

# PGC-1 $\alpha$ は子宮内膜症病態形成に関与する

片岡 恒, 森 泰輔, 北脇 城

京都府立医科大学大学院女性生涯医科学

## はじめに

子宮内膜症は子宮内膜様組織が卵巣や腹膜、骨盤深部などで異所性に増殖することによって生じる。生殖年齢女性の約6~10%が罹患し、慢性骨盤痛や不妊の原因となる<sup>1)</sup>。子宮内膜症の詳細な病因や増悪のメカニズムは明らかではないが、子宮内膜症が引き起こす症状の多くは閉経後に改善することがほとんどであることから、子宮内膜症がエストロゲン依存性疾患であることは明らかである。病巣局所での異常高発現したアロマターゼにより高濃度の局所エストロゲンが生成されており、エストロゲン受容体を介して病巣における増殖が促進されている<sup>2)</sup>。さらに腹水中や局所的に高発現したサイトカインによる炎症の促進や子宮内膜症間質細胞のアポトーシス抵抗性など、さまざまな調節因子の発現やそれらが及ぼす作用が複雑なネットワークを形成し病態の増悪に寄与している<sup>3-5)</sup>。しかしながらこれらの制御機構についての詳細な理解は進んでいない。

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) coactivator 1 alpha (PGC-1 $\alpha$ ) はさまざまな核内受容体と共役する転写因子の1つとして知られており、エネルギー産生や熱消費に関わる多くの遺伝子発現を制御する。例えば、骨格筋においてはGlucose transporter 4 (GLUT4) の発現を調節することで筋内の糖代謝を調節し、また子宮内膜癌においてはEstrogen related receptor  $\alpha$  (ERR $\alpha$ ) と共役して血管新生に関与するなど組織特異的な働きを示す<sup>6,7)</sup>。その一方で、卵巣顆粒膜細胞においてはSteroidogenic factor-1 (SF-1) やLiver receptor homolog-1 (LRH-1) と共役し、プロゲステロンの生合成を調節するなどステロイドホルモンの生合成においても非常に重要な働きを示すことが知られている<sup>8)</sup>。実際、PGC-1 $\alpha$ は乳癌や卵巣癌、子宮体癌といったエストロゲン依存性疾患においてしばしば発現が認められ、その発現と臨床的予後が相関するとの報告もある<sup>9)</sup>。しかしな

がらエストロゲン依存性疾患の1つである子宮内膜症におけるPGC-1 $\alpha$ の発現や機能についての検討はこれまでになかった。われわれの研究室は、子宮内膜症組織においてPGC-1 $\alpha$ が正常子宮内膜組織に比して高発現していることを明らかにした<sup>10)</sup>。さらにPGC-1 $\alpha$ とアロマターゼの発現は相関し、子宮内膜症間質細胞のアロマターゼ発現に対してアロマターゼプロモーターIIの上流に存在するNuclear Receptor Half Site (NRHS) を介して増加的な効果をもたらすことも明らかにした<sup>10)</sup> (図1)。

これらの結果よりPGC-1 $\alpha$ は子宮内膜症において高発現しており、またアロマターゼを介した局所エストロゲン生合成において非常に重要な働きを示すことが示されたが、子宮内膜症の進展や増悪に関与するその他の因子、例えば細胞増殖や局所の炎症、アポトーシス抵抗性などに対する働きはいまだ不明である。そこで本研究では子宮内膜症においてPGC-1 $\alpha$ がそれらの因子に与える影響を明らかにし、PGC-1 $\alpha$ を介する系が子宮内膜症の病態形成や維持に対して重要な働きを示すかどうか、治療ターゲットとして有用であるかどうかを検討した。

## PGC-1 $\alpha$ の細胞増殖への影響

卵巣子宮内膜症を有する患者と子宮内膜症を有しない患者より、採取した手術時に採取した検体を確立されたプロトコルに従って卵巣子宮内膜症間質細胞、子宮内膜間質細胞(以下子宮内膜症間質細胞、子宮内膜間質細胞)へ分離・培養し、本研究に使用した。細胞増殖能はCell Counting Kit-8 (WST-8) によって評価した。

