

審査の結果の要旨

氏名 中澤 史子

今回、ヒト子宮内膜において着床期特異的に増加するコレステロール硫酸 (CS) に着目し、ROR α を介したCSの機能を解析するために、ヒト子宮内膜におけるretinoid-related orphan receptors alpha (ROR α) の発現確認とROR α 下流遺伝子であるRev-erb α のCSによる遺伝子発現調節の解析を行った。また調節領域にROR response element (RORE) を有する候補遺伝子Sulfatase1 (heparan sulfate 6-O endosulfatase ; SULF1) のヒト子宮内膜における遺伝子発現調節とその機能解析を行い、下記の結果を得ている。

1. アフィニティセンサーにより CS とその受容体である ROR α の結合性について検討し、CS との結合速度定数、解離速度定数、解離定数を数値化した。ヒト子宮内膜間質細胞、上皮細胞で ROR α の発現を確認し、Rev-erb α も同様にその発現を確認した。ROR α mRNA 発現量は分泌期中期に一致して発現量の増加が認められた。分泌期中期における Rev-erb α mRNA は増加傾向であった。分離培養した上皮細胞 (EECs)、間質細胞 (ESCs) に CS を添加した実験では ESCs で CS により ROR α mRNA の発現誘導が認められ、ROR α の蛋白質発現量を増加させることを確認した。また CS を添加した ESCs において Rev-erb α mRNA の発現量は増加することが確認された。ルシフェラーゼアッセイ法より ROR α により Rev-erb α が誘導されていることが示された。以上のことより、ヒト子宮内膜において着床期特異的に発現する CS はその受容体である ROR α を誘導することにより Rev-erb α の転写活性に関与している可能性があると考えられた。
2. ROR α の下流遺伝子の可能性がある SULF1 について検討し、ヒト子宮内膜で初めてその発現を確認した。CS 添加した ESCs では SULF1 の転写活性が促進された。CS によりヒト子宮内膜間質細胞表面の SULF1 活性が増加し、細胞膜表面の Wnt 局所濃度の増加により Wnt シグナル経路の活性が起こるのではないかという仮説から Wnt シグナル経路伝達因子 β -catenin について検討した。CS 添加を行った ESCs の β -catenin の蛋白質は増加していた。これは本来、間質細胞質で分解されている β -catenin が CS 添加により安定的に発現していることを示した。CS 添加後の β -catenin の局在は時間経過的に間質細胞の核内集積を示した。細胞増殖試験や Caspase 活性の結果、CS は細胞内代謝活性を維持したまま、細胞内の Caspase 活性を促進していた。この結果 CS がアポトーシスの誘導をすることが明らかとなった。ヒト子宮内膜において Wnt シグナルの活性やアポトーシスを誘導する事を示した。アポトーシス誘導経路に関しては SULF1 を介する可能性が示唆された。

以上、本研究では①ヒト子宮内膜において着床期特異的に発現する CS は ROR α を誘導することにより Rev-erb α の転写活性に関与している事、②ヒト子宮内膜において CS は Wnt/ β -catenin pathway を活性化する事、③CS がアポトーシスを誘導する事が明らかとなった。従来細胞膜合成成分として、あるいは細胞外での酵素活性調節因子として知られてきた CS が、細胞内情報伝達系あるいは核内受容体を介して遺伝子発現調節を行っている可能性を示した。学位の授与に値するものと考えられる。