

氏名	西本 (垣内) 綾子		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 5 4 号		
学位授与年月日	令和 2 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Establishment of an Endometriosis Model Using Cynomolgus Monkeys (カニクイザルを利用した子宮内膜症モデルの確立)		
主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	澤村 京一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	中野 賢太郎

論 文 の 要 旨

子宮内膜症は、女性のQOLに大きく影響する慢性疾患で、有病率は20-40代女性の10%、症状は強い痛みと不妊である。現在の薬剤治療は鎮痛剤かホルモン剤しかなく限界がある。手術治療でも再発率が高く、新規メカニズムの薬剤が強く望まれている。子宮内膜症の進展メカニズムは明らかでないが、月経出血の逆流がトリガーとなり腹腔内で炎症を引き起こし、高濃度サイトカイン産生や免疫細胞浸潤が起こり、痛みや病態を悪化させると考えられている。加えて、慢性炎症の結果として、線維化が進行することが知られている。しかし、炎症を引き起こす月経がある動物は限られており、子宮内膜症は霊長類にしか発症しない。また、痛みに寄与すると考えられている線維化を伴う病変を再現した動物モデルは限られている。近年、子宮内膜症の新規薬剤開発が失敗した理由は線維化病変を再現した動物モデルでの評価ができていなかったからだという報告があり、子宮内膜症における線維化への注目が高まっている。本博士論文で著者は、ヒト子宮内膜症の発症および進行メカニズムを再現した動物モデルを得ることを目指して、ヒトに近い月経周期をもつカニクイザルの自然発症子宮内膜症を解析し、動物モデルとしての妥当性を検討した。

第一章で著者は、病変及び癒着のロケーションなど肉眼的解析研究、病理学的な組織構造の解析および子宮内膜症組織における炎症に関する研究について論じている。本研究で著者は、解剖時に自然発症子宮内膜症と診断されたカニクイザルの飼育時の観察記録、解剖記録及び病理ブロックを用いて子宮内膜症の解析を行った。肉眼的解析では、8頭のうち5頭で結節性病変、7頭で嚢胞病変、8頭全てで癒着を観察した。さらに、臨床で典型的病変とされる卵巣チョコレート嚢胞を観察し、結腸や子宮などへの癒着を伴って進行した病変を発見した。さらに著者は、病理学的に組織構造の解析を行い、ヒトと同様に上皮細胞、CD10陽性ストローマ細胞、線維化した間質組織の三層構造からなることを8頭中8頭で確認した。また、子宮内膜症組織における炎症の解析を行い、出血痕と免疫細胞、鉄染色陽性のヘモジデリン沈着マクロファージ、CD31陽性の血管新生に関する所見を8頭中すべてにおいて確認した。さらに著者は、近年ヒトで子宮内膜症病変に新生する異所性の神経線維と子宮内膜症関連疼痛の関連が報告されているため、神経線維のマーカーであるNFの発現を免疫化学染色で確認した。その結果、8頭中6頭で所見が見られることを見出した。以上より著者は、カニクイザルの自然発症子宮内膜症は、肉眼的・病理学的にヒト子宮内膜症と類似した特徴を示すことを明らかにした。

第二章で著者は、子宮内膜症サルのスクリーニング方法の検討、診断時の腹腔鏡を用いた進行度の定量的解析、腹腔鏡とMRIを用いた経時的に定量的評価した研究について論じている。まず著者は、霊長類医科

