

着床不全子宮内膜におけるmiRNAの治療標的、 診断マーカーとしての有用性に関する検討

埼玉医科大学 産科婦人科

梶原 健

はじめに

これまでに我々は、ヒト子宮内膜脱落膜化過程においてフォークヘッド転写因子の1つであるFOXO1が誘導され、このFOXO1がプロラクチンなどの標的遺伝子の発現を制御することにより、同過程において重要な役割を果たしていることを明らかにした¹⁾。

一方、microRNA(miRNA)は、遺伝子発現の転写後調節を司る機能性低分子RNAである。miRNAは子宮内膜を含めた女性生殖組織にも発現が認められ、様々な生理的・病理学的機能を担っていると考えられている。またmiRNAは多くの病態診断のバイオマーカーとして有望であるのみならず、標的遺伝子が同定されその発現を制御するmiRNAの機能が明らかとなれば、そのmiRNAは新規治療薬のターゲットとなりうる。今回、脱落膜化刺激を行ったヒト子宮内膜間質細胞HESCs(脱落膜化群)と脱落膜化刺激を行っていない群(control群)からmiRNAの分画を含んだmRNA抽出し、Micro-array解析により両群において発現に差が認められるmiRNAを同定した。さらには発現に差が認められたmiRNAの中で、FOXO1の発現を制御している事が予想されるmiRNAを公開されているdatabaseから選択し、FOXO1の発現を制御している可能性のあるmiRNAであるかを検討していくことを目的とした。

考 察

0.5mM8-bromo-cAMP(8-bro-cAMP)とmedroxyprogesterone acetate(MPA)の両者にて脱落膜化刺激を行い、両者から0、3、6日目にtotalRNA抽出を行った。なお、脱落膜化の確認は、3・6日目の培養上清を採取し、脱落膜化マーカーであるプロラクチン(Fig 1)、IGFBP-1(Fig 2)の分泌が上昇している事を確認した。同様に3・6日目に培養細胞のタンパク精製を行い、Western blot法にてFOXO1の発現が脱落膜化刺激で誘導されることを確認した(Fig 3)。形態学的に脱落膜化したHESCsは、大型で敷石状の脱落膜化細胞に特徴的な形態を示していた(Fig 4)。脱落膜化群とcontrol群からmRNA抽出し、Realtime-PCR法にてFOXO1のmRNAの発現が脱落膜化刺激により誘導されていることを確認した(Fig 5)。

上記の方法で脱落膜化を確認した3症例を用いMicro-array解析を行い、10個の有意に発現が変動するmiRNAを確認した。その解析において2倍以上の上昇を認めたmiRNAは3個、1/2以下に低下を認めたものは7個であった。現在この10個の変動miRNAに関して、個々の

機能解析を行っている。

要 約

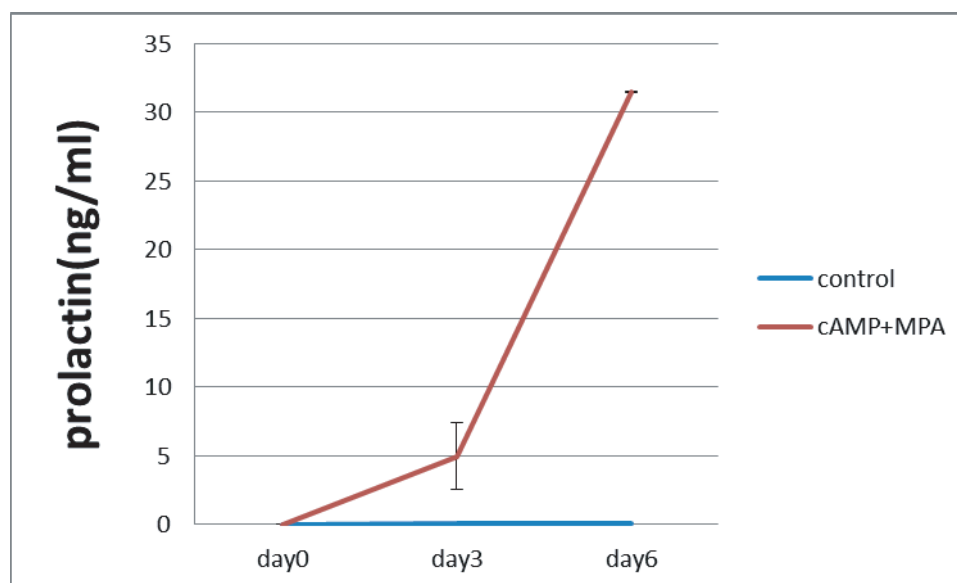
今回、脱落膜化を確認した3症例のMicro-array解析では、脱落膜化前後で、有為な発現の変動がある10個のmiRNAを確認した。現在は、この10個の有意に発現が変動したmiRNAに関し、個々の機能解析を行い、同miRNAが着床不全の治療標的、診断マーカーとして有用か更なる検討を行なっている。

