

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)		
論文調査委員	主査	九州大学	職名 准教授 氏名 山内伸彦
	副査	九州大学	職名 教授 氏名 田畑正志
	副査	九州大学	職名 名誉教授 氏名 服部眞彰

論文審査の結果の要旨

ほとんどの末梢組織・細胞には細胞時計が組み込まれているが、細胞の増殖、分化、アポトーシスを繰り返す子宮内膜間質細胞では細胞時計の振動とその生理的機能は殆ど未解明である。本論文は、子宮における細胞時計の生理的機能の解明を目的に、ラット子宮内膜間質細胞をモデル細胞として細胞分化に伴う成長因子や受容体の発現調節を解析したものである。

まず、受精卵が着床する時期の子宮から分離・培養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 マイクロアレイで網羅的に探索すると、時計遺伝子に加えて妊娠初期に発現増加が知られている成長因子 TGF β スーパーファミリーや受容体 NOTCH ファミリーの遺伝子に発現変動が認められたので、以降これらの遺伝子に焦点をあて発現解析を進めた。

次に、脱落膜化期の細胞を想定して、実験的に内膜間質細胞を脱落膜化細胞に分化させて細胞時計の振動変化を解析すると、コア時計遺伝子 (*Bmall*, *Per2*, *Rev-erba*, *Dbp*) の振動的発現が明らかに低下したが、成長因子遺伝子 (*Gdf*, *Bmp*) の発現は上昇した。そこで、コア時計遺伝子の一つである *Bmall* の RNA 干渉を行うと、その下流の時計遺伝子 (*Per2*, *Rev-erba*, *Dbp*) では振動的発現が低下したことから、細胞時計の振動が抑制されたものと判断された。この状態の細胞では、*Gdf* 遺伝子のうち *Gdf10* と *Gdf15* の発現が有意に増加したが、その他の *Gdf* 遺伝子 (*Gdf5* など) の発現増加は見られなかった。子宮の脱落膜化が進んでいる受精卵の着床点でも *Gdf10* と *Gdf15* の発現増加が見られ、培養細胞の知見と一致した。しかし、脱落膜化細胞のマーカー遺伝子 (*Pr18a2*) の発現増加は見られないので、細胞時計の抑制によって少なくとも短時間では脱落膜化現象は誘導されないものと考えられた。一方、細胞時計の抑制によって *Notch* 遺伝子 (*Notch1*, *Notch4*) では逆に発現抑制が認められ、細胞時計の振動によって発現が促進されていることが示唆された。

最後に、*Gdf* 遺伝子や *Notch* 遺伝子の転写開始点近傍には、核内受容体でもある時計タンパク質 REV-ERB α が結合する制御領域が多く存在するので、選択的に REV-ERB α の活性を変化させるために、REV-ERB α のアゴニスト (GSK4112) やアンタゴニスト (SR8278) を用い遺伝子の発現変動を解析した。REV-ERB α 活性をアンタゴニストで抑制すると *Gdf10* や *Gdf15* の発現は増加したが、その他の *Gdf* 遺伝子の発現増加は見られなかった。また、REV-ERB α をアゴニストで活性化すると、*Notch1* や *Notch4* の発現は減少した。これらの結果を受けて、クロマチン沈降法によってプロモーター解析を行なったところ、REV-ERB α がこれら遺伝子の転写開始点近傍にある制御領域に直接結合することが確認された。

以上の知見を総合すると、子宮内膜間質細胞の分化により細胞時計の振動低下に伴って発生する *Rev-erb α* 遺伝子の発現減少が、成長因子遺伝子 (*Gdf10*、*Gdf15*) や受容体遺伝子 (*Notch1*、*Notch4*) などの遺伝子の発現誘導に変化をもたらすものと結論された。

以上要するに、ラット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、細胞時計の振動低下が成長因子や受容体の遺伝子発現に変化をもたらすという機構が存在することを解明し、細胞時計と妊娠成立が密接に関係するという新たな知見を提供したものであり、繁殖生理学、特に時間生殖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。