

〈5〉栄養膜細胞の分化を制御し、胎盤形成に関わる新規遺伝子 NECC1 の解析

浅野間 和夫

九州大学生体防御医学研究所ゲノム機能学部門ゲノム創薬・治療学分野

正常マウス胎盤における NECC1 の発現は胎齢 8.0 – 9.5 日にかけ海綿状栄養膜細胞層 (SPT) と栄養膜巨細胞層 (TGC) に限局して発現しており、NECC1 欠損変異マウスの解析では胎齢 9.5 日よりコントロールと比べて TGC の過形成と SPT の低形成を認めた。栄養膜幹細胞を Cdx2 の発現で検討したところ変異マウスでは発現細胞が著明に減少していた。In vitro での機能解析のため分化モデルとして Rcho-1 細胞、マウス栄養膜幹細胞株 (TS) を用いた。TS に分化刺激を与えると、巨細胞への分化に伴い NECC1 の発現を認めた。NECC1 発現アデノウイルスベクターを作製し、Rcho-1 細胞、マウス栄養膜幹細胞株に遺伝子導入し、分化刺激を与えたところ分化に対し抵抗性を示した。この結果は細胞の形態、DNA 量の半定量、分化マーカー発現の検討により導かれた。また、NECC1 の下流に位置する分子である SRF (serum response factor) との関連を探るため、SRF 結合部位を用いたレポーター活性を測定したところ Rcho-1 細胞の分化に伴い活性が上がり、NECC1 や優性ネガティブ型 SRF (DN-SRF) の共導入により抑制された。SRF は NECC1 と同様、SPT と TGC で発現しており、免疫沈降法により両者の関連性が示唆された。TGC の特異的分泌ホルモンである PI1 の転写制御領域を用いたレポーターアッセイを行ったところ分化刺激に伴い上昇する活性が野生型 SRF (wt-SRF) の共導入により促進され、NECC1、DN-SRF の共導入により抑制された。Wt-SRF、DN-SRF を TS に導入し、導入細胞を発現ベクターについたタグにより同定、形態を観察したところ、wt-SRF 導入細胞は分化刺激を与えなくても巨細胞への分化を示し、DN-SRF 導入細胞は逆に分化を抑制する結果であった。以上から、NECC1 は SRF を介する栄養膜細胞の分化シグナルにネガティブフィードバックを与え、栄養膜細胞の分化を調整する機能を有すると示唆された。

参考文献

1. Kato H, Inoue T, Asanoma K, et al. Activation of STAT3/5 signal pathways in complete mole and repression in choriocarcinoma cell lines. *Journal of Reproductive Medicine*, 51: 41-48, 2006.
2. Kato H, Inoue T, Asanoma K, et al. Induction of human endometrial cancer cell senescence through modulation of HIF-alpha activity by EGLN1. *International Journal of Cancer*, 118: 1144-1153, 2006.

- 3 . Arima T, Hata K, Tanaka S, Li E, Kato K, et al. Loss of the maternal imprint in Dnmt3Lmat^{-/-} mice leads to a differentiation defect in the extraembryonic tissue. *Developmental Biology*, 297: 361-373, 2006.
- 4 . Arima T, Yamasaki K, John RM, Kato K, et al. The human HYMAI/PLAGL1 differentially methylated region acts as an imprint control region in mice. *Genomics*, 88: 650-658, 2006.
- 5 . Ogura T, Kobayashi H, Ueoka Y, Okugawa K, Kato K, et al. Adenovirus-mediated calponin h1 gene therapy directed against peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*, 12: 5216-5223, 2006.
- 6 . Kato K, Yoshimoto M, Kato K, Adachi S, Asanoma K, et al. Characterization of side-population cells in human normal endometrium. *Human Reproduction* (in press)
- 7 . Suga S, Kato K, Yamayoshi A, Asanoma K, et al. An inhibitory effect on cell proliferation by blockage if the MAPK/estrogen receptor/MDM2 signal pathway in gynecologic cancer. *Gynecologic Oncology* (in press)
- 8 . Sonoda K, et al. Clinical significance of RCAS1 as a biomarker of uterine cancer. *Gynecologic Oncology*, 103: 924-931, 2006.
- 9 . Sonoda K, et al. Clinical significance of RCAS1 as a biomarker of ovarian cancer.