文 献

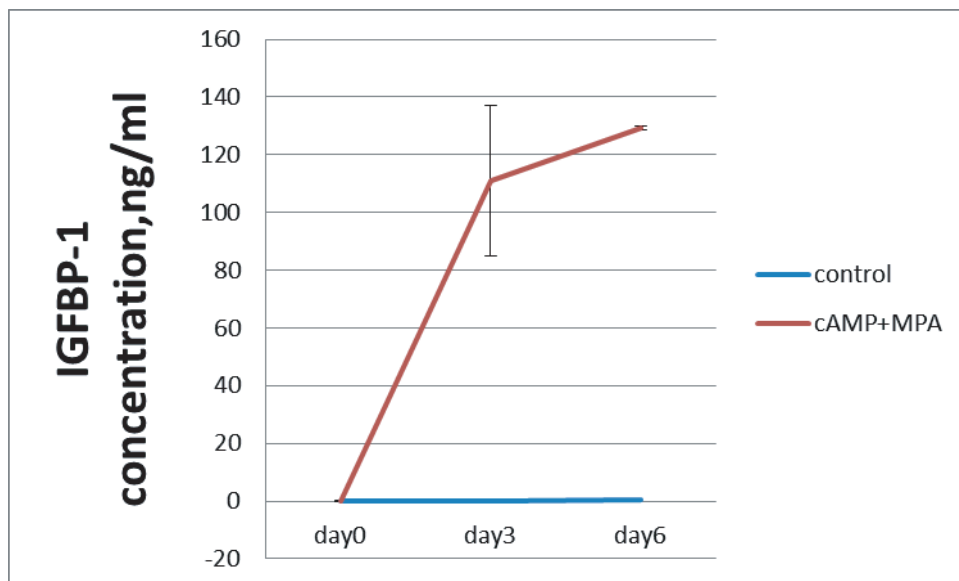
1. Labied S. Kajihara T. et al. Progestins regulate the expression and activity of the forkhead transcription factor FOXO1 in differentiating human endometrium. Molecular Endocrinology 2006;20,35-44

F i g u r e

< Fig 1.>

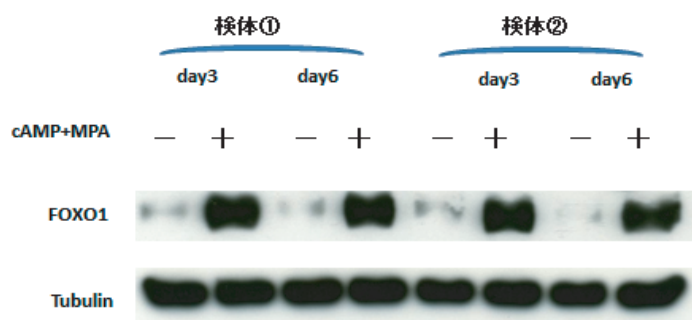


< Fig 2. >



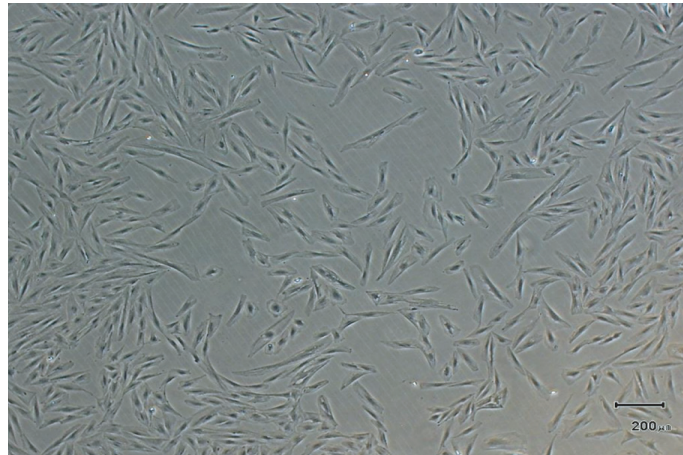
< Fig 3. >

FOXO1の発現確認 (Western blot法)

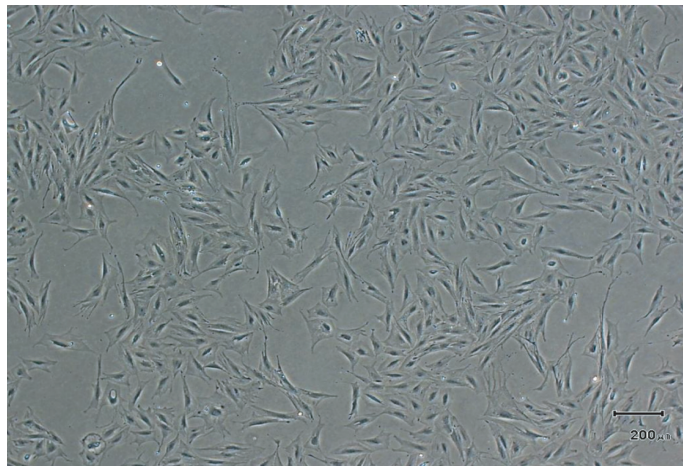


< Fig 4. >

■ control



■ cAMP+P



< Fig 5. >

