

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09645

研究課題名(和文) 転写因子WT1による子宮内膜間質細胞の脱落膜化と脂質代謝制御機構の解明

研究課題名(英文) Transcription factor WT1-mediated decidualization of endometrial stromal cells and regulation of lipid metabolism

研究代表者

竹谷 俊明 (Taketani, Toshiaki)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70464328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：Wilms Tumor1 (WT1) は、ESCの脱落膜化を制御している。マイクロアレイ解析によると、WT1は、脱落膜化過程において脂質代謝に関わる遺伝子を多く制御していることがわかった。また、脱落膜化により細胞内の脂質蓄積が増加すること、これにWT1が関与していることを見出し、またWT1の下流でこれに関与する因子としてVLDLRを同定した。さらに、WT1は細胞内へのグルコース取り込みに関与しており、WT1の下流でグルコース取り込みを制御する因子としてGLUT1を同定した。以上のことから、WT1は、ESCの脱落膜化における脂質およびグルコース代謝を制御する転写因子であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、転写因子WT1がヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化において脂質代謝制御のみならずグルコース代謝をも制御していることを世界で初めて同定した。着床過程において受精卵は脱落膜細胞層に浸潤し、この際に脱落膜化細胞は受精卵に栄養を渡す栄養供給源となるとも言われており、これは未だ十分に証明されていない着床機構の解明に大きく貢献するものであり価値のあることであると考えている。

研究成果の概要(英文)：Wilms tumor 1 (WT1) regulates decidualization of human endometrial stromal cells (ESCs). Microarray analysis revealed that WT1 regulates many genes involved in lipid transport during decidualization. WT1 is involved in lipid accumulation (LA) during decidualization, and we identified very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) as a factor downstream of WT1 that regulated. Furthermore, WT1 is involved in glucose uptake, and we identified glucose uptake by up-regulating glucose transporter 1 (GLUT1) as a factor downstream of WT1 that regulates glucose uptake. Taken together, WT1 is a transcription factor regulating lipid and glucose metabolism during decidualization in ESCs.

研究分野：生殖内分泌

キーワード：子宮内膜間質細胞 WT1 脂質蓄積 VLDLR 糖取り込み

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

WT1 は腎臓や子宮といった泌尿生殖器系臓器の発生を制御する転写因子であることが知られている。また、白血病細胞や乳がん細胞においては細胞増殖を規定する転写因子であることも報告されている。しかし、ヒト子宮における機能については未知のままであった。子宮内膜間質細胞は、卵巣からのプロゲステロンの影響により脱落膜化間質細胞に分化し、様々な遺伝子発現変化を起こし着床に寄与している。これらの遺伝子発現変化は数多くの転写因子により調節されていることが報告されている。我々は、WT1 にはこの子宮内膜間質細胞の脱落膜を調節する役割があること、またその発現は脱落膜化において極めて重要な転写因子として考えられている C/EBPβ により制御されていることを初めて報告した (Endocrinology 2017)。さらに、ゲノムワイド発現解析を行うことで、WT1 は多くの脱落膜化関連遺伝子の発現を調節している転写因子であることが分かった。これらの遺伝子の中には、細胞内への脂質取り込みに関連する遺伝子が特に多く含まれていたため、WT1 は脱落膜化における脂質代謝制御に関連している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、脱落膜化における細胞機能変化、特に細胞内への脂質蓄積変化に WT1 が関与しているかを証明することと目的とした。

3. 研究の方法

患者の同意を得た上で、増殖期後期の子宮内膜から間質細胞を分離・培養し、以下の実験に供した。脱落膜化の誘導は、子宮内膜間質細胞を cAMP (0.5 mM) で 4 日間培養することで行う。

(1) 脱落膜化による子宮内膜間質細胞内の脂質蓄積量の変化

脱落膜化過程において子宮内膜間質細胞内の脂質蓄積が上昇するかを脂肪滴の蛍光染色色素である BODIPY を用いた蛍光免疫染色で調べた。また、ELISA 法により細胞内トリグリセリド量の定量化を行った。

