







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 613 号	氏名	青柳陽子
審査委員会委員	主査氏名	三股浩光	
	副査氏名	瀧田文彦	
	副査氏名	松尾哲孝	
<p>論文題目 Decidualization Differentially Regulates microRNA Expression in Eutopic and Ectopic Endometrial Stromal Cells (正所性および異所性子宮内膜間質細胞において脱落膜化はそれぞれ異なったメカニズムによりマイクロ RNA 発現を制御する)</p> <p>論文掲載雑誌名 Reproductive Sciences</p> <p>論文要旨</p> <p>【緒言】子宮内膜における脱落膜化は妊娠の確立・維持に重要な現象で、脱落膜化の制御機構の解明が分子レベルで進んでいる。本研究では子宮内膜間質細胞における micro-RNA (miRNA) を介した脱落膜化の制御機構について検討した。</p> <p>【対象と方法】正常子宮内膜間質細胞 (normal endometrial stromal cells; NESCs) と卵巣子宮内膜症性嚢胞間質細胞 (endometriotic cyst stromal cells; ECSCs) を分離培養し、脱落膜化刺激として dibutyryl cyclic-AMP と dienogest を添加して 12 日間培養した。miRNA microarray および gene expression microarray を用いて、脱落膜化前後の NESCs と ECSCs の RNA 発現解析を行った。次に、Insuline-like growth factor binding protein 1 (IGFBP1) と prolactin (PRL) を脱落膜化の指標として、Ingenuity pathway analysis(IPA)を用いたネットワーク解析を行った。</p> <p>【結果】miRNA microarray 及び qRT-PCR より、脱落膜化後の NESCs 及び ECSCs では各々 miR-30a 及び miR-210 の発現増強が認められた。IPA 解析より、miR-30 の下流には Kruppel-like factor 9 (KLF9)-IGFBP1 経路と Tolloid-like (TLL) 1/TLL2/Paired like homeodomain 1/Period circadian clock (PER) 2/PER3-PRL 経路が、miR-210 の下流に Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1-Growth hormone receptor-IGFBP1 経路と E2F transcription factor 3-Thymidine kinase 1-PRL 経路が抽出された。miR-30 発現増強は KLF9 及び period circadian clock 3 の発現増強と TLL1, 2 及び paired-like homeodomain I の発現低下と関連していた。miR-210 発現増強は growth hormone receptor 及び thymidine kinase I の発現低下と関連していた。</p> <p>【考察】miR-30a は NESCs の脱落膜化を制御するが、ECSCs ではこの制御機構が欠落していること、miR-210 が ECSCs の脱落膜化を制御することが明らかとなった。また、本研究によって、miRNA を介した脱落膜化調節機能の異常が子宮内膜症の病態形成に関与する可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、異所性子宮内膜症の間質細胞における脱落膜化に miRNA による制御機構の異常が存在することを初めて明らかにし、子宮内膜症の病態解明に繋がる研究であり、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 (課)・論	第607号	氏名	青柳 陽子
審査委員会委員	主査氏名	三股浩光 	
	副査氏名	瀧田文彦 	
	副査氏名	松尾哲彦 	
<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、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 子宮内膜の上皮細胞ではなく間質細胞のみを用いた理由を述べよ。 2) 正所性及び異所性子宮内膜間質細胞において脱落膜化刺激による細胞形態の変化を電子顕微鏡等で実際に観察したのか。 3) 子宮内膜間質細胞を3~4代継代後に実験に用いているが、実験直前の細胞が目的の間質細胞であることを細胞マーカー等で確認しているのか。 4) RNAの発現のみを観察しているが、蛋白発現について検討しているのか。 5) シグナル伝達系について考察しているが、蛋白のリン酸化等の活性化について検討したのか。 6) 受精卵の着床後に起こる脱落膜変化と通常の月経周期の分泌期に起こる脱落膜様変化の間には何か違いがあるのか。それとも両者は本質的に同じものであるという理解でよいのか。 7) 正所性子宮内膜間質と異所性子宮内膜間質では、それぞれを構成する細胞の種類、数、比率に違いはないか。 8) 脱落膜化の評価としてPRLとIGFBP-1を用いているが、それだけで十分なのか。脱落膜化を示すその他の指標、たとえば顕微鏡下の形態学的変化、機能的変化、あるいはその他のマーカーによる評価はしたのか。 9) Fig. 2のmiRNAの定量だが、正所性子宮内膜間質細胞におけるmiRNA-30a-5p, 30e-5p, 210の3種類の絶対量の比較は行ったか。 10) miRNA-210は、正所性子宮内膜間質細胞においても脱落膜化誘導の前後で顕著に増加しているように見えるが、これをどう考えるのか。 11) 脱落膜化の指標として選んだ2つのマーカー分子(PRL、IGFBP-1)の実際の脱落膜化現象への関与は、どれくらいわかっているのか。 12) 脱落膜化誘導剤のターゲット遺伝子や作用機序等についてのこれまでの知見について述べよ。 13) 今回選んだ、miR-30とmiR-210以外のmiRNAに変動はあったのか。 14) PRL、IGFBP-1が脱落膜化の指標は、量的変化なのか質的変化なのか。 15) Fig.2においてNESCとECSCにおいて、その上昇程度が大きく違うことの持つ意味は何か。 16) Fig.3の結果は、miR-30とmiR-210の下流の遺伝子の変化と断定してよいのか。 17) それぞれのmiRNAの強制発現や抑制実験をやる必要性はないのか。 <p>以上の質問に対して、学位申請者は概ね適切に回答した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。