学研究センターの生殖年齢雌サル約 600 頭から、定期的な月経出血の有無、子宮内膜症血液マーカーである CA125 や健康診断時の下腹部触診異常などのデータをもとに、5 年間で 29 頭を候補サルとして選択した。開腹手術あるいは腹腔鏡観察により、29 頭のうち 15 頭を子宮内膜症と確定診断した。痛みを訴えないサルでのスクリーニングの方法は確立されていなかったが、著者は生殖年齢で定期的な月経出血があるサルのうち、CA125 高値、下腹部触診異常に加えて、便性状の異常がスクリーニングアイテムになることを見出した。さらに、確定診断した 15 頭のうち、9 頭で腹腔鏡観察をおこなったところ、ヒトでの好発部位に病変・癒着が観察された。臨床で用いられる“改定アメリカ生殖学会スコア(Revised American Fertility Society Score, r-AFS score)”をサル用に改変したものを用いて、病態の定量的評価が可能か検討した結果、“r-AFS score”を用いて、病態を定量的評価が可能であることを見出した。次に著者は、腹腔鏡で確定診断した 9 頭のうち 8 頭で、腹腔鏡及び MRI を用いて、経時的な評価が可能か検討した。腹腔鏡観察では改変 r-AFS score、MRI 観察では、子宮内膜症嚢胞を三次元解析して算出した病変体積として、経時的に定量的評価が可能で、病態は安定傾向を示した。さらに、子宮内膜症疼痛のように、月経に伴って変動する観察項目を探索し、摂餌量を見出した。子宮内膜症サルは健常サルと比較して摂餌量が低下しており、特に月経時の低下が顕著であった。月経時の摂餌量は癒着スコアと相関する傾向を見出した ($R^2=0.8239$)。このことから著者は、痛みの直接評価は難しいが、月経に伴って変動する生物学的項目として摂餌量に有用である可能性を見出した。また、血漿中サイトカインを解析したところ、ヒト子宮内膜症患者で高い因子が高く、臨床類似性を見出した。最後に著者は、子宮内膜症疾患モデルとしての特性をヒヒの論文情報と比較した。カニクイザルは体重が 3-5kg と 12kg 前後のヒヒより、体が小さく腹腔鏡観察の難易度が高いものの、ともに改変 r-AFS score による定量的な病態評価が可能である。さらに著者は、カニクイザルは飼育スペースの確保がしやすく、全ゲノム解析がデータベースに公開されているので mRNA 及びタンパク質の解析に優位性があることを明らかにした。以上より著者は、自然発症子宮内膜症カニクイザルは血液検査と一般的な日常観察の結果を組み合わせることでスクリーニング可能で、腹腔鏡および MRI で経時的に定量的な評価が可能で、おおむね病態が安定していることを見出した。さらに著者は、子宮内膜症に連動する生物学的マーカーとして摂餌量が見いだされ、カニクイザルがヒヒより小型だが炎症性因子等の mRNA 及びタンパク質発現解析が容易な動物モデルであることを明らかにした。

本研究で著者は、カニクイザル自然発症子宮内膜症は、肉眼的・病理組織学的にヒトに類似した特徴を持つこと、スクリーニングが可能で、腹腔鏡および MRI で定量的かつ経時的な評価が可能であることを確認し、動物モデルに必要な条件を満たすことを見出した。さらに、子宮内膜症に連動する生物学的マーカーの評価が可能で、炎症性因子等の発現解析が容易な動物モデルであることを明らかにした。著者は今後、これまでの動物モデルでは難しかった線維化や癒着の進行の分子メカニズムの解析や、その解析に基づいた新規薬剤、特に非ホルモン剤の薬効評価への活用が期待されると考えている。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、カニクイザルが子宮内膜症研究の優れたモデル生物であることを見出した。著者は、本論文において肉眼的解析、病理学的な組織構造の解析および子宮内膜症組織における炎症に関する検討を行い、カニクイザルの自然発症子宮内膜症は、肉眼的・病理学的にヒト子宮内膜症と類似した特徴を示すことを明らかにし、カニクイザルの子宮内膜症モデル生物としての妥当性を証明した。これにより著者は、子宮内膜症の発生や発症に対して基盤的知見の獲得を期待させる大変意義のある研究とした。さらに、本研究成果が生物学的な観点においても非常に意義のあるものになることも期待された。以上より本論文における研究成果は、学術的にも応用的にも非常に価値の高いものであると判断された。

令和 2 年 1 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。