

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24年 6月 1日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592133

研究課題名（和文） Sox4による子宮筋腫発育制御機構に及ぼすSPRMの作用機序の解明

研究課題名（英文） The effect of SPRM on the Sox4 mediated growth of uterine leiomyoma

研究代表者

小原範之（Noriyuki Ohara）

神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員

研究者番号：70214210

研究成果の概要（和文）：Sox4の子宮筋腫発育制御機構の解明、およびP4によるSox4発現に対する影響の検討を子宮筋腫細胞の増殖能、アポトーシス誘導能を検討した。RNA interference実験により培養細胞でのSox4蛋白発現を阻害することで培養細胞の増殖能とアポトーシスに及ぼす影響を検討した。SPRM添加、非添加の条件下でRNA interference実験を行い(24、48時間培養)、control群とsiRNA培養細胞における増殖、アポトーシスを細胞数、BrdU取り込み、MTT法、TUNEL法を用いて検討した。また、同時に、アポトーシス実行因子であるcaspase-3、puma、p53、アポトーシス抑制因子であるBcl-2、survivinの蛋白発現を検討することで、どのようなアポトーシス経路が賦活化されるのかを検討した。検討項目のいずれにおいても一定したデータが得られず、臨床検体を使用しているため、さらに症例数を増やして検討する必要がある。

研究成果の概要（英文）：The effect of SPRM on the Sox4 mediated growth of uterine leiomyoma was examined by proliferation and apoptosis assay in cultured leiomyoma cell. These assay included MTT assay, TUNEL assay and protein expression assay of caspase -3, puma, p53, Bcl-2, surviving. We could not observe the significant and constant data in terms of Sox4 related assay in the uterine leiomyoma growth. Further studies are needed to increase the specimen to get final results.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：子宮筋腫, SOX4, SPRM, 増殖, アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

子宮筋腫は、従来より考えられてきたエストロゲンによる発育制御以外にも、プロゲステロンによっても発育が制御されていることが判明してきた。我々は、子宮筋腫細胞培養系を確立しプロゲステロン (progesterone:P4)の直接作用を検討することで、P4 は子宮筋腫の増殖に密接に関わっていることを明らかにしてきた。P4 は筋腫細胞の増殖を刺激し、アポトーシスを抑制して子宮筋腫発育に対して促進的に働く作用が主体であることを認めた。そのため、selective progesterone receptor modulator (SPRM)は子宮筋腫発育に対して抑制的に働き、SPRM は筋腫細胞の増殖能の抑制、アポトーシス誘導、局所成長因子発現の抑制、細胞外基質蛋白代謝への影響、血管新生関連因子発現の抑制など多面的な作用を有することが明らかになった。

2. 研究の目的

子宮筋腫の病態解明のために、正常子宮平滑筋細胞との対比において遺伝子発現をマイクロアレイ法で検討した成績がみられる。この中で、我々は Sry-related high mobility group box 4 (Sox4)発現が子宮筋腫において

有意に増強していることに着目した。乳癌細胞において、Sox4 は progestin により発現が制御されることが報告されており、性ステロイドホルモンの制御を受けていることが示唆された。Sox4 は transcription factor であり、卵巣、精巣に局在しているほか、種々の癌細胞にも発現していることが知られている。特に、癌細胞では正常組織と比べて Sox4 の発現が増強しており、tumorigenesis との関連が強く推察されている。近年、Sox4 は癌細胞の増殖を促進し、アポトーシスを抑制する作用を有することや、癌細胞の転移・浸潤にも関与していることが報告されている。しかし、Sox4 が子宮筋腫の増殖、アポトーシスに及ぼす影響や、子宮筋腫に対してアンタゴニストとして作用するSPRMがSox4発現と機能に及ぼす影響は未だ不明である。

3. 研究の方法

Sox4 の子宮筋腫発育制御機構の解明、およびP4によるSox4発現に対する影響の検討を子宮筋腫細胞の増殖能、アポトーシス誘導能を検討した。

4. 研究成果

Sox4の子宮筋腫発育制御機構の解明、およびP4によるSox4発現に対する影響の検討を子宮筋腫細胞の増殖能、アポトーシス誘導能を検

討した。RNA interference実験により培養細胞でのSox4蛋白発現を阻害することで培養細胞の増殖能とアポトーシスに及ぼす影響を検討した。SPRM添加、非添加の条件下でRNA interference実験を行い(24、48時間培養)、control群とsiRNA培養細胞における増殖、アポトーシスを細胞数、BrdU取り込み、MTT法、TUNEL法を用いて検討した。また、同時に、アポトーシス実行因子であるcaspase-3、puma、p53、アポトーシス抑制因子であるBcl-2、survivinの蛋白発現を検討することで、どのようなアポトーシス経路が賦活化されるのかを検討した。検討項目のいずれにおいても一定したデータが得られず、臨床検体を使用しているため、さらに症例数を増やして検討する必要がある。未だ最終的な成果には至っていないのが現状である。

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 5 件)

①Maruo T, Ohara N, Yoshida S, Nakabayashi K, Sasaki H, Xu Q, Matsuo H, Sitruk-Ware R, Yamada H. Lessons learned from the preclinical drug discovery of asoprisnil and ulipristal for non-surgical treatment of uterine leiomyomas. Expert Opin Drug Discov. 6(9):897-911. 2011, 査読有

②Yoshida S, Ohara N, Xu Q, Chen W, Wang J, Nakabayashi K, Sasaki H, Morikawa A, Maruo T. Cell-type specific actions of progesterone receptor modulators in the regulation of uterine leiomyoma growth. Semin Reprod Med. 28(3):260-73. 2010, 査読有

③Maruo T, Ohara N, Yoshida S, Nakabayashi K, Sasaki H, Xu Q, Chen W, Yamada H. Translational research with progesterone receptor modulator motivated by the use of levonorgestrel-releasing intrauterine system. Contraception. 82(5):435-41, 2010, 査読有

④Yata A, Nakabayashi K, Wakahashi S, Maruo N, Ohara N, Maruo T. Suppression of progesterone production by stresscopin/urocortin 3 in cultured human granulosa-lutein cells. Hum Reprod. 24(7):1748-53, 2009, 査読有

⑤Kitao K, Makihara N, Morita H, Yamasaki M, Matsuoka S, Ohara N, Maruo T. The development of placenta increta following

pelvic transcatheter artery embolization
for postpartum hemorrhage. Clin Exp
Obstet Gynecol. 36(1):53-4. 2009, 査読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小原範之 (Noriyuki Ohara)

神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員

研究者番号 : 70214210

(2) 研究分担者

吉田茂樹 (Shigeki Yoshida)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号 : 70294212

中林幸士 (Koji Nakabayashi)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 : 80362789

山田秀人 (Hideto Yamada)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号 : 40220397