

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：15501
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23890140
 研究課題名（和文） 子宮内膜間質細胞脱落膜化に伴う遺伝子発現におけるエピジェネティクス調節機構の関与
 研究課題名（英文） Involvement of epigenetic regulation in the expressions of decidualization related genes
 研究代表者
 田村 功（TAMURA ISAO）
 山口大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：40610663

研究成果の概要（和文）：

子宮内膜間質細胞の脱落膜化によって特異的に発現が誘導される遺伝子である IGFBP-1 と PRL の発現には、その promoter 領域の epigenetic status が発現調節に寄与しており、特にヒストンアセチル化によるクロマチン構造が重要な役割を果たしていると考えられた。

研究成果の概要（英文）：The promoter regions of IGFBP-1 and PRL showed hypomethylated DNA status and high histone acetylation status in human endometrial stromal cell (ESC), suggesting the loose chromatin structure of the promoter regions, which allows transcription factors to bind the response element of the promoter when decidualization-related transcriptional factors are recruited.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：子宮内膜間質細胞、脱落膜化、ヒストンアセチル化

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜間質細胞(ESC)の脱落膜化では、様々な遺伝子発現変化が起こり着床に寄与している。特に Insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1)と Prolactin (PRL)は、間質細胞において特異的に発現が

誘導されることから、脱落膜化マーカー遺伝子として知られている。これらの遺伝子発現における epigenetic な発現調節機構については充分解明されていなかった。

2. 研究の目的

ESC は、プロゲステロンや cAMP の刺激に応じて脱落膜化変化をおこし機能的分化を遂げる。IGFBP-1 と PRL は脱落膜化することで初めて発現を認めるようになるため、脱落膜化マーカーとされている。このうち IGFBP-1 は、ESC などの限られた細胞においてのみ、発現が誘導されるが、PRL は様々な間葉系細胞で発現が誘導されることが知られている。このような細胞特異的な遺伝子発現には、ヒストンアセチル化や DNA メチル化などの epigenetic な調節機構が関与しているといわれている。そこで、IGFBP-1 と PRL 発現について細胞特異性に注目することでその発現機構の epigenetic 調節機構について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)ESC を脱落膜化刺激として cAMP で培養し、脱落膜化前後で IGFBP-1 と PRL のプロモーター領域のヒストンのアセチル化や DNA メチル化状態といった epigenetic status がいかに変化するかを調べた。

(2)ヒト皮膚線維芽細胞（以下 SFC）は、ESC と同様な特徴を有する間葉系細胞であるが、cAMP を添加しても、PRL は発現するが IGFBP-1 は発現しない(図 1)。つまり、IGFBP-1 発現には細胞特異性があるといわれている。この細胞特異的な IGFBP-1 発現には、プロモーター領域のヒストンアセチル化や DNA メチル化などの違いによる細胞特異的なクロマチン構造の違いが関与しているかを検討した。

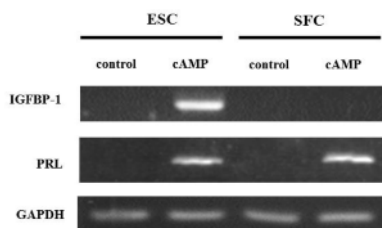


図 1 : cAMP による IGFBP-1、PRL 遺伝子発現誘導の違い

4. 研究成果

(1)ESC の脱落膜化前後で IGFBP-1 と PRL のプロモーター領域のヒストンアセチル化（ヒストン H3 アセチル化、ヒストン H4 アセチル化）と DNA メチル化状態を比較したが、脱落膜化前後では変化しなかった。

(2) ESC と SFC を培養したところ、ESC において IGFBP-1、PRL mRNA 発現は cAMP により誘導された。しかし、SFC では PRL のみが誘導され、IGFBP-1 発現を認めなかった。これらの遺伝子の promoter 領域のヒストンアセチル化の状態と DNA メチル化の状態を検討し、ESC と SFC とで比較した。

