

Physiological Studies on the Cellular Clock in the Uterus: the Nuclear Receptor REV-ERB α Has an Inhibitory Role in the PTGS2 Gene Transcription

諫山, 慧士朗

<https://hdl.handle.net/2324/1500793>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名	諫山 慧士朗		
論 文 名	Physiological Studies on the Cellular Clock in the Uterus: the Nuclear Receptor REV-ERB α Has an Inhibitory Role in the PTGS2 Gene Transcription (子宮の細胞時計に関する生理学的研究：核内受容体REV-ERB α によるPTGS2遺伝子の転写抑制)		
論文調査委員	主 査	九州大学	職名 教授 氏名 服部眞彰
	副 査	九州大学	職名 教授 氏名 田畑正志
	副 査	九州大学大学院理学研究院	職名 教授 氏名 下東康幸
	副 査	九州大学	職名 准教授 氏名 山内伸彦

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

動物の組織・臓器は脳の視交叉上核に位置する中枢時計を頂点とした階層関係を取りながら、固有の生理機能に最も適するように時間位相を変化させている。子宮組織でも細胞時計は卵巣からの内分泌因子の影響を受けながら振動しているが、その機能に関しては殆ど解明されていない。本論文は、哺乳類の子宮内膜において振動する細胞時計の生理学的な機能の解明を目的に、妊娠や発情回帰に関わるプロスタグランジン (PG) 合成酵素遺伝子の発現制御について細胞生物学的に解析したものである。

本論文では、まず、時計遺伝子が安定した振動的発現を示す着床期ラットの子宮内膜間質細胞（以下、間質細胞）を用いて、30,367 遺伝子の発現を DNA マイクロアレイで網羅的に解析した。そのうち 11 個の着床関連遺伝子、24 個の胎盤形成関連遺伝子、および 6 個の PG 合成酵素遺伝子に有意な変動が認められ、これらは時計遺伝子によって制御を受ける下流遺伝子（時計制御遺伝子）であることが推定された。さらに、時計遺伝子 *Bmal1* の RNA 干渉によって細胞時計の振動が低下した細胞を用いて行った PG 合成酵素遺伝子の発現解析では、5 個の遺伝子の発現に有意な変化が見られ、特に発現が大きく増加した prostaglandin G/H synthase 2 (*Ptgs2*) が時計制御遺伝子の有力な候補に上った。

次いで、*Ptgs2* の転写開始点上流域には細胞時計の一員でもある核内受容体 REV-ERB α が結合するエレメントが複数存在するので、まず *Rev-erba*および *Ptgs2* の発現の特徴を比較した。胎盤形成の初期にあたる脱落膜化期の子宮では、着床期に比べて *Rev-erba*などの主要な時計遺伝子の振動的発現が低下するが、逆に *Ptgs2* の発現が増加することが認められ、免疫組織化学でも同様の結果が得られた。また、培養した間質細胞の脱落膜化（細胞分化）を誘導すると、*Rev-erba*など時計遺伝子の振動的発現は低下するが、*Ptgs2* 発現は増加した。以上のことから、間質細胞の細胞分化によって *Rev-erba*と *Ptgs2* の相対的な発現レベルが逆転すると結論された。

さらに、*Ptgs2* 発現調節における核内受容体 REV-ERB α の関与を明確にするために、そのアンタゴニスト SR8278 の効果を調べた。培養した間質細胞にアンタゴニストを添加すると *Ptgs2* 発現および PGE2 生成が増加したことから、REV-ERB α は *Ptgs2* 発現を抑制的に調節していることが考えられた。このメカニズムを解明するために行ったクロマチン免疫沈降と PCR によるプロモーター解析では、REV-ERB α が *Ptgs2* の転写開始点上流にあるエレメントに直接結合することが証明された。以上のことから、脱落膜化期の子宮における細胞時計の振動低下、特に REV-ERB α の発現低下による抑制解除が *Ptgs2* の転写活性の上昇に繋がると結論された。

最後に、着床メカニズムがラットとは異なるウシ子宮内膜の間質細胞と上皮細胞を用いて、*Ptgs2* の発現と黄体退行因子である $\text{PGF2}\alpha$ の生成について比較した。いずれの細胞でも主要時計遺伝子の振動的発現は微弱であるが、卵巣ステロイドホルモンの存在下では *Rev-erba* および *Ptgs2* の発現がラットと同様に逆の変動を示し、また REV-ERB α のアンタゴニストによって *Ptgs2* 発現と $\text{PGF2}\alpha$ 生成の増加が認められた。すなわち REV-ERB α が *Ptgs2* 発現を抑制しているが、黄体退行期になるとその抑制が解除されて *Ptgs2* 発現が誘導され、 $\text{PGF2}\alpha$ 生成の増加に繋がることが示唆された。

以上要するに、本論文は哺乳類の子宮内膜細胞で発生する細胞時計の振動によって胎盤形成や黄体退行といった生殖現象が制御されているという新たな知見を提供したものであり、繁殖生理学、生殖内分泌学、および時間生理学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。