomi Takasaki, Takuya Kajimura, Isao Tamura, Norihiro Sugino (論文審査の要旨)					
女性ホルモンに反応性を有する子宮筋腫細胞の培養系は確立されていない。また子宮筋腫検体の約70%でMED12遺伝子の変異が検出されるが、MED12変異を有するMED12(+)筋腫と有さないMED12(-)筋腫の間で女性ホルモンへの反応性に差異があるかも検討されていない。そこで、本研究ではin vitroにおいてエストロゲン(E)およびプロゲステロン(P)に反応性を有する培養系の確立を目的とし、さらにMED12(+)とMED12(-)筋腫の間でEおよびPへの反応性に差異があるかを検討した。 患者の同意を得て採取した子宮筋腫組織から細胞を分離して培養に供した。この細胞は約80%がα-SMA陽性の平滑筋細胞であり、EとPの受容体を有することを免疫染色で確認した。三次元培養系では、細胞を低接着性の96ウェルプレートで培養し、24時間後にスフェロイドの形成を確認した後、コントロール、Eのみ、Pのみ、E+P、E+P+選択的プロゲステロン受容体修飾薬(SPRM)の5群に分け7日間培養し、スフェロイドの断面積を測定した。MED12(+)およびMED12(-)筋腫とも、E+PおよびP添加群でスフェロイドは縮小せず、その成長が維持された。一方、コントロール、Eのみ、E+P+SPRM群ではスフェロイドは縮小し、組織学的に平滑筋細胞が縮小していることが示唆された。従って、Pが子宮筋腫スフェロイドの成長を維持していること、およびMED12(+)とMED12(-)筋腫間ではPの効果に差は無い事が明らかになった。 子宮筋腫細胞の培養において、女性ホルモンに反応性を有する三次元スフェロイド培養系を確立した。 本研究は、女性ホルモンに反応性を有する子宮筋腫平滑筋細胞の3Dスフェロイド培養系を確立したものであり、将来的に子宮筋腫の治療薬の開発に有用な方法を提案するものであり、学位論文として価値あるものと認めた。					