

論文の内容の要旨

氏名：松野孝幸

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト脱落膜マスト細胞の分離と培養脱落膜マスト細胞の樹立

目的

子宮マスト細胞は着床、胎盤形成および子宮収縮に関与していることが、げっ歯類の研究で示唆されているが、ヒト子宮マスト細胞の妊娠経過における役割に関しては不明な点が多い。そこで基礎的な検討としてヒト脱落膜組織におけるマスト細胞の分布と特徴を解析し、脱落膜組織より培養マスト細胞を樹立することを目的とした。

方法

本研究計画は日本大学医学部倫理委員会および臨床研究委員会の承認を得た。妊娠中絶希望（妊娠 6-9 週）で子宮内容物除去術を受けた患者のうち、文書にて検体提供の同意が得られたものの脱落膜組織を得た。tryptase 抗体を用いて免疫組織染色を行った。酵素的に細胞を分散した後パーコールで精製した。純度はキムラ染色を用いて算出した。マスト細胞の表面マーカーとして CD117 (Kit) と Fc γ RI および細胞内マーカーとして tryptase と chymase を染色し、フローサイトメーターで解析を行った。さらに、stem cell factor (SCF) と Interleukin (IL)-6 を含むメチルセルロース培地で培養した。histamine は enzyme immunoassay kit で測定した。

成績

12 ドナーの脱落膜組織を得た (4.9 ± 2.7 g/one tissue, 以下 平均 \pm 標準偏差)。免疫組織染色により、脱落膜に約 25 個/400 倍視野の tryptase 陽性のマスト細胞を確認した。酵素的に細胞を分散、パーコールで精製後、1 g 組織あたり $14.8 \times 10^5 \pm 18.3 \times 10^5$ 個のマスト細胞（純度: $16.9 \pm 8.0\%$ ）を分離した。フローサイトメーターの解析では全細胞中 $0.3 \pm 0.2\%$ が CD117⁺Fc γ RI⁺細胞であり、tryptase^{high}chymase^{low}であった。SCF と IL-6 を含むメチルセルロース培地で 12 週間培養すると、ほぼ 100%の純度のマスト細胞が得られた。脱落膜組織培養マスト細胞は Immunoglobulin E 依存性の刺激で histamine を遊離した。

結論

ヒト脱落膜にマスト細胞は存在し、そこからマスト細胞を精製することができた。脱落膜組織から培養マスト細胞を得られるようになったことで、今後、妊娠経過におけるマスト細胞の役割や、妊娠中の病態（異常）にどのようにマスト細胞が関与しているのか検討する良いツールとなることが期待される。