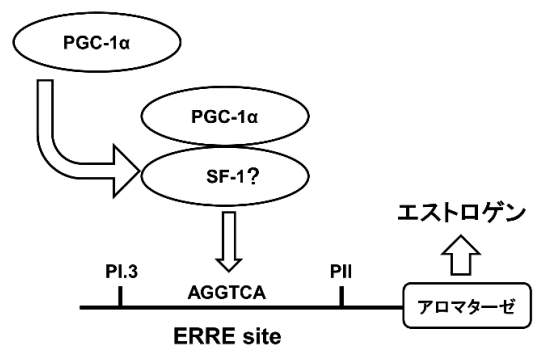


図1 子宮内膜症におけるPGC-1 $\alpha$ のエストロゲン生合成機構

連絡先：片岡 恒, 京都府立医科大学大学院女性生涯医科学  
〒602-8566 京都市上京区梶井町465  
TEL：075-251-5560  
FAX：075-251-5560  
E-mail：hlm-11@koto.kup-m.ac.jp

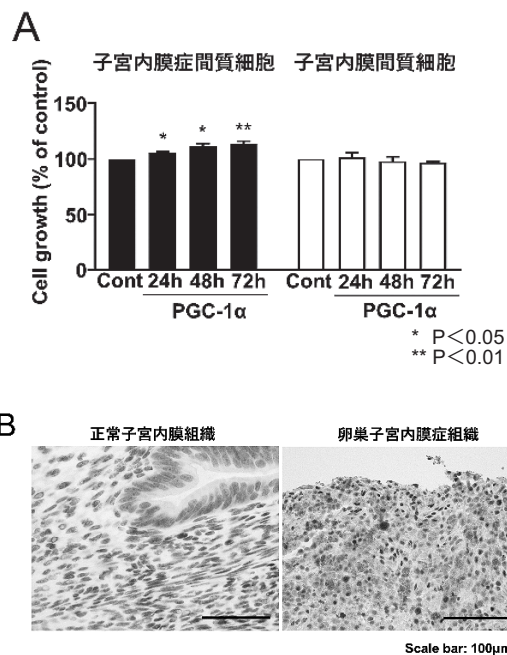


図2 (A) PGC-1αの細胞増殖への影響。  
(B) RXRαの組織内発現。

PGC-1αを強発現させたところ子宮内膜症間質細胞において、細胞増殖は有意に増加したが子宮内膜間質細胞では変化がなかった(図2-A)。PGC-1αに対する siRNA を用いてその knockdown 効果を検討すると、子宮内膜症間質細胞では細胞増殖が有意に抑制されたが、子宮内膜間質細胞では変化がみられなかった。

PGC-1αの働きを直接制御する化合物は現時点で知られていない。PGC-1αはEstrogen response element(ERE)の half-site (ERRE) である5'-AGGTCA-3' 配列を含む領域に結合するという ChIP アッセイにより明らかにされた知見に基づき、PGC-1αの機能を調節する化合物を検索するため5'-AGGTCA-3' 配列を含むルシフェラーゼレポーターアッセイを行った。そのうち、Retinoid-X-Receptor α (RXRα) のアンタゴニストである HX531 が子宮内膜症間質細胞において PGC-1α に対する転写阻害効果を示した。そこで本研究では PGC-1α の機能を抑制するために RXRα に対するアンタゴニストである HX531 を用いることにした。

子宮内膜症組織および正常子宮内膜組織における RXRα の発現について免疫組織化学染色を行ったところ、RXRα は子宮内膜症組織において正常子宮内膜組織と比べて、核内だけでなく細胞質においても有意に高発現していることが確認された(図2-B)。さらに面白いことに子宮内膜症組織標本における RXRα の細胞内局在は PGC-1α の細胞内局在とほぼ一致していることも明らかとなった。次に HX531 による子宮内膜症間質細胞およ

び子宮内膜間質細胞の細胞増殖への影響を調べたところ、HX531 は子宮内膜症間質細胞において PGC-1α による細胞増殖効果を抑制したが子宮内膜間質細胞では変化しなかった。