(2) 脱落膜化による子宮内膜間質細胞内の脂質代謝能の変化

細胞内の脂質蓄積量の増加は、細胞内への脂質取り込み増加だけでなく、脂質合成能の増加や、脂質分解能の低下によっても起こる。脱落膜化によりこれらが変化しないかを検討した。

(3) WT1 による脂質蓄積量、脂質代謝能への影響

子宮内膜間質細胞において WT1 の siRNA を用いて発現をノックダウンさせ、WT1 の細胞内脂質蓄積量の変化を調べた。

(4) 脱落膜化における細胞内脂質蓄積に関与する WT1 制御下遺伝子の同定

マイクロアレイにより抽出された、WT1 制御下にある脂質制御関連遺伝子について遺伝の解析を行った。

(5) WT1 と糖代謝の関係

我々はこれまで脱落膜化過程において脂質のみならず細胞内グルコース取り込みも上昇することを報告している。そこで、WT1 とグルコース取り込みの関連について調べた。

4. 研究成果

脱落膜化細胞内への脂質蓄積の変化を脂肪染色と細胞内 triglyceride 濃度変化で調べたところ、脱落膜化過程では細胞内の脂質蓄積が増加することが分かった。尚、脱落膜化により脂肪合

成能 (GPDH 活性) と脂肪分解能 (細胞内グリセロール濃度) は変化しなかったことから、脱落膜化における脂質蓄積増加は細胞内への脂質取り込み上昇によることが明らかとなった。この脂質蓄積に WT1 が関与しているかを調べたところ、WT1 をノックダウンすると脱落膜化で増加する脂質蓄積は抑制された。以上より、WT1 は脱落膜化過程において細胞内脂質蓄積を促進する転写因子であることが分かった。しかし、WT1 は転写因子であるので直接脂質蓄積を制御するわけではない。そこで、マイクロアレイデータをもとに WT1 制御下で脂質蓄積に直接関与する可能性のある遺伝子を検索し、脂質トランスポーターである very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) に着目した。VLDLR のノックダウンにより、脱落膜化刺激により増加する脂質蓄積は抑制された。すなわち、VLDLR は脱落膜化における脂質蓄積を制御する重要なトランスポーターであることが明らかとなった。また、この VLDLR 発現は、WT1 が promoter 領域に結合することで上昇させていることも明らかにした。このように、WT1 の脱落膜化における重要性を証明するとともに、脱落膜化における脂質代謝の調節機構を明らかにするに至った。また、WT1 と、脱落膜化におけるグルコース取り込みについて調べた。WT1 をノック

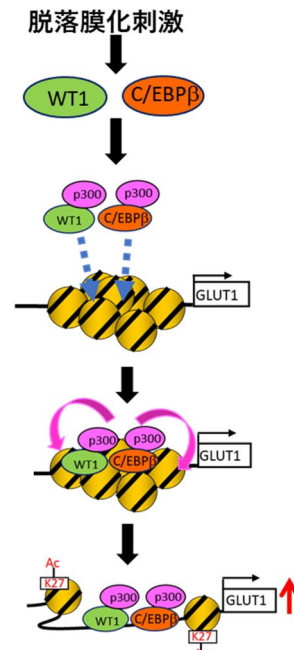


図1：WT1とC/EBPβによるGLUT1発現上昇機構

ダウンすることで、脂質のみならず、グルコース取り込みも抑制された。さらに、WT1 の下流でグルコース取り込みを制御する因子として glucose transporter 1 (GLUT1) に着目した。脱落膜化で GLUT1 発現は上昇するが、WT1 をノックダウンすることで GLUT1 発現が抑制された。すなわち、WT1 は GLUT1 発現を介して脱落膜化におけるグルコース取り込みに貢献していることがわかった。また、この GLUT1 発現上昇は、WT1 と前述の C/EBPβ がクロマチン構造を変換させる pioneer factor としてはたらく H3K27ac 誘導を行うことで上昇させていることも分かった(図1)。このように、我々が独自に着目した WT1 という転写因子は、脱落膜化において C/EBPβ により制御され、脂質・糖代謝を制御する重要な転写因子であり(図2)、さらには pioneer factor としての側面も持っていることも明らかとなった。

