

平成22年1月

渡邊彩子 学位論文審査要旨

主 査 汐 田 剛 史
副主査 池 口 正 英
同 原 田 省

主論文

The role of survivin in the resistance of endometriotic stromal cells to drug-induced apoptosis

(子宮内膜症間質細胞の薬剤誘導性アポトーシス抵抗性におけるサバイビンの役割)

(著者：渡邊彩子、谷口文紀、伊澤正郎、周防加奈、上垣崇、高井絵理、寺川直樹、
原田省)

平成21年 Human Reproduction 24巻 3172頁～3179頁

学 位 論 文 要 旨

The role of survivin in the resistance of endometriotic stromal cells to drug-induced apoptosis

(子宮内膜症間質細胞の薬剤誘導性アポトーシス抵抗性におけるサバイビンの役割)

疼痛と不妊を主症状とする子宮内膜症の病因は未だ明らかではない。異所性子宮内膜間質細胞（子宮内膜症間質細胞）は、正所性子宮内膜間質細胞と異なり、薬剤誘導性アポトーシスに対する抵抗性が高いことを報告した。本研究では、異所性子宮内膜間質細胞および正所性子宮内膜間質細胞にアポトーシス誘導剤であるstaurosporine (SS)を添加し、cDNAマイクロアレイを用いて両細胞における遺伝子発現を網羅的に解析した。また、抗アポトーシス因子として注目されているinhibitor of apoptosis protein(IAP) familyの遺伝子発現量を定量して、子宮内膜症間質細胞が有するアポトーシス抵抗性に関与する因子について検討した。

研究対象と方法

患者の同意を得て、手術時に採取した卵巣チョコレート嚢胞壁より異所性子宮内膜間質細胞を、対照として子宮筋腫患者の子宮より正所性子宮内膜間質細胞を分離培養した。SS添加によりアポトーシスを誘導し、以下の検討を行った。アポトーシス関連遺伝子の発現に関しては、Apoptosis cDNAマイクロアレイでスクリーニングを行い、IAP familyのBaculoviral IAP repeat-containing(BIRC)-2、-3、-4、-5遺伝子発現量をreal time RT-PCR法で定量した。BIRC遺伝子の下流に存在するcaspase-3および-7蛋白の発現はWestern blot法で解析した。サバイビン(BIRC-5)に特異的なsmall interfering RNA(siRNA)をLipofection法により異所性子宮内膜間質細胞に導入した。サバイビン遺伝子発現抑制後のcaspase活性をWestern blot法で、アポトーシス細胞数をWST assayとAnnexin-V染色法で比較検討した。

結 果

SS添加後に、正所性子宮内膜間質細胞の生存率は添加前の52%に減少したが、異所性子宮内膜間質細胞では72%と高く、アポトーシス感受性の低下を示した。正所性子宮内膜間質細胞では、SS添加によりcaspase-3および-7蛋白の強い発現がみられたが、異所性子宮内膜間

質細胞ではみられなかった。cDNAマイクロアレイの成績では、異所性子宮内膜間質細胞においてBCL2-antagonist of cell death (Bad)、BCL2-associated X protein(Bax)、サバイビンの強い遺伝子発現を認めた。SS添加後には、異所性子宮内膜間質細胞でサバイビン遺伝子発現が増強したが、正所性子宮内膜間質細胞では減弱した。BIRC-2、-3、-4遺伝子に関しては、SS添加による発現量の変化はみられなかった。異所性子宮内膜間質細胞へのサバイビン siRNAの導入による遺伝子発現抑制により、アポトーシス細胞比率の増加と、caspase-3および-7蛋白発現の増強を認めた。

考 察

異所性子宮内膜間質細胞においては、サバイビン遺伝子が高発現し、薬剤によるアポトーシス誘導によりその発現はさらに増強することが示された。一方、正所性子宮内膜間質細胞ではサバイビン遺伝子発現レベルは低く、薬剤誘導性アポトーシスへの感受性が高いことより、両細胞が持つ生物学的性格が異なることが示唆された。これらの成績より、サバイビンは異所性子宮内膜間質細胞が示す薬剤誘導性アポトーシスへの抵抗性に、重要な役割を果たしていると考えられた。

サバイビンは細胞周期のG2/M期に高発現し、その発現低下により細胞分裂が停止し多核化すること、さらにcaspase-3および-7を直接阻害することが報告されている。従って、サバイビンは子宮内膜間質細胞のアポトーシスのみならず細胞増殖に影響する可能性も考えられる。サバイビンは、正常成人成熟組織にはほとんど発現がみられず、種々の悪性腫瘍でその病態形成における促進的作用が報告されている。サバイビン阻害剤の臨床応用については、ホルモン耐性前立腺がん、悪性黒色腫および非小細胞肺癌に対する臨床試験が海外で行われている。

本研究において、子宮内膜症間質細胞におけるサバイビン遺伝子抑制により薬剤誘導性のcaspase蛋白発現が増強し、アポトーシス細胞の増加も認められたことから、子宮内膜症の病態へのサバイビンの関与が示唆された。将来、サバイビンを分子標的とした新しい子宮内膜症治療が期待される。

結 論

異所性および正所性子宮内膜間質細胞における網羅的遺伝子発現の解析とサバイビン siRNAを用いたアポトーシス関連蛋白発現の解析により、IAP family に属するサバイビンがアポトーシス阻害因子として、内膜症間質細胞のアポトーシス抵抗性をもたらす可能性を初めて明らか

にした。サバイビンは、子宮内膜症間質細胞の異所性生存を促し、本症の進展に関与することが示唆された。