

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：平成 23 年度 ～平成 24 年度

課題番号：23791815

研究課題名（和文） ヒト卵巣における FOXL2 の機能解析

研究課題名（英文） The analysis of physiological function of FOXL2 in human ovary.

研究代表者

大石 元 (Oishi Hajime)

東京大学医学部附属病院・助教

研究者番号：40401088

研究成果の概要（和文）： FOXL2 のヒト卵巣顆粒膜細胞での生理的役割

転写因子 FOXL2 は早発卵巣不全患者から同定された遺伝子であり、顆粒膜細胞種でも異常が見つかっている。FOXL2 は顆粒膜細胞に主に発現しており、卵胞発育だけでなくエストロゲンおよびプロゲステロンの産生に関与していることが分かっている。当研究では FOXL2 による顆粒膜細胞での卵胞発育および男性ステロイド合成の調節機構を明らかにすることを試みた。その結果性ステロイド合成酵素および卵胞発育関連遺伝子の一部に FOXL2 の標的遺伝子を見出し、そのプロモーター上で FOXL2 が転写因子として機能している可能性が示唆された。この結果により FOXL2 の機能が卵巣の機能調節に関連している可能性が示された。

研究成果の概要（英文）： The physiological role of FOXL2 in human granulosa and luteal cells

FOXL2, a forkhead transcription factor gene, have recently been demonstrated to be causative to granulosa cell tumor or primary ovarian failure. FOXL2 is expressed mostly in pericuclear and ovarian granulosa cells but its function and role remain unknown. Herein we investigated the physiological role of FOXL2 in folliculogenesis and steroidogenesis by ovarian granulosa cells. We clarified the target genes of FOXL2 that are related to sex steroidogenesis and folliculogenesis and FOXL2 is shown to play as a transcription factor in target gene promoters. Thus, FOXL2 is shown to be crucial in the regulation of ovarian function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：生殖医学、FOXL2、卵胞発育、ステロイド合成

1. 研究開始当初の背景

転写因子 FOXL2 は突然変異により早期卵巣不全 (Premature ovarian failure:POF) を引き起こす常染色体遺伝子として同定された。

家族性の POF を呈し頭蓋顔面異常と眼瞼異常を呈する BPES1 型症候群では、全ての患者で FOXL2 のヘテロ型の変異を認められている

(Crisponi et al. Nature Genetics 2001)。また、発生初期段階では FOXL2 は雌性線特異的に発現し性決定に関与しており、完全欠失した場合は雌から雄への性転換を認めることが知られている。最近、成熟メスマウスにて FOXL2 遺伝子を卵巣特異的に発現抑制したところ、卵巣が精巣へと変化し、成熟した性腺でも性分化可塑性があることと、FOXL2 は生涯を通して卵巣の「精巢化」を抑制していることが明らかになった (Uhlenhaut et al. Cell 2009)。さらに、成人型顆粒膜細胞腫にて FOXL2 の突然変異体が特異的に認められており (Shah et al. NEJM 2009)、FOXL2 は卵巣顆粒膜細胞における増殖抑制因子として働いている可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

転写因子 FOXL2 がヒト卵巣顆粒膜細胞でのステロイド分泌の制御および増殖をどのように調節しているかを明らかにするものである。 ヒト卵巣顆粒膜細胞の初代培養系および顆粒膜細胞腫細胞株を用いて、ヒト卵巣顆粒膜細胞での FOXL2 による転写制御機構を解明する。

- 1) ヒト卵巣顆粒膜細胞初代培養系または顆粒膜細胞腫の細胞株を用いて、FOXL2 を強制発現あるいは siRNA 法によるノックダウンした場合のステロイド合成および細胞の増殖分化に対する影響を検証する。
- 2) FOXL2 と相互作用する転写因子を探索し、標的遺伝子上での転写制御機構を解明する。

3. 研究の方法

1. FOXL2 によるヒト顆粒膜細胞での性ステロイド合成調節機構の解明
2. FOXL2 によるヒト顆粒膜細胞の増殖制御機構の解明
3. 卵巣の発育に伴う FOXL2 の顆粒膜細胞での発現パターンの変化の解析
4. 顆粒膜細胞内で FOXL2 と相互作用する未知の転写因子の同定とその機能の解析の4つを研究の軸として行う。

本研究では、性分化に重要な役割を果たし卵巣の機能維持に重要な働きをする FOXL2 をターゲットとして、ヒト顆粒膜細胞における機能を解析する。また、FOXL2 の関与する新しい転写調節機構を明らかにし、生理機能を明らかにする。

4. 研究成果

siRNAによりFOXL2の発現を抑制する系を確立し、ステロイドの測定系(EIA法)での測定を開始した。卵巣顆粒膜細胞におけるFOXL2と抗加齢遺伝子SIRT1のアロマターゼ発現に対する協調効果を明らかにし、SIRT1の抑制因子であるDBC1とFOXL2の相互作用を明らかにした。またFOXL2は免疫組織染色にてヒト卵巣では顆粒膜細胞に発現が限定しており、黄体化によりその発現が変化する可能性があることが明らかとなった。また、FOXL2の関与する新しい転写調節機構をステロイド合成酵素のプロモーターアッセイで明らかにした。**またFOXL2の標的遺伝子として卵巣発育にたざさわるいくつかの因子を同定し、そのプロモーター上でのFOXL2の役割を解析中である。** FOXL2の転写制御により様々な卵巣発育関連因子あるいはステロイド合成酵素の発現が調節されている可能性が明らかとなった。今後さらにこれらのメカニズムを解析することにより、早発卵巣不全だけでなく、卵巣発育および性ステロイド合成不全である多嚢胞性卵巣症候群などの病態解明および治療に役立つものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1: The human gonadotropin-inhibitory hormone ortholog RFamide-related peptide-3 suppresses gonadotropin-induced progesterone production in human granulosa cells.

Oishi H, Klausen C, Bentley GE, Osugi T, Tsutsui K, Gilks CB, Yano T, Leung PC. Endocrinology. 153(7): 3435-45: 2012

2: Regulation of SIRT1 determines initial step of endometrial receptivity by controlling E-cadherin expression.

Shirane A, Wada-Hiraike O, Tanikawa M, Seiki T, Hiraike H, Miyamoto Y, Sone K, Hirano M, Oishi H, Oda K, Kawana K, Nakagawa S, Osuga Y, Fujii T, Yano T, Kozuma S, Taketani Y.

Biochem Biophys Res Commun. 424(3): 604-10: 2012

3: Spontaneous cessation and recurrence of massive uterine bleeding can occur in uterine artery pseudoaneurysm after laparoscopically

assisted myomectomy.

Oishi H, Wada-Hiraike O, Osuga Y, Yano T, Kozuma S, Taketani Y. J Obstet Gynaecol Res.

2013 Feb;39(2):598-602

4: Resveratrol promotes expression of SIRT1 and StAR in rat ovarian granulosa cells: an implicative role of SIRT1 in the ovary.

Morita Y, Wada-Hiraike O, Yano T, Shirane A, Hirano M, Hiraike H, Koyama S, Oishi H, Yoshino O, Miyamoto Y, Sone K, Oda K, Nakagawa S, Tsutsui K, Taketani Y.

Reprod Biol Endocrinol. 23: 10-14: 2012

5: ヒト顆粒膜細胞における GnIH の生理作用 (研究フロンティア:平成 23 年度学術奨励賞受賞論文)

大石 元, 矢野 哲, 武谷雄二, 筒井和義, George E Bentley, Peter CK Leung.

日本生殖内分泌学会雑誌. 17: 21-25: 2012

6: 当科における過去 5 年間の腹腔鏡下手術に伴う合併症の検討

宮下真理子, 原田美由紀, 大石 元, 藤本晃久, 大須賀穰, 矢野哲, 武谷雄二

関東連合産科婦人科学会誌. 査読あり 49:19-23: 2012

7: 治療に難渋した UAE 後合併症の 2 例.

左 時江, 今田信哉, 大石 元, 甲賀かをり, 平池 修, 亀井良政, 大須賀 穰, 上妻志郎, 武谷雄二.

東京産科婦人科学会会誌. 査読あり 61(1): 115-118, 2012

[学会発表] (計 5 件)

1: The effect of combined raloxifene and conjugated estrogen on bone metabolism, endometrial safety, and coagulation profile in postmenopausal osteoporotic women. Oishi H, Yano T, Hiraike O, Hirano M, Kozuma S, Taketani Y. Endo 2012 (Houston, USA) June 2012

2: A case of uterine artery pseudoaneurysm after laparoscopically-assisted myomectomy. Oishi H, Hiraike O, Imada S, Takeuchi M, Osuga Y, Yano T, Taketani Y. 6th AAGL International Congress on Minimally Invasive Gynecology in

conjunction with 12th APAGE Annual Congress. (Osaka, Japan) December 2011

3: 抗老化分子 SIRT1 活性化物質レスベラトロールは細胞接着分子 E-cadherin の発現を制御し胚の子宮内膜接着能を向上させる

白根 晃, 平池 修, 谷川 道洋, 平野 茉来, 森田 吉洋, 櫻橋 彩子, 傳 厚掬, 大石 元, 織田 克利, 川名 敬, 藤井 知行, 矢野 哲, 上妻 志郎 第 17 回日本生殖内分泌学会学術集会 (東京) 2012. 12

4: ヒト卵巣顆粒膜細胞における GnIH の生理作用 大石 元, 矢野 哲, 武谷 雄二, 筒井和義, Bentley George E., Leung Peter C.K. 第 16 回日本生殖内分泌学会学術集会 (東京) 2012. 11

5: 閉経期女性に対する塩酸ラロキシフェンおよび結合型エストロゲンの併用療法と低用量 HRT との骨代謝に及ぼす効果についての比較

大石 元, 松山玲子, 中澤学, 平池 修, 大須賀穰, 久具宏司, 矢野 哲, 武谷雄二 第 26 回日本女性医学学会学術集会 (神戸) 2011. 11

[図書] (計 3 件)

1: HRT の禁忌症例と慎重投与症例 ホルモン補充療法ガイドライン 2012 年度版-改訂版を読み解く 大石 元, 矢野 哲. 臨床婦人科産科. 66(11): 1002-1008: 2012

2: 治療戦略: 産婦人科の立場から 大石 元, 矢野 哲, 武谷雄二. 新しい骨粗鬆症治療 (診断と治療社) pp. 98-102: 2012

3: 34. 子宮筋腫; 36. 性交痛; 102. 運動療法 大石 元 更年期・老年期外来ベストプラクティス-誰もが知りたい 104 例の治療指針 (神崎 秀陽 監修) 医学書院 pp.122-124, 128-131, 363-366: 2011

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:

国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大石 元 (Oishi Hajime)

東京大学医学部附属病院・助教

研究者番号：40401088

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし