

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第538号	氏名	岡本 真実子
審査委員会委員		主査氏名	北野 敬明 
		副査氏名	三宅 秀敏 
		副査氏名	末延 聡一 
<p>論文題目： Enhanced miR-210 expression promotes the pathogenesis of Endometriosis through signal transducer and activator of transcription 3 activation (子宮内膜症において発現が増強する miR-210 は signal transducer and activator of transcription 3 の活性化を介して子宮内膜症の発症に関与する) 論文掲載雑誌名： Humam Reproduction</p> <p>論文要旨</p> <p>【目的】 近年、癌や炎症性疾患など様々な疾患の発症にエピジェネティクスの異常が関与していることが明らかとなっている。子宮内膜症においても、子宮内膜症の発症と関連性が深いと考えられている遺伝子のメチル化による発現の異常が報告され、子宮内膜症の病態解明の手掛かりになることが期待されている。我々の研究でも以前より子宮内膜症の病態の解明を目的として、子宮内膜症の病態形成に関与していると考えられるmicroRNAの抽出とその役割について検討している。今回、子宮内膜症間質細胞において発現が増加しているmiR-210の意義について検討した。</p> <p>【対象・方法】 子宮内膜症および子宮筋腫の手術時に、文書による患者の同意を得て子宮内膜症嚢胞壁および増殖期の正所性子宮内膜を採取し、子宮内膜症間質細胞および正常子宮内膜間質細胞を分離・培養した。正常子宮内膜間質細胞にmiR-210 precursorを導入することによりmiR-210を強制発現させた。Gene expression microarrayおよびIngenuity Pathway Analysisを用いて、miR-210によって発現調節を受ける標的遺伝子群を同定した。これに基づき、細胞増殖、アポトーシス、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)の活性化、vascular endothelial growth factor (VEGF)産生に対するmiR-210の作用について機能解析を行った。また、子宮内膜症間質細胞に対するSTAT3阻害剤(WP1066, S3I-201, Cryptotanshinone)の効果について検討した。</p> <p>【結果】 miR-210によって発現が誘導される標的遺伝子の1つとしてSTAT3が抽出された。さらにSTAT3の標的遺伝子としてVEGFが抽出された。miR-210の強制発現により、正常子宮内膜間質細胞の細胞増殖は促進、アポトーシスは抑制、VEGF産生は促進された。これらの現象はSTAT3の活性化に伴うものと考えられた。また、STAT3阻害剤は子宮内膜症間質細胞の細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導、VEGF産生を抑制した。</p> <p>【考察および結語】 子宮内膜症間質細胞におけるmiR-210の発現増加は、細胞増殖の促進、アポトーシス耐性、血管新生の促進といった子宮内膜症に特徴的な形質の獲得に関与している可能性が示唆された。さらに、microRNAの発現異常の子宮内膜症の病態形成への関与が改めて示された。また、STAT3阻害剤の子宮内膜症治療薬としての有用性が示唆された。本研究で用いた実験手法は、子宮内膜症において異常発現が認められる遺伝子の機能解析に有用と考えられる。</p> <p>本研究は、miR-210が子宮内膜症間質細胞発症に関与している事をmiR-210導入及び、STAT3阻害剤を用い、明らかにした有益な研究であり、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 ①・論	第538号	氏名	岡本真実子
審査委員会委員	主査氏名	北野敬明	
	副査氏名	三宅秀敏	
	副査氏名	末延聡一	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、結果、考察について次の質疑を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 細胞採取の症例数、年齢などは記載されているが、採取時期の記載も必要ではないか？ 2. ECSCs と NESC s のサンプルについて、同一患者で病変部と健常と思われる部位を比較したのか？ 3. 論文ドラフト版の p8 の 273, 276, 278 行目の ECSCs は NESC s の誤りではないか？ p11 の 383 行目の argents は agents の誤りではないか？ 4. 統計処理で ANOVA の記載がない Bonferoroni test とはどのような統計処理か？ 5. Fig 2, 3 のデータは百分率(パーセント)表示であるが、そのようなデータに Student t-test などのパラメトリクス統計処理を用いることの是非について 6. PDF 版の論文では Table 1 に Z-socre が出ているが、Z-score とは何か？ 7. VEGF は VEGF-A、VEGF-B、などのサブファミリーとして検討たのか、あるいは全体として検討しているのか。 8. IPA knowledgebase (Figure 1) の解析の詳細について述べてください。 9. 今回の子宮内膜症間質細胞で miR-210, STAT3 が上昇しているかどうかは検討しているか？ 10. miR-210 と STAT3 の間を介在する PTPNI が上昇していない理由は何か？ 11. IPA を利用した解析では、miR-210 で他のサイトカイン、たとえば EGF や PDGF などの検討はしてるか？ 12. HDAC2 も miR-210 で up-regulate されているが、それについての検討はしているか？ 13. 子宮内膜症はエストロゲン依存性疾患と言われているが、エストロゲンと miR-210 との関係はどのように考えるか？ 14. 子宮腺筋症においても子宮内膜症と同じような解析結果がでると考えるか？ 子宮内膜症と子宮腺筋症の同時発症の頻度は？ 15. 子宮内膜症の治療薬として、各種 STAT3 阻害薬、microRNA が考えられるが、今後の展望は？ 16. miR-210 と子宮内膜症の重症度とは関係あるか。また、癌化に関与するか？ <p>これらの質疑に対し、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者であると認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 岡本 真実子

論 文 題 目

Enhanced miR-210 expression promotes the pathogenesis of endometriosis through signal transducer and activator of transcription 3 activation

(子宮内膜症において発現が増強する miR-210 は signal transducer and activator of transcription 3 の活性化を介して子宮内膜症の発症に関与する)

要 旨

目的

近年、癌や炎症性疾患など様々な疾患の発症にエピジェネティクスの異常が関与していることが明らかとなっている。子宮内膜症においても、子宮内膜症の発症と関連性が深いと考えられている遺伝子のメチル化による発現の異常が報告され、子宮内膜症の病態解明の手掛かりになることが期待されている。我々の研究でも以前より子宮内膜症の病態の解明を目的として、子宮内膜症の病態形成に関与していると考えられる microRNA の抽出とその役割について検討している。今回、子宮内膜症間質細胞において発現が増加している miR-210 の意義について検討した。

研究対象及び方法

子宮内膜症および子宮筋腫の手術時に、文書による患者の同意を得て子宮内膜症嚢胞壁および増殖期の正所性子宮内膜を採取し、子宮内膜症間質細胞および正常子宮内膜間質細胞を分離・培養した。正常

子宮内膜間質細胞に miR-210 precursor を導入することにより miR-210 を強制発現させた。Gene expression microarray および Ingenuity Pathway Analysis を用いて、miR-210 によって発現調節を受ける標的遺伝子群を同定した。これに基づき、細胞増殖、アポトーシス、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) の活性化、vascular endothelial growth factor (VEGF) 産生に対する miR-210 の作用について機能解析を行った。また、子宮内膜症間質細胞に対する STAT3 阻害剤(WP1066, S3I-201, Cryptotanshinone) の効果について検討した。

結果

miR-210 によって発現が誘導される標的遺伝子の 1 つとして STAT3 が抽出された。さらに STAT3 の標的遺伝子として VEGF が抽出された。miR-210 の強制発現により、正常子宮内膜間質細胞の細胞増殖は促進、アポトーシスは抑制、VEGF 産生は促進された。これらの現象は STAT3 の活性化に伴うものと考えられた。また、STAT3 阻害剤は子宮内膜症間質細胞の細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導、VEGF 産生を抑制した。

考察および結語

子宮内膜症間質細胞における miR-210 の発現増加は、細胞増殖の促進、アポトーシス耐性、血管新生の促進といった子宮内膜症に特徴的な形質の獲得に関与している可能性が示唆された。さらに、microRNA の発現異常の子宮内膜症の病態形成への関与が改めて示された。また、STAT3 阻害剤の子宮内膜症治療薬としての有用性が示唆された。本研究で用いた実験手法は、子宮内膜症において異常発現が認められる遺伝子の機能解析に有用と考えられる。