

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20145

研究課題名(和文) 子宮内膜間質細胞の脱落膜化によって活性化されるグルコース代謝の生物学的意義の解明

研究課題名(英文) Potential mechanism by which glucose regulates decidualization

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) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜の脱落膜化は胚の着床、妊娠の成立に必須の現象である。脱落膜化により子宮内膜間質細胞はグルコースの取り込みが増加する。本研究においては、グルコースが転写因子FOXO1と脱落膜化マーカーであるPRLおよびIGFBP-1のプロモーター領域の転写活性化ヒストン修飾を増加させることによって脱落膜化に促進的に貢献している生理活性物質であるメカニズムを示した。

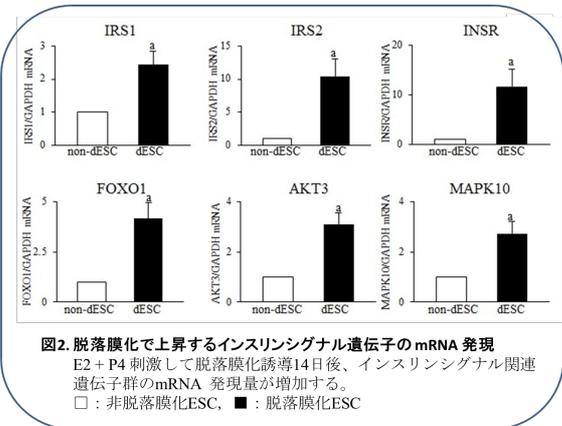
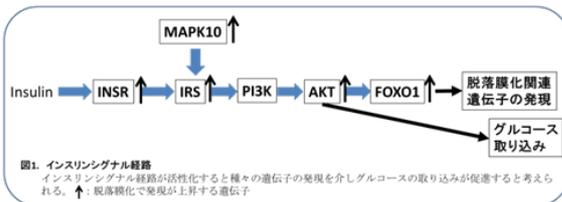
研究成果の概要(英文)：The present study showed the detailed mechanisms that glucose regulates the expression of FOXO1 through the increase of H3K27ac undergoing decidualization in human ESCs. In addition, glucose also regulates H3K27ac of the PRL and IGFBP-1 promoter regions during decidualization, which is crucial for the acceptance of transcriptional factors to the promoter regions. Decidualization stimuli activate the insulin signaling-regulated genes, which contribute to proper decidualization through the increase of glucose uptake.

研究分野：生殖内分泌

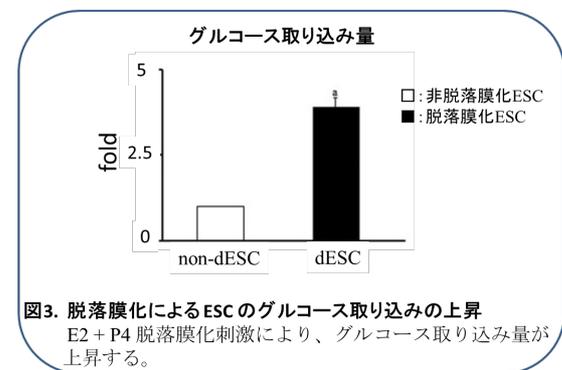
キーワード：脱落膜化 グルコース ヒストン修飾 転写因子

1. 研究開始当初の背景

胚の着床には様々な因子が関与していることが知られているが、その中でも、ヒト子宮内膜間質細胞 (Endometrial stromal cell; 以下 ESC) の脱落膜化 (分化) は着床のために必須の現象である。この脱落膜化過程では、多くの遺伝子において、その発現が新たに誘導されたり、発現レベルが増加したり、また逆に抑制されるなど、劇的な変化が起こる。遺伝子発現は、単に転写因子のみで調節されるのではなく、転写因子の受け手側である遺伝子プロモーター領域 (DNA) のヒストン修飾に代表されるエピジェネティックな調節機構によっても制御されている。我々は、次世代シーケンサーを用いたゲノムワイド解析により、ESC の脱落膜化過程において、ヒストン修飾の増加を伴って発現が上昇する遺伝子の中に、インスリンシグナル関連遺伝子 (IRS1, IRS2, INSR, MAPK10, AKT3, FOXO1) の活性化が見出した (図 1、図 2)。



さらに、脱落膜化に伴い ESC 内へのグルコース取り込み増加も確認された (図 3)。すなわち、ESC は脱落膜化過程において、ヒストン修飾というエピジェネティック調節を利用して、インスリンシグナル・グルコース代謝を活性化させるという機能分化を示した。



2. 研究の目的

近年、多くの細胞種におけるメタボローム解析の進展から、細胞内のグルコースが様々な細胞機能の調節に関与することが明らかになっている。

しかし、グルコースによる遺伝子発現調節 (細胞機能調節) に関して、分子レベルでの機構はほとんど解明されておらず、インスリン分泌を担う膵ランゲルハンス島細胞においてさえ決して十分でない現状である。これまでの我々の研究成果から、ESC の脱落膜化によりインスリンシグナルの活性化と細胞内へのグルコースの取り込みの増加が見出されたが、グルコースの取り込みの分子メカニズム、グルコースの役割、グルコースによる遺伝子発現制御機構など、多くのことが解明されていない。本研究は、ESC の脱落膜化過程におけるグルコースの積極的な取り込みの必要性を探求し、グルコース代謝のメカニズムおよびグルコースによる遺伝子発現調節について遺伝子レベル・分子レベルで解明し、グルコースの役割について解明することを目的とした。

