

論 文 要 旨

Progestin-induced heart and neural crest derivatives-expressed transcript 2 inhibits
angiopoietin 2 via fibroblast growth factor 9 in human endometrial stromal cells
(ヒト子宮内膜間質細胞においてプロゲスチンが誘導する転写因子 HAND2 は
FGF9 を介して ANGPT2 を抑制する)

関西医科大学産科学・婦人科学講座
(指導：岡田英孝 教授)

村 田 絃 未

【はじめに】

ヒト子宮内膜が月経周期に伴い、剥脱（月経）、増殖、分化（脱落膜化）を繰り返す間、ダイナミックな血管新生の周期的変化が観察される。月経周期に伴う変化のみならず、胚着床、胎盤形成における子宮内膜の血管新生と血管のリモデリングはそれに続く妊娠の維持に重要である。卵巣ステロイドホルモンであるエストラジオール (E_2) とプロゲステロン (P) は子宮内膜間質細胞 (ESCs) に作用し、血管新生因子を介して子宮内膜の一連の血管構築を制御している。また胚着床～胎盤形成において、P は ESCs の形態学的・機能的な分化（脱落膜化）を誘導し胚の成長と生存を促す。我々はこれまでに転写因子 heart and neural crest derivatives-expressed transcript 2 (HAND2) が P により誘導され、ヒト ESCs の脱落膜化に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。今回我々は子宮内膜の血管構築に関わる分子機構を解明するために、転写因子 HAND2 と子宮内膜に存在する血管新生因子として線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factors : FGFs)、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF)、アンジオポエチン (angiopoietin : ANGPT) に着目して研究を行った。

【研究方法】

婦人科良性疾患のため摘出された正常月経周期のある女性の子宮から、研究参加の同意を得て子宮内膜を採取し、ESCs を分離培養した。ESCs に E_2 、酢酸メドロキシプロゲステロン (MPA)、P 受容体 (PR) アンタゴニスト (RU486)、HAND2-specific small interfering RNA (siRNA)、recombinant FGF (rFGF) を添加培養し、HAND2、FGFs、VEGF、ANGPT1/2 の mRNA と蛋白質発現量を Real-time RT-PCR 法、ELISA 法、Western Blotting 法を用いて解析した。

【結果】

E_2 +MPA を 3 日間添加培養した ESCs においてヒト子宮内膜に発現していることが報告されている FGFs の中で FGF9 の mRNA と蛋白質発現量が非添加群と比較し有意に低下していた。FGF9 発現量は ESCs の脱落膜化の間コントロール群と比較して有意に低下し、その変化は HAND2 の発現増加に遅れて認められ、さらに RU486 添加によって部分的に回復した。また siRNA を用いた HAND2 遺伝子ノックダウンを行った ESCs を E_2 +MPA を 3 日間添加培養、FGF9 の mRNA、蛋白質いずれの発現量もコントロール群と比較し有意に増加した。これらの結果からヒト ESCs において、P が誘導する HAND2 が FGF9 発現を抑制している分子機構が明らかとなった。さらに子宮内膜の血管構築における FGF9 の作用を明らかにするため、rFGF9 を ESCs に添加培養した。FGF receptor substrate 2 のリン酸化促進が観察され、ESCs に対する FGF9 の FGF receptor (FGFR) 活性化作用が示された。さらに rFGF9 添加により ANGPT2 の mRNA と蛋白質発現量の増加が観察された。 E_2 +MPA 添加によって低下した ANGPT2 発現量は RU486 添加によって部分的に回復し、HAND2-siRNA を

導入後 E₂+MPA 添加培養した ESCs において ANGPT2 発現量は増加した。これらの研究結果から、ヒト ESCs において P が誘導する HAND2 が FGF9 を介して ANGPT2 を制御している可能性が示された。

【考察】

今回我々の研究により、ヒト ESCs の脱落膜化において P により誘導された HAND2 が FGF9-FGFR シグナル伝達を抑制し、さらに ANGPT2 産生を抑制するメカニズムが示された。最近になって子宮内膜脱落膜化の異常が、妊娠高血圧腎症（preeclampsia : PE）や早産・死産といった周産期合併症の発症と関連があることが明らかにされつつある。ANGPT2 は血管構築の安定化を担う ANGPT1 に対して拮抗的に作用することで血管の脱安定化すなわち血管新生を促進する因子であり、これまでに PE 発症との関連が示唆されてきた血管新生因子の一つである。我々の研究成果が子宮内膜脱落膜化のメカニズムの理解、さらにはその異常の結果発症する疾患の病態解明につながることを期待する。