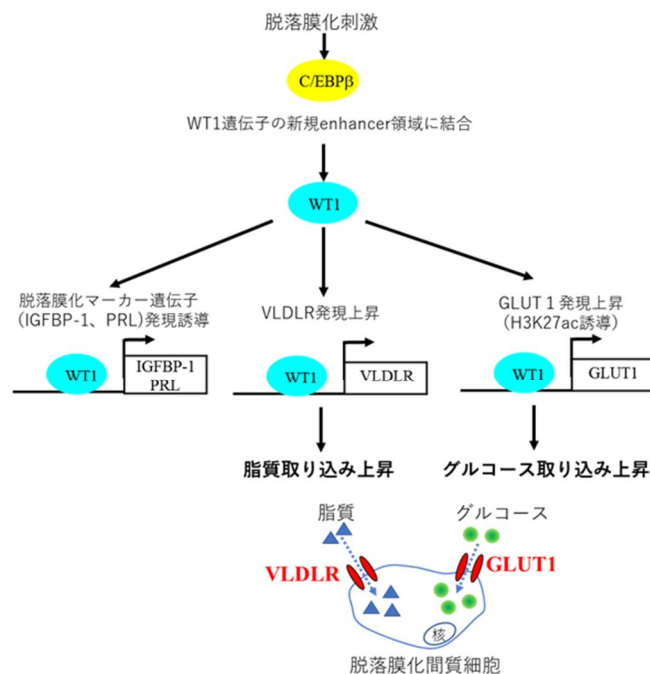


図2：脱落膜化におけるWT1の役割

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tamura Isao, Fujimura Taishi, Doi-Tanaka Yumiko, Takagi Haruka, Shirafuta Yuichiro, Kajimura Takuya, Mihara Yumiko, Maekawa Ryo, Taketani Toshiaki, Sato Shun, Tamura Hiroshi, Sugino Norihiro	4. 巻 297
2. 論文標題 The essential glucose transporter GLUT1 is epigenetically upregulated by C/EBP and WT1 during decidualization of the endometrium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101150 ~ 101150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.101150	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takagi Haruka, Tamura Isao, Fujimura Taishi, Doi-Tanaka Yumiko, Shirafuta Yuichiro, Mihara Yumiko, Maekawa Ryo, Taketani Toshiaki, Sato Shun, Tamura Hiroshi, Sugino Norihiro	4. 巻 298
2. 論文標題 Transcriptional coactivator PGC-1 contributes to decidualization by forming a histone-modifying complex with C/EBP and p300	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101874 ~ 101874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.101874	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tamura Isao, Maekawa Ryo, Jozaki Kosuke, Ohkawa Yasuyuki, Takagi Haruka, Doi-Tanaka Yumiko, Shirafuta Yuichiro, Mihara Yumiko, Taketani Toshiaki, Sato Shun, Tamura Hiroshi, Sugino Norihiro	4. 巻 520
2. 論文標題 Transcription factor C/EBP induces genome-wide H3K27ac and upregulates gene expression during decidualization of human endometrial stromal cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Endocrinology	6. 最初と最後の頁 111085 ~ 111085
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mce.2020.111085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tamura Isao, Takagi Haruka, Doi-Tanaka Yumiko, Shirafuta Yuichiro, Mihara Yumiko, Shinagawa Masahiro, Maekawa Ryo, Taketani Toshiaki, Sato Shun, Tamura Hiroshi, Sugino Norihiro	4. 巻 295
2. 論文標題 Wilms tumor 1 regulates lipid accumulation in human endometrial stromal cells during decidualization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 4673 ~ 4683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.012841	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村 功、藤村大志、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由実子、前川 亮、竹谷俊明、佐藤 俊、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 脱落膜化に不可欠な糖取り込みを制御するGLUT1は転写因子C/EBP β とWT1によりepigeneticに制御される
3. 学会等名 第26回日本生殖内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Isao Tamura, Taishi Fujimura, Yumiko Doi-Tanaka, Haruka Takagi, Yuichiro Shirafuta, Yumiko Mihara, Ryo Maekawa, Toshiaki Taketani, Hiroshi Tamura, Norihiro Sugino
2. 発表標題 Novel function of Wilms tumor 1 in the regulation of lipid accumulation in human endometrial stromal cells during decidualization
