

# 論 文 要 旨

Thyroid hormone facilitates in vitro decidualization of human endometrial stromal cells  
via thyroid hormone receptors

(甲状腺ホルモンは甲状腺ホルモン受容体を介してヒト子宮内膜間質細胞の  
脱落膜化を誘導する)

関西医科大学産科学・婦人科学講座  
(指導：岡田英孝教授)

小 林 真 以 子

## 【はじめに】

卵巣、子宮内膜、トロホブラストには甲状腺ホルモン受容体が発現しており、排卵・受精・着床の妊娠過程において甲状腺ホルモンは深く関与していると考えられている。子宮内膜の脱落膜化とは、子宮内膜の構成成分である間質細胞が形態学および機能的に変化し、着床とそれに続く胎盤形成や妊娠の維持に不可欠な細胞の分化のことである。脱落膜化の過程では、様々な生理活性物質が産生され、細胞間の相互作用が生じている。この脱落膜化の過程においても、甲状腺ホルモンは重要な役割を果たしていると考えられるが、その分子機序についてはいまだ不明な点が多い。甲状腺疾患は特に生殖可能年齢の女性に多くみられるが、甲状腺中毒症よりも甲状腺機能低下症において妊孕性は低下することが報告されている。潜在性甲状腺機能低下症では排卵が維持されることが多いにも関わらず、受胎能の低下と関連している。そこで我々は本研究において、ヒト子宮内膜の脱落膜化における甲状腺ホルモンの役割の役割について *in vitro* で検討した。

## 【研究方法】

研究材料は、患者の同意のもとに関西医科大学付属病院および関連施設において、各種良性病変に対して行われる子宮摘出術で得られた検体を用いた。子宮内膜組織を機械的および酵素的に消化・分散させ、ヒト子宮内膜間質細胞 (hESCs) の分離培養を行った。分離した hESCs に、エストラジオール (E<sub>2</sub>) および酢酸メドロキシプロゲステロン (MPA) を添加して最大 12 日間の培養を行い、脱落膜化を誘導した。同時に各種濃度の L-Thyroxine (LT<sub>4</sub>) を添加し、脱落膜化における機能発現に及ぼす影響を評価した。脱落膜化の指標としては、確立されたマーカーである Prolactin (PRL) および Insulin-like growth factor-binding protein 1 (IGFBP-1) を用いた。

## 【結果】

コントロール群と比較し、E<sub>2</sub>+MPA 群で PRL および IGFBP-1 の mRNA 発現の増加を確認した。E<sub>2</sub>+MPA に加えて生理量の LT<sub>4</sub> (10<sup>-7</sup>M) を添加すると、両 mRNA の発現量は指数関数的に増加した。LT<sub>4</sub> のみの添加では脱落膜化は誘導されなかった。ELISA 法を用いて、培養液中の蛋白質でも同様の結果を確認した。脱落膜化が誘導された E<sub>2</sub>+MPA 群と E<sub>2</sub>+MPA+LT<sub>4</sub> 群において、形態学的にも紡錘形から大型の類円形細胞への分化が誘導され、後者でより顕著な変化を示した。脱落膜化の過程で、各甲状腺ホルモン受容体 (TR) α1、TRα2、TRβ1 の mRNA、蛋白質いずれの発現量にも変化はなかった。甲状腺ホルモンの代謝調節を担う脱ヨウ素酵素 (DIO) のうち、DIO3 は脱落膜化において強く誘導され、E<sub>2</sub>+MPA 群に比較して E<sub>2</sub>+MPA+LT<sub>4</sub> 群でその効果は顕著となった。一方で、DIO2 の発現は E<sub>2</sub>+MPA 群で減少し、E<sub>2</sub>+MPA+LT<sub>4</sub> 群でさらに減少した。性ステロイドホルモン受容体のうち、エストロゲン受容体 (ER) α および ERβ の発現量に変化はなかったが、プロゲステロン受容体 (PR) -AB (splicing variant である PR-A と

PR-B の共通部分) は E<sub>2</sub>+MPA 群で mRNA 発現が増加し、E<sub>2</sub>+MPA+LT4 群でさらに有意な増加を示した。PR-B でも同様の傾向を認めた。免疫沈降後のウェスタンブロットティングでは、E<sub>2</sub>+MPA+LT4 群における PR-A および PR-B 蛋白質の増加を確認した。siRNA を用いた TR $\alpha$  および TR $\beta$  の遺伝子ノックダウンを行うと、LT4 添加による PR-AB の mRNA 発現増加作用は消失し、さらに PRL および IGFBP-1 の mRNA 増加発現作用も消失した。さらに、脱落膜化を確認した hESCs より抽出した全 RNA を用いて RNA-Seq 解析を行い、脱落膜化における既知のマーカーのみならず種々の遺伝子発現が LT4 で誘導されることを確認した。

### 【考察】

hESCs において、甲状腺ホルモンが脱落膜化に促進的に作用することが示された。甲状腺ホルモンが脱落膜化をより強く誘導する背景には、甲状腺ホルモン受容体を介した genomic な作用によるプロゲステロン受容体の発現増加が関与していることが示唆された。現在までの疫学研究により、着床期子宮内膜に甲状腺ホルモンが重要であることは示されてきたが、本研究によって子宮内膜の脱落膜化における甲状腺ホルモンの重要性が初めて *in vitro* で示された。本研究は、甲状腺機能異常を伴う不妊症女性における病態解明につながるだけでなく、最適化医療を提供するための研究基盤となる。