

平成 29 年 3 月 31 日

平成 28 年度

徳島大学先端控訴学研究所「共同利用・共同研究」成果報告書

所属：聖マリアンナ医科大学

難病治療研究センター

職位・氏名：研究員・岡田麻衣子

【共同研究の背景・目的概要】

ステロイドホルモンは、核内受容体の転写機能を介して多様な生理・薬理作用を発揮すると理解されている。一方でこれまでの研究過程において、核内受容体ガリグンド依存的な「ユビキチンリガーゼ活性調整因子」として機能することを *in vitro* にて報告している (Okada M., et al., Mol Endoc., 2015)。HECT ファミリーに属するユビキチンリガーゼ UBE3C を核内受容体結合型ユビキチンリガーゼとして同定しており、昨年度より脂溶性ビタミン研究分野・沢津橋特任講師および初期発生研究分野・竹本助教との共同研究で UBE3C ノックアウトマウスおよび UBE3C 活性変異体 C1051A マウスを樹立していただいている。本年度はこれらのマウスを用いてステロイドの生理作用における UBE3C の機能解析を行うことを目的とした。特に主要な女性ホルモンの一つであるエストロゲンに着目し、UBE3C の生理作用を明らかにし、生体内におけるステロイド依存的なタンパク分解機構の意義を明らかにすることを目的とした。

【共同研究の成果】

ステロイドホルモンの生理作用における UBE3C の機能解明にあたり、本年度は生殖器の発達・成熟に着目した。特に卵巣は、主要な女性ホルモンであるエストロゲンの産生臓器であり、また ER を介したエストロゲンの作用は卵巣の発達や成熟に必要不可欠である。

そこで、本年度は卵巣における UBE3C の機能解析を行った。昨年度樹立した UBE3C 活性変異体 C1051A マウスおよびそのコントロールマウスは、徳島大学の沢津橋特任講師により維持していただいております。共同研究のもと、これらのマウスの産仔数や原始卵胞数などの傾向を検討した。その結果、C1051A マウスは妊娠・出産が可能であり、雌雄共に不妊ではないことが明らかとなった。しかしながら、C1051A マウスはコントロールマウスに比べて産仔数や原始卵胞数が減少傾向にあり、卵巣機能の低下が示唆された。卵巣機能の低下の

要因の一つとして、顆粒膜細胞など、卵巣にて卵胞成熟を担う細胞群の機能不全やそれに伴う卵子自体の細胞老化が挙げられる。特に、これまでの研究経緯より、UBE3C がエストロゲンシグナルのみならず DNA 修復シグナルも受容することや、近年卵子の老化との関連が報告されている DNA 修復因子 BRCA1 の機能に影響を与えることを培養細胞による実験系にて見いだしている。これらの修復機構はゲノム安定性に必要不可欠であり、その破綻は細胞のがん化や老化に密接に関与することが知られている。

そこで、現在、C1051A マウスを用いて UBE3C によるタンパク分解機能が、卵巣を構成する細胞群の恒常性において重要である可能性を検討している。具体的には沢津橋特任講師により、C1051A およびコントロールマウスの卵巣を、週齢を追って摘出していただき、C1051A マウスにて卵巣内の細胞群に DNA 損傷が蓄積している可能性や細胞が老化している可能性について検討している。また、UBE3C が DNA 修復に必要であることは、がん細胞株を用いて見いだしているが、生体内においての必要性については依然不明である。そこで、正常細胞内における UBE3C の DNA 修復能について、現在評価を試みている。具体的には、徳島大学に出張し、沢津橋特任講師のご協力のもと、各種マウスから MEF の調整を行った。現在、これらの MEF を用いて、DNA 修復因子の集積や放射線感受性に対する UBE3C の影響を検討している。

以上、本共同研究において、女性ホルモンの産生・標的組織である卵巣における UBE3C の生理作用の一端が示唆された。