3. 学会等名 第73回日本産婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村 功、藤村 大志、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由美子、前川 亮、竹谷俊明、佐藤 俊、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 転写因子Wilms tumor 1 (WT1)は子宮内膜間質細胞脱落膜化における脂質蓄積を制御する
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中結美子、田村 功、藤村大志、白蓋雄一郎 三原由実子、竹谷俊明、田村博史、嶋村勝典、高崎彰久、杉野法広
2. 発表標題 不妊症患者における子宮内膜脱落膜化不全について
3. 学会等名 第39回日本受精着床学会総会・学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	田村 功、藤村 大志、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由美子、前川 亮、竹谷俊明、佐藤 俊、田村博史、杉野法広
2. 発表標題	転写因子Wilms tumor 1 (WT1)は子宮内膜間質細胞脱落膜化における脂質蓄積を制御する
3. 学会等名	第66回日本生殖医学会学術講演会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	田村 功、藤村 大志、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由美子、前川 亮、竹谷俊明、佐藤 俊、田村博史、杉野法広
2. 発表標題	転写因子Wilms tumor 1 (WT1)は子宮内膜間質細胞脱落膜化における脂質蓄積を制御する
3. 学会等名	第114回 日本繁殖生物学会大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	田村 功、高木遥香、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由美子、前川 亮、竹谷俊明、佐藤 俊、田村博史、杉野法広
2. 発表標題	転写因子Wilms tumor 1 (WT1)は子宮内膜間質細胞脱落膜化における脂質蓄積を制御する
3. 学会等名	第25回日本生殖内分泌学会学術集会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Isao Tamura, Ryo Maekawa, Haruka Takagi, Natsuko Shimizu, Yumiko Tanaka-Doi, Yuichiro Shirafuta, Yumiko Mihara, Toshiaki Taketani, Hiroshi Tamura, Norihiro Sugino
2. 発表標題	C/EBP a transcription factor, genome-widely regulates gene expression through H3K27ac modifications during decidualization of human endometrial stromal cells (ESCs)
3. 学会等名	第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 田村 功、前川 亮、田中 結美子、高木 遥香、白蓋雄一郎、三原由実子、竹谷俊明、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化における転写因子C/EBP を介したヒストン修飾による遺伝子発現制御機構
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木遥香、田村功、清水奈都子、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由実子、品川征大、前川亮、竹谷俊明、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 転写共役因子PGC-1 はC/EBP 、p300と転写複合体を形成しエピゲノム変化を誘導することで脱落膜化に貢献する
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木遥香、田村功、藤村大志、清水奈都子、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由実子、前川亮、竹谷俊明、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 転写共役因子PGC-1 はC/EBP 、p300と転写複合体を形成しエピゲノム変化を誘導することで脱落膜化に貢献する
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木遥香、田村功、藤村大志、清水奈都子、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由実子、前川亮、竹谷俊明、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 転写共役因子PGC-1aはC/EBP 、p300と転写複合体を形成しエピゲノム変化を誘導することで脱落膜化に貢献する
3. 学会等名 第65回日本生殖医学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木遥香、田村功、藤村大志、清水奈都子、田中結美子、白蓋雄一郎、三原由実子、前川亮、竹谷俊明、田村博史、杉野法広
2. 発表標題 転写共役因子PGC-1αはC/EBP β 、p300と転写複合体を形成しエピゲノム変化を誘導することで脱着膜化に貢献する
3. 学会等名 第113回 日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------