

論文内容要旨

論文題目

核内受容体転写補助因子 Ncoa6 の子宮内膜における機能について

責任講座：産科婦人科学 講座

氏 名： 渡邊 憲和

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】子宮内膜はエストロゲンとプロゲステロンの協調作用により調節され、その作用が適切に調節されないと子宮体癌の発症や着床障害の原因となりうる。核内受容体の転写補助因子である Nuclear receptor coactivator-6 (Ncoa6)は、エストロゲン受容体 α (estrogen receptor α , ER α) の転写活性化因子であり、かつ、プロテアソーム経路を介して ER α の発現を抑制する多様な機能を持つ。マウスでは、子宮特異的に Ncoa6 発現を抑制すると、ER α の発現亢進に伴うエストロゲン感受性亢進のため着床障害を生じる。また、エストロゲン感受性の亢進は子宮体癌の発症にも関与する。しかし、ヒト子宮内膜における Ncoa6 の役割は未だ不明である。

【目的】子宮内膜上皮細胞から発生する子宮体癌と、胚着床に必須である内膜間質細胞の脱落膜化に注目し、Ncoa6 のヒト子宮内膜における機能について明らかとすることを目的とした。

【方法】当院で治療を行った子宮体癌症例のうち、類内膜癌の組織について、免疫組織化学染色で Ncoa6 の発現を検討した。また Ncoa6 の発現と各症例の病理学的、臨床的特徴の関連を検討した。次に当院で良性疾患のため摘出した子宮から、子宮内膜間質細胞 (HESCs) を分離培養し、medroxyprogesterone (MPA) および cAMP を投与して *in vitro* で脱落膜化を誘導した。HESCs の Ncoa6 発現は免疫染色にて確認し、その発現を siRNA にて knock down (KD) した。脱落膜化へ与える影響は、細胞形態および脱落膜化に関与する mRNA と蛋白の発現を比較し検討した。また、HESCs の Ncoa6 の KD による遺伝子発現への影響を mRNA シークエンスにより検討した。研究は、本大学の倫理委員会の承認を得て行った。

【結果】子宮体部類内膜癌において、組織学的 Grade が高く低分化であるほど Ncoa6 の発現は低下していた。また、Ncoa6 発現の低下は病期の進行との関連を認めた。HESCs の脱落膜化においては、Ncoa6 の KD により、HESCs の脱落膜化に伴う形態変化が抑制された。一方、脱落膜化刺激を加えた細胞において、Ncoa6 の KD は、脱落膜化マーカーである *IGFBP1* と *PRL* を増加させ、形態変化とは逆の現象を示した。Ncoa6 の KD により、HESCs の ER α 発現が増加し、その下流の脱落膜化に関与するシグナルである *FOXO1*, *WNT4* の mRNA も増加した。mRNA シークエンスでは、HESCs の Ncoa6 KD により actin fiber に関与する遺伝子群の発現が有意に減少していた。Ncoa6 を KD し脱落膜化刺激を加えた HESCs では、免疫染色で actin fiber の異常分布が確認された。

【結論】子宮内膜上皮から発生する子宮体部類内膜癌において、Ncoa6 の発現低下は癌の進行との関連が示唆された。また、Ncoa6 の KD は、ヒト子宮内膜間質細胞において、脱落膜化に関するマーカーを上昇させる一方で、形態学的変化を抑制するという相反する結果が得られた。これは、Ncoa6 の抑制がエストロゲン活性を上昇させマーカー発現に関するシグナルが強調される一方、actin fiber に関連する遺伝子発現を抑制し形態変化に異常をきたすためと考えられた。Ncoa6 はヒト子宮内膜において、子宮内膜上皮細胞由来の癌の進行、および間質細胞の脱落膜化に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

2019年8月16日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：渡邊 憲和

論文題目：核内受容体転写補助因子 Ncoa6 の子宮内膜における機能について

審査委員：主審査委員 三井 哲夫

副審査委員 北中 千史

副審査委員 土谷 順彦

審査終了日：2019年8月6日

【 論文審査結果要旨 】

核内受容体の転写補助因子のひとつである Ncoa6 は甲状腺ホルモン、レチノイン酸、ステロイドホルモンの核内受容体転写補助因子として、また $NF\kappa\beta$ 、*c-Jun*、*Rb* 等増殖活性また抑制シグナルの遺伝子転写にも関与することが知られている。子宮内膜におけるこの Ncoa6 の機能については、エストロゲン受容体 ($ER\alpha$) の転写活性化因子である一方で、プロテアソーム経路を介しては $ER\alpha$ の分解に関与することが報告されている。またマウス子宮で特異的に Ncoa6 の発現を抑制すると $ER\alpha$ の発現亢進に伴い、胚着床期には抑制されるべき $ER\alpha$ のエストロゲン感受性亢進の為に着床障害を生じると報告され、子宮内膜周期や胚着床における Ncoa6 の重要な役割が示唆されている。これまでヒト子宮内膜において、この Ncoa6 の機能についての詳細な解析はない。渡邊氏はこの Ncoa6 のヒト子宮内膜における機能の検討として、子宮体がん(類内膜がん)の様々な病態における発現、胚着床機能に注目し内膜での発現、更に内膜間質細胞の脱落膜化刺激下の蛋白と関連シグナル遺伝子の発現、また actin 線維の変化の検討を行った。

類内膜がんでは Ncoa6 の発現低下は臨床病期の進行、脈管侵襲と相関していた。また、ヒト子宮内膜の腺上皮細胞では、月経周期、有経・閉経関係なく Ncoa6 陽性であった。周期との関連では、内膜増殖期で強い発現がみられる一方、分泌期の基底層で発現が低下していた。*in vitro* の間質細胞培養系では、細胞質・核内にその蛋白発現が確認され、特異的 siRNA で発現は抑制された。*in vitro* で脱落膜化の誘導を行った場合、siRNA による Ncoa6 ノックダウン (KD) で、脱落膜化で本来起こる形態変化が抑制されること、*IGFBP1* と *PRL* の遺伝子発現の増加が観られること、またこの KD で間質細胞における $ER\alpha$ の発現の増加、脱落膜化に関与する *FOXO1*、*WNT4* の遺伝子発現が増加することを見出した。加えてこの系の細胞構造としての機能的意義の観察として、Ncoa6 KD 間質細胞の脱落膜化刺激に伴い、細胞質の actin fiber が異常な分布を示すことを見出した。

こうした一連の成果は、Ncoa6 の子宮内膜機能における重要な役割を具体的に示すヒトで初めての検討で有りその重要性は高い。一方で本研究は、得られた検討を一元的に解釈するのに更なる検討を要することが指摘され、また論文冊子体については、図や表について不必要な記載、正確な統計解釈に基づく記載、全体構成の仕方に改訂を入れることが必要と指摘された。この改訂を前提とし、審査委員会は本研究が学位(医学)の授与に値すると判断した。

(1,200字以内)