3. 研究の方法

IRB の承認と患者の同意を得て分離した ESC を用いた。脱落膜化におけるグルコースの役割を検討するために、通常培養液 (グルコース: 24 mM) と低グルコース培養液 (グルコース: 0 mM) により、4 日間 cAMP (0.5 mM) ESC を添加し、脱落膜化を誘導した。

- (1) 脱落膜化マーカーである IGFBP-1 と PRL の mRNA 発現と、IGFBP-1 と PRL の発現に関する転写因子 FOXO1, HOXA10, C/EBP β , STAT5 の mRNA 発現を定量 RT-PCR にて調べた。
- (2) FOXO1 を siRNA によりノックダウンした ESC について cAMP により脱落膜化を誘導し、IGFBP-1 と PRL の mRNA 発現を測定した。
- (3) FOXO1 および IGFBP-1 と PRL プロモーター領域について、遺伝子転写活性化に働くヒストン修飾である H3K27ac の変化を ChIP-qPCR により調べた。

4. 研究成果

- (1) 脱落膜化により IGFBP-1 および PRL と、脱落膜化での重要な転写因子である FOXO1 の mRNA 発現は、有意に増加したが、この増加は低グルコース培養により抑制された。また、HOXA10, C/EBP β , STAT5 の mRNA 発現は、低グルコース環境による影響は認められなかった。
- (2) FOXO1 をノックダウンした ESC では、脱落膜化による IGFBP-1 と PRL の発現の上昇が抑制され、FOXO1 の脱落膜化における IGFBP-1 と PRL の発現の関係性を確認した。
- (3) FOXO1 のプロモーター領域の H3K27ac は脱落膜化により増加したが、この増加は低グルコース培養により抑制された。また、IGFBP-1 と PRL のプロモーター領域の

H3K27ac は脱落膜化により増加するが、この増加についても低グルコース培養により抑制された。

以上の結果により、子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化過程において活性化するインスリンシグナルは、ESC 内へのグルコースの取り込みを増加させる。取り込まれたグルコースは、転写因子 FOXO1 プロモーター領域の H3K27ac の増加に寄与し、FOXO1 遺伝子の発現を増加させる。また、グルコースは、脱落膜化マーカー遺伝子である IGFBP-1 と PRL のプロモーター領域の H3K27ac 増加にも関与していることが明らかとなり、脱落膜化に促進的に作用する生理活性物質であることが考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 12 件)

城崎幸介、子宮内膜間質細胞の脱落膜化に伴うグルコース取り込み能増加の役割、第 26 回臨床内分泌代謝 Update、2016 年 11 月 18 日～19 日、大宮ソニックシティ (埼玉県・さいたま市)

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化に伴うグルコースの取り込み能増加とその役割、第 61 回日本生殖医学会学術講演会・総会、2016 年 11 月 3 日～4 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

Hiroshi Tamura、Potential mechanism by which glucose regulates decidualization in human endometrial stromal cells、American Society for Reproductive Medicine 2016、2016 年 10 月 15 日～19 日、The Salt Palace Convention Center、(Salt Lake City (USA))

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化に伴うグルコースの取り込み能増加とその役割、第 109 回日本繁殖生物学会大会、2016 年 9 月 12 日～15 日、麻布大学 (神奈川県・相模原市)

Norihiro Sugino、Potential mechanism by which glucose regulates decidualization in human endometrial stromal cells、Society for the Study of Reproduction 2016、2016 年 7 月 16 日～20 日、Sheraton San Diego Hotel & Marina (San Diego

(USA))

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化に伴うインスリンシグナル活性化とその役割の検討、第 68 回日本産科婦人科学会、2016 年 4 月 21 日～24 日、東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化におけるグルコースの役割、第 20 回日本生殖内分泌学会学術集会、2016 年 1 月 9 日、神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化におけるグルコース取り込み能の検討、第 108 回日本繁殖生物学会大会、2015 年 9 月 17 日～20 日、宮崎大学 (宮崎県・宮崎市)

城崎幸介、ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化に伴い増強したグルコース取り込み能の意義の検討、第 9 回エピジェネティクス研究会年会、2015 年 5 月 25 日～26 日、東京一ツ橋学術総合センター (東京都・千代田区)

城崎幸介、Genome-wide analysis of histone modifications in human endometrial stromal cells undergoing decidualization by next-generation sequencing、国際生殖医学会・日本生殖医学会学術集会 2015、2015 年 4 月 26 日～29 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

城崎幸介、次世代シーケンサーを用いたヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化に伴うエピゲノム変化の解析、第 88 回日本内分泌学会学術総会、2015、2015 年 4 月 23 日～25 日、ホテルニューオータニ東京 (東京都・千代田区)

田村博史、次世代シーケンサーを用いた子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化に伴うエピゲノム変化の解析、第 67 回日本産科婦人科学会、2015 年 4 月 11 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

〔図書〕(計 0 件)

〔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 0 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〕
なし

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし