

論文内容の要旨

論文提出者氏名 片岡 恒

論文題目

Peroxisome-proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α -mediated pathway as a possible therapeutic target in endometriosis.

論文内容の要旨

子宮内膜症は子宮内膜様組織が卵巣や腹膜、骨盤深部など子宮内膜以外の部位で生着・増殖する疾患である。その罹患率は性生殖系女性の約10%を占め、不妊や慢性骨盤痛など女性の生活の質を著しく低下させる。子宮内膜症の詳細な病因や増悪のメカニズムは明らかではないが、病巣局所での異常高発現したアロマトラーゼによるエストロゲン生合成や、腹水中や局所的に高発現したサイトカインによる炎症の促進、アポトーシス抵抗性など様々な調節因子の発現やそれらが及ぼす作用が複雑なネットワークを形成し病態の増悪に寄与していると考えられている。しかしながらこれらの制御機構についての詳細な理解は進んでいない。

われわれはこれまでに、転写共役因子である peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) coactivator 1 alpha (PGC-1 α)が子宮内膜症組織において高発現していること、さらに子宮内膜症間質細胞のアロマトラーゼ発現や機能に対してアロマトラーゼプロモーター IIの上流に存在する nuclear receptor half site (NRHS)を介して増加的な効果をもたらすことを見出した。しかしながら、子宮内膜症の進展・増悪に関係するその他の因子に対する PGC-1 α の働きは不明である。そこで本研究では子宮内膜症の病態形成において PGC-1 α が及ぼす影響を明らかにし、PGC-1 α を介する系が治療ターゲットとして有用であるかどうかを検討することを目的とした。

当研究室で確立されたプロトコルに従って卵巣子宮内膜症性間質細胞、子宮内膜間質細胞(以下子宮内膜症間質細胞、子宮内膜間質細胞)を分離・培養し実験に使用した。

まず、WST-8 アッセイにより PGC-1 α が細胞増殖に及ぼす影響を検討した。細胞増殖は PGC-1 α を強発現した子宮内膜症間質細胞において有意に増加したが子宮内膜間質細胞ではみられなかった。PGC-1 α に対する siRNA を用いて knockdown 効果を検討すると、子宮内膜症間質細胞では細胞増殖が有意に抑制されたが子宮内膜間質細胞では変化がみられなかった。

PGC-1 α を直接制御するリガンドは現時点で知られていない。ChIP アッセイにより PGC-1 α が NRHS、すなわち 5'-AGGTCA-3'配列領域に結合することを見出した。そこで 5'-AGGTCA-3'配列を含むシフェラーゼレポーターアッセイシステムを構築し、PGC-1 α が及ぼす転写活性抑制化合物の検索を行った。そのうち、HX531 (RXR α antagonist) は子

宮内膜症間質細胞において PGC-1 α に対する転写阻害効果を示した。また、免疫組織化学染色による RXR α 発現の検討では、子宮内膜症組織においては正常子宮内膜組織と比べて核内だけでなく細胞質においても有意に高発現していることが確認された。これは PGC-1 α の細胞内局在とほぼ一致する。

HX531 による細胞増殖作用に与える影響を検討したところ、HX531 は子宮内膜症間質細胞において PGC-1 α による細胞増殖効果を濃度依存的に抑制したが子宮内膜間質細胞では変化しなかった。

次にアロマトラーゼ mRNA 発現に対する HX531 の影響を検討したところ、HX531 は PGC-1 α によるアロマトラーゼ mRNA の発現促進効果を有意に抑制した。組織でのアロマトラーゼ発現はエクソン I の選択とそのプロモーターの刺激により制御されている。子宮内膜症はエクソン I の中でも主にプロモーター I.3 と II を利用することが知られている。エクソン I 特異的 RT-PCR により HX531 は子宮内膜症間質細胞において PGC-1 α により発現が増強した I.3 と II の発現を阻害することが明らかとなった。

次に子宮内膜症における炎症性サイトカインに対する PGC-1 α の効果を検討した。PGC-1 α は IL-6 および IL-8 の発現を上昇させたが、HX531 は PGC-1 α によるそれらの増強効果を減弱させた。ウェスタンブロットによる検討では PGC-1 α が子宮内膜症間質細胞において I κ B のリン酸化を誘導すること、さらに HX531 が PGC-1 α によって誘導された I κ B のリン酸化を阻害することが明らかとなった。

さらに抗アポトーシス蛋白である survivin や XIAP に対する PGC-1 α の効果も検討した。survivin および XIAP の mRNA 発現レベルは PGC-1 α の強発現によって増加した。さらに HX531 は PGC-1 α によって発現が増強した survivin の発現を抑制したが XIAP への抑制効果はみられなかった。

本研究により、PGC-1 α は、アロマトラーゼを介した局所エストロゲン生合成だけでなく、細胞増殖や局所の炎症、アポトーシス抵抗性においても重要な役割を果たすことが示された。さらに RXR α antagonist である HX531 は、PGC-1 α によってもたらされた細胞増殖だけでなくアロマトラーゼや炎症性サイトカイン、さらに抗アポトーシス蛋白である survivin の発現を抑制することが明らかとなった。これらの結果から PGC-1 α は子宮内膜症の発症や維持において重要な役割を果たし、PGC-1 α を介する系は子宮内膜症の新規治療として期待できる。