

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 白根 晃

ヒトの着床期である *implantation window* において転写因子が着床関連遺伝子の発現制御に重要であることが明らかとなっており、本研究では NAD 依存性 class III ヒストン脱アセチル化酵素である SIRT1 と着床との関連について検討した。更に、basic Helix-Loop-Helix の構造を有する転写因子である HAND2 のエストロゲン受容体 ER に対する分子制御機構についての解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. SIRT1 は接着分子 E-cadherin のプロモーター領域に何らかの因子を介し結合することにより、E-cadherin 発現を正に制御することを、クロマチン免疫沈降法およびルシフェラーゼアッセイによって示した。SIRT1 の強制発現により E-cadherin 発現が増加すること、内在性 SIRT1 の siRNA 法によるノックダウンにより E-cadherin 発現が減少することをウェスタンブロッティング法にて示した。同時に SIRT1 活性を促進する Resveratrol および AICAR により E-cadherin 発現は増加し、SIRT1 活性を抑制する Sirtinol および Nicotinamide により E-cadherin 発現が減少することを示した。

2. 着床モデルとして絨毛癌細胞株の細胞塊 *spheroid* (胚モデル) と子宮内膜癌細胞株のシート (子宮内膜上皮モデル) の共培養系を用いて、SIRT1 発現および活性と着床能 (細胞塊の接着数) との相関を検討したところ、両者は正の相関を示した。

3. HAND2 は ER α と細胞内において内在性複合体を形成することを免疫沈降法で示した。また ER α の AF-1 領域と HAND2 が直接結合することを、GST pull down 法にて示した。

4. ER α のエストロゲン依存性転写活性化能は HAND2 の強制発現により用量依存性に抑制された。HAND2 は ER α の AF-1 活性を抑制したが、ER α の AF-2 活性を抑制しなかった。ウェスタンブロッティング法により HAND2 の強制発現により ER α の発現が減少し、一方でユビキチンタンパクの亢進をみとめたことから、HAND2 の発現が ER α のユビキチン化及び分解に関与している可能性が示唆された。

以上、本論文は SIRT1 が細胞接着分子 E-cadherin プロモーター上に存在することで、E-cadherin 発現を調節する新規機能を持つことを明らかにした。SIRT1 を活性化させる、または発現を促進すると、E-cadherin の発現誘導を介した着床促進効果がある可能性を示し、不妊症の一因と考えられる着床不全の新規の分子標的治療に寄与する可能性が考えられた。

更に、HAND2 が ER α と細胞内で複合体を形成し、ER α AF-1 領域と直接結合することで ER α のエストロゲン依存性転写活性を抑制していることを明らかにした。HAND2 はユビキチン-プロテアソーム系を誘導することで ER α の分解を促進し、ER α による子宮内膜の増殖作用を抑制し、脱落膜化という分化機能を促進している可能性が示唆された。

これらの転写因子の分子メカニズムは産婦人科領域における病態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。