

# Studies on Circadian Oscillators in Rat Uterus Endometrium Stromal Cells during Differentiation and Their Physiological Roles

趙, 立佳

<https://hdl.handle.net/2324/1654943>

---

出版情報：九州大学, 2015, 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（2）

氏 名 : 趙 立 佳

論文題名 : Studies on Circadian Oscillators in Rat Uterus Endometrium Stromal Cells during Differentiation and Their Physiological Roles  
(ラット子宮内膜間質細胞の分化に伴う細胞時計の振動とその生理学的役割に関する研究)

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

動物の組織・細胞には1日約24時間の周期を刻む時計機構が存在し、様々な生理機能を制御している。その本体は転写・翻訳・翻訳後修飾などからなるフィードバックループによって振動を生み出す時計遺伝子群である。子宮でも時計遺伝子が振動的に発現しているが、時計遺伝子によって発現が制御される遺伝子(時計制御遺伝子)の存在は殆ど明らかでないこともあり、子宮での時計機構の役割は解明されていない。そこで本研究では、子宮内膜間質細胞が脱落膜化細胞に分化する胎盤形成の初期に発現する遺伝子群(TGFβスーパーファミリー、NOTCHファミリー)に着目して、時計制御遺伝子の可能性を追究した。

まず、着床期にあたるラット子宮から分離した内膜間質細胞を同期化して、振動的に発現する遺伝子をDNAマイクロアレイによって網羅的に探索した。その結果、25種類の時計遺伝子およびその関連遺伝子の大部分が振動的に発現することに加え、Gdf遺伝子やBmp遺伝子などTGFβスーパーファミリーおよびNOTCHファミリー(*Notch1*、*Notch4*)に発現変動が認められた。

次に、脱落膜化細胞では時計遺伝子の振動的発現が消失することから、Gdf遺伝子やNotch遺伝子が時計制御遺伝子に分類されるかについて、主要時計遺伝子の一つである*Bmal1*のRNA干渉(siRNA)によって解析した。培養子宮内膜間質細胞にsiRNAを導入すると、主要な時計遺伝子は発現低下あるいは振動的発現の消失が認められ、脱落膜化細胞のマーカーである*Prl8a2*の発現増加は見られないものの細胞の時計機構をブロックしたものと判断された。この細胞では、主要Gdf遺伝子(*Gdf5*、*Gdf7*、*Gdf10*、*Gdf11*、*Gdf15*)のうち*Gdf10*と*Gdf15*の発現が有意に増加することが認められたが、その他のGdf遺伝子の発現増加は見られず、脱落膜化期にあたる子宮の着床点で*Gdf10*と*Gdf15*のみが発現増加することと一致した。一方、siRNA処理細胞では*Notch1*や*Notch4*の振動的発現は消失した。以上のことから、Gdf遺伝子(*Gdf10*、*Gdf15*)やNotch遺伝子(*Notch1*、*Notch4*)は時計機構に異なった反応を示すものの、いずれも時計制御遺伝子に分類されることが明らかになった。

さらに、Gdf遺伝子やNotch遺伝子の転写開始点上流域に時計タンパク質(転写因子)に制御されるエレメントが存在することから、核内受容体でもあるREV-ERBαによる関与について解析した。REV-ERBαのアゴニスト(GSK4112)やアンタゴニスト(SR8278)を用いて、選択的にREV-ERBαの活性を変化させて、Gdf遺伝子やNotch遺伝子の発現変動を測定した。細胞をSR8278で処理してREV-ERBα活性を抑制すると、*Gdf10*や*Gdf15*の発現は増加したが、その他のGdf遺伝子は増加しなかった。一方、細胞をGSK4112で処理してREV-ERBαを活性化すると、*Notch1*や*Notch4*の発現は減少した。以上のことから、Gdf遺伝子やNotch遺伝子の発現はREV-ERBαによって抑制的に制御されていることが結論された。

最後に、クロマチン沈殿法とPCRによってGdf遺伝子(*Gdf10*、*Gdf15*)やNotch遺伝子(*Notch1*、

*Notch4*) のプロモーター解析を行なったところ、REV-ERB $\alpha$ が *Gdf10* と *Gdf15* 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時計遺伝子の振動低下あるいは *Rev-erb $\alpha$*  の発現低下が Gdf 遺伝子や Notch 遺伝子の発現誘導に強く関与するものと結論された。

以上の知見を総合すると、哺乳類の子宮内膜間質細胞が脱落膜化細胞に分化する胎盤形成の初期では、細胞時計の振動が消失して成長因子や受容体の発現を促すという機構が働くことを解明した。