## PGC-1αの炎症への影響

以前のわれわれの研究から PGC-1α は子宮内膜症間質細胞において、アロマトラーゼ発現を介した局所エストロゲン生合成の促進に寄与していることがわかっている<sup>10</sup>。次にアロマトラーゼ mRNA 発現に対する HX531 の影響を検討したところ、HX531 は PGC-1α によるアロマトラーゼ mRNA の発現促進効果を有意に抑制した。アロマトラーゼは複数の非翻訳エクソン I とそのプロモーターを持ち、各組織でのアロマトラーゼの発現はエクソン I の選択とそのプロモーターの刺激により制御されている。子宮内膜症はエクソン I の中でも主にプロモーター I.3 と II を利用することが知られている。エクソン I 特異的 RT-PCR により、HX531 は子宮内膜症間質細胞において PGC-1α により発現が増強した I.3 と II のアロマトラーゼプロモーター発現を阻害することが明らかとなった。

さらに PGC-1α によるエストロゲンシグナル伝達経路への影響を明らかにするために、Estrogen receptor(ER) のアイソフォームおよび Serine/threonine-protein kinase-1 (SGK1) の発現レベルを検討した。SGK1 は ERβ の活性化によって調節される ERβ のシグナル伝達経路の下流因子の1つであり、卵巣子宮内膜症の細胞増殖に深く関係するといわれている<sup>11</sup>。PGC-1α が子宮内膜症間質細胞において ERβ および SGK1 の発現を増加させる一方で、ERα の発現を減少させることが明らかとなった。

子宮内膜症では局所の炎症において NF-κB を介する系が重要な働きを示すことが知られている<sup>3,4</sup>。リン酸化された IκB はプロテアソームへ移行し分解される。IκB が離れた NF-κB ダイマーは核内へ移行し、IL-6 や IL-8 などのサイトカインの発現を誘導し子宮内膜症の増悪と維持に働く。子宮内膜症間質細胞において、PGC-1α は IL-6 および IL-8 の発現を上昇させ、HX531 は PGC-1α によるそれらの発現促進効果を有意に減弱させた(図3-A)。ウェスタンブロットによる検討により、PGC-1α が子宮内膜症間質細胞において IκB のリン酸化を誘導すること、さらに HX531 が PGC-1α によって誘導された IκB のリン酸化を阻害することが明らかとなり、PGC-1α は NF-κB を介した系に作用を示すことで子宮内膜症の局所の炎症促進に寄与している可能性が示された。

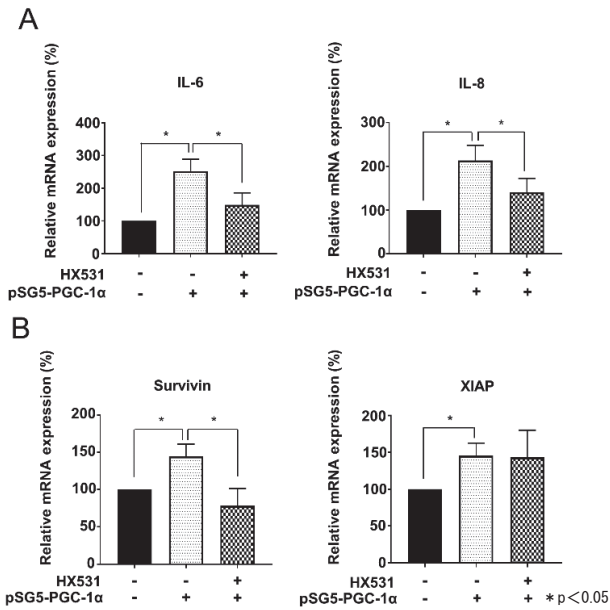


図3 (A) PGC-1 $\alpha$ の炎症性サイトカインへの影響  
(B) PGC-1 $\alpha$ の抗アポトーシス蛋白への影響

### PGC-1 $\alpha$ の抗アポトーシスへの影響

子宮内膜症ではサイトカインなどによるアポトーシス刺激に対する耐性を示しており、それは異所性の子宮内膜間質細胞の異常な生存に関与する<sup>5)</sup>。抗アポトーシス蛋白の1種である Inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) が子宮内膜症間質細胞で高発現しており、さらに IAP ファミリーである survivin が間質細胞のアポトーシス感受性において重要な働きを示すことがわかっている<sup>12,13)</sup>。同じ IAP ファミリーである survivin および XIAP の mRNA 発現レベルは、PGC-1 $\alpha$ の強発現によって有意に増加した。また HX531は PGC-1 $\alpha$ によって増強された survivin の発現を有意に抑制したが、XIAP への抑制効果はみられなかった (図3-B)。

