

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 原 口 広 史

本研究は妊娠の始まりの現象といえる着床のメカニズムを明らかにするため、胚が着床しにくい子宮頸部と着床する子宮体部を比較することで、着床に関わる重要な因子を抽出し、プロゲステロン(P₄)・シグナリングとの関わりを検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 着床期におけるマウスおよびヒトについて、細胞増殖マーカーである Ki67 の免疫染色の解析の結果、上皮細胞の増殖が消失し分化を開始することと間質細胞の増殖が亢進することが子宮体部の着床能の指標となること、子宮頸部では着床期に細胞増殖の変化が起こらず着床能が獲得できないことが示唆された。また、P₄受容体(PR)のアンタゴニストである RU486 の投与実験および子宮の P₄ 抵抗性を示すマウスモデルで知られる *Fkbp52* 欠損マウスを用いた実験の結果、着床期における子宮体部の細胞増殖の変化は P₄-PR シグナルで調節されることが示唆された。
2. 着床期におけるマウスについて、PR の免疫染色およびウェスタンブロットティングの解析の結果、子宮頸部では子宮体部に比べ、PR の発現が有意に低下していることを示した。また、P₄-PR シグナルの下流の P₄ 応答遺伝子について、定量的 PCR および *in situ hybridization* の解析から、子宮頸部では子宮体部に比べ、P₄ 応答遺伝子の発現が有意に低下していることを示した。一方、定量的 PCR による mRNA レベルでの PR の発現解析では、子宮体部と子宮頸部で差がないことを示した。
3. 子宮筋で P₄ の代謝酵素を亢進させ P₄-PR シグナルを低下させることで知られる *microRNA200a(miR-200a)* について、定量的 PCR および *in situ hybridization* の解析から、着床期のマウスおよびヒトにおいて、子宮頸部で、子宮体部に比べ *miR-200a* の発現が有意に上昇していることを示した。
4. *miR-200a* を導入した細胞株のウェスタンブロットティングにより、*miR-200a* が PR の発現を低下させることが示された。Luciferase reporter assay により、PR が *miR-200a* の直接の標的であることが示唆された。以上のことから、子宮頸部では、高発現の *miR-200a* によって P₄ シグナルが低下し、子宮体部のような着床期の細胞の分化・増殖の変化が起こらず、着床能を獲得できない可能性が示された。
5. 着床期におけるマウスについて、*miR-200a* の定量的 PCR の解析の結果、着床期に *miR-200a* の発現が有意に低下することが示された。以上のことから、子宮体部では着床期に *miR-200a* が低下して P₄ シグナルが増強され、細胞の分化・増殖の状態が変化し、着床能を獲得することが示唆された。

以上、本論文は胚が着床しにくい子宮頸部と着床する子宮体部を比較することで、着床期に P₄-PR シグナルに作用し、着床能に関わる *miR-200a* の存在 を明らかにした。本研究はこれまで詳細のわからなかった、着床の分子的メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。