ESC における IGFBP-1 promoter は、SFC に比べ高アセチル化状態であることがわかった (図 2)。

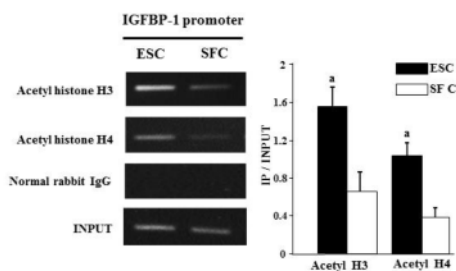


図 2 ; ESC と SFC における IGFBP-1 promoter 領域におけるヒストンアセチル化の違い

promoter 部位の DNA メチル化状態は、両細胞で差はなく低メチル化になっていることがわかった。両方の細胞が発現することができる PRL の promoter 領域については、両細胞間にヒストンアセチル化状態、DNA メチル化状態に差を認めなかった。これらの結果より、両細胞ともが発現できる PRL の promoter については、ヒストンアセチル化・DNA メチル化の状態に差を認めず、両細胞とも転写因子に反応するのに十分なクロマチン構造の弛緩をとることができているため、cAMP により誘導された転写因子群が入

り込み PRL が発現することができると考えられた。IGFBP-1 promoter については、ESC ではヒストン高アセチル化のために、クロマチン構造が弛緩しており、転写因子が promoter に入り込み発現を誘導できる一方、SFC では、ヒストン低アセチル化によるクロマチン構造の凝集のため、転写因子が入り込めず、IGFBP-1 発現が誘導されないと考えられた。このことより、IGFBP-1 発現には promoter 領域のヒストン高アセチル化が重要であるということが、この比較実験から推測された。

さらに、この仮説を確かめるために、SFC においても、ESC のように IGFBP-1 promoter 領域のヒストンアセチル化を誘導させた状態で cAMP 刺激を加えると、転写因子が入り込むことができ IGFBP-1 が発現してくるかどうかという検討を行った。SFC に対して、ヒストンアセチル化を誘導する HDAC 阻害剤を用いることで IGFBP-1 promoter のヒストンアセチル化を誘導した状態で cAMP を投与し、その上で、IGFBP-1 発現に重要といわれている転写因子 C/EBP β の promoter への結合、IGFBP-1 mRNA 発現について検討した。HDAC 阻害剤と cAMP の同時添加により、C/EBP β の promoter への結合とともに(図 3)、IGFBP-1 mRNA が発現するようになった (図 4)。

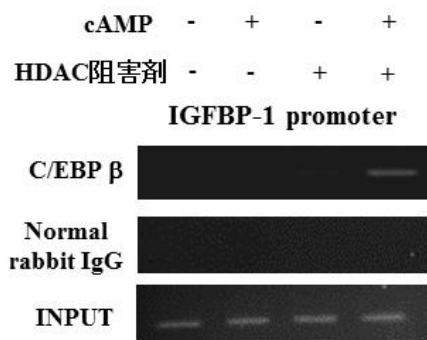


図 3: HDAC 阻害剤による IGFBP-1 promoter への C/EBP β 結合の誘導

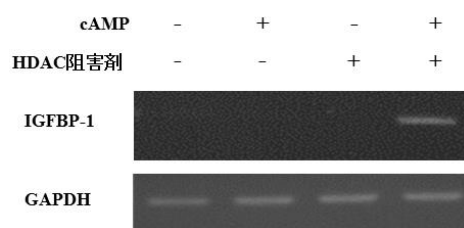


図 4: HDAC 阻害剤による IGFBP-1 遺伝子発現誘導

このことから、SFC においても IGFBP-1 promoter 領域のヒストンアセチル化を誘導することで、転写因子が結合できるようになり、発現が誘導されるという機序を証明することができた。つまり、IGFBP-1 promoter 領域のヒストンアセチル化がその発現誘導には重要な役割を果たしているということが示された。

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 1 件)

- ① Induction of IGFBP-1 expression by cAMP is associated with histone acetylation status of the promoter region in human endometrial stromal cells. I.Tamura, Hiromi Asada. (他 7 名, 筆頭著者) Endocrinology, 153: 5612-5621, 2012 査読あり

[学会発表] (計 3 件)

- ① Isao Tamura. Induction of IGFBP-1 expression by cAMP is associated with histone acetylation status of the promoter region in human endometrial stromal cells. IFPA2012 Hiroshima meeting. 2012.9.18~9.21. 広島 広島国際会議場
- ② 田村 功. ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化によって誘導される IGFBP-1、PRL 遺伝子発現における epigenetic 調節

機構の関与. 第30回日本受精着床学会総
会. 2012年8月30日～8月31日. 大阪
大阪国際会議場

- ③ 田村 功. ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC)
の脱落膜化によって誘導される IGFBP-1,
PRL 遺伝子発現における **epigenetic** 調節
機構の関与. 第6回日本エピジェネティ
クス研究会. 2012年5月14日～5月15日.
東京 学術総合センター

6. 研究組織

(1)研究代表者

田村 功 (TAMURA ISAO)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40610663