### おわりに

本研究により、PGC-1 $\alpha$ はアロマトラーゼを介した局所エストロゲン生合成だけでなく、細胞増殖や局所の炎症、抗アポトーシスにおいても重要な役割を果たすことが示された。さらに RXR $\alpha$  antagonistである HX531は、PGC-1 $\alpha$ による細胞増殖促進だけでなく、アロマトラーゼや炎症性サイトカインである IL-6, IL-8, さらに抗アポトーシス蛋白である survivin の発現促進を抑制することが明らかとなった。これまでに取り組んできた研究は、子宮内膜症においては PGC-1 $\alpha$ はエストロゲン生合成のみなら

ず、炎症やアポトーシス抵抗性を誘導し、その結果惹起されたサイトカインが再び PGC-1 $\alpha$ を誘導するといった PGC-1 $\alpha$ を中心とした増悪サイクルの存在を提唱するものである。PGC-1 $\alpha$ を介する系は新規治療ターゲットとして有望であると考えられ、今後の研究の展開が期待される。

### 引用文献

- Giudice LC, Kao LC (2004) Endometriosis. *Lancet*, 364 : 1789-1799.
- Bulun SE (2009) Endometriosis. *N Engl J Med*, 360 : 268-279.
- Harada T, Iwabe T, Terakawa N (2001) Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril*; 76 : 1-10.
- Sakamoto Y, Harada T, Horie S, Iba Y, Taniguchi F, Yoshida S, Iwabe T, Terakawa N (2003) Tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 (IL-8) expression in endometriotic stromal cells, probably through nuclear factor-kappa B activation: gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced IL-8 expression. *J Clin Endocrinol Metab*, 88 : 730-735.
- Dmowski WP, Ding J, Shen J, Rana N, Fernandez BB, Braun DP (2001) Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod*, 16 : 1802-1808.
- Miura S, Kai Y, Ono M, Ezaki O (2003) Overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha down-regulates GLUT4 mRNA in skeletal muscles. *J Biol Chem*, 278 : 31385-31390.
- Ren Z, Yang H, Wang C, Ma X (2015) The effects of PGC-1 alpha on the proliferation and energy metabolism of malignant endometrial cancer cells. *Onco Targets Ther*, 8 : 769-774.
- Yazawa T, Inaoka Y, Okada R, Mizutani T, Yamazaki Y, Usami Y, Kuribayashi M, Orisaka M, Umezawa A, Miyamoto K (2010) PPAR-gamma coactivator-1alpha regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LHR-1. *Mol Endocrinol*, 24 : 485-496.
- Wen GJ, Anthony DJ, Robert EM (2003) Expression of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma (PPAR $\gamma$ ) and the PPAR $\gamma$  co-activator, PGC-1, in human breast cancer correlates with clinical outcomes. *Int J Cancer*, 106 : 752-757.
- Suganuma I, Mori T, Ito F, Tanaka Y, Sasaki A, Matsuo S, Kusuki I, Kitawaki J (2014) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1alpha enhances local estrogen biosynthesis by stimulating aromatase activity in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 99 : E1191-1198.
- Bulun SE, Monsavais D, Pavone ME, Dyson M, Xue Q, Attar E, Tokunaga H, Su EJ (2012) Role of estrogen receptor-beta in endometriosis. *Semin Reprod Med*, 30 : 39-45.
- Taniguchi F, Harada T, Miyakoda H, Iwabe T, Deura I, Tagashira Y, Miyamoto A, Watanabe A, Suou K, Uegaki T, Terakawa N (2009) TAK1 activation for cytokine synthesis and proliferation of endometriotic cells. *Mol Cell Endocrinol*, 307 : 196-204.
- Uegaki T, Taniguchi F, Nakamura K, Osaki M, Okada F, Yamamoto O, Harada T (2015) Inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) may be effective therapeutic targets for treating endometriosis. *Hum Reprod*, 30 : 149-158.