

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：奨励研究

研究期間：2019

課題番号：19H00319

研究課題名：加齢に伴う卵子の質低下に対する新規予防法の探索

研究代表者 大井 なぎさ (OI, Nagisa)

東京大学・医学部附属病院・医療技術職員/生殖補助医療胚培養士

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000円

## 研究成果の概要：

生活習慣により体内に蓄積する Advanced Glycation End Products (AGEs：終末糖化産物) に着目し、これが卵子の発生能に与える影響とその機序を検討した。遊離 AGEs の指標、ならびに炎症性サイトカイン interleukin (IL)-6, IL-8 濃度は形態不良胚へと発生した卵子の卵胞液中で形態良好胚に発生した卵子に比し、有意に高値であった。また AGEs は顆粒膜細胞において、小胞体ストレス応答因子 activating transcription factor (ATF)4 の活性化を介して、IL-6, IL-8 産生を促進することが明らかとなった。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで加齢による卵巣機能低下には介入の手段がないと考えられてきた。しかし、AGEs の卵巣への蓄積が卵子発生能低下、卵胞局所環境における炎症性サイトカインの上昇と関連するという本研究より得られた知見と、生体内の AGEs 蓄積量は生活習慣の改善により改善可能な外因性 AGEs 量により規定される、ことを考え合わせると、AGEs 蓄積を減らす生活習慣（禁煙、高温無加湿により調理された食事摂取を控えるなど）が卵巣機能低下予防に有効である可能性が示唆された。挙児希望前からのプレコンセプションケアの重要性を科学的根拠に基づき示した知見といえる。

## 研究分野：生殖内分泌学

キーワード：終末糖化産物、小胞体ストレス、卵子発生能

## 1. 研究の目的

近年の挙児希望年齢の高年齢化により、不妊女性の加齢に伴う卵巣機能低下が問題となっている。卵子は胎児期より排卵まで数十年にわたり体内で休眠状態にあり新たに産生されることはないため、生体の加齢やそれに伴う生活習慣の強い影響下にある。しかし、加齢による卵巣機能、卵子質低下の機序は未だ不明であるためその予防策を講じることができず、多くの女性が不可逆的に低下した卵巣機能のため妊娠できない事態となっている。生体の加齢は種々の変化を個体にもたらすが、加齢変化の一つとして Advanced Glycation End Products (AGEs：終末糖化産物) の生体内への蓄積が挙げられる。AGEs は非酵素的糖化反応により生成される最終産物であり、その成因として、内因性すなわち加齢に伴い生体内のタンパク質が化学反応を起こした結果生理的に産生され蓄積するものと、外因性すなわち食事や喫煙などの生活習慣により惹起されるものがある。生体内に蓄積した AGEs はミトコンドリア機能の損傷などを介して糖尿病、慢性腎疾患など種々の病態に関与することが知られてきている。卵巣においても加齢に伴い AGEs が蓄積することが、げっ歯類、ヒト検体の検討により明らかになっている。しかしながら、加齢により卵巣に蓄積した AGEs の卵子の質への影響については、明らかにされていない。本研究はヒト卵胞液と卵胞が容れていた卵子の質の評価、卵子を取り囲む顆粒膜細胞への AGEs 蓄積への影響を評価することにより、卵巣への AGEs 蓄積の卵子の質に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 2. 研究成果

ヒト卵胞液 (FF)、卵丘細胞 (CCs) を用いた検討: 顕微授精治療における採卵時に、卵胞ごとに個別に卵胞液を回収した。また同時に卵子を囲んでいる CCs も卵胞ごとに個別に回収した。そして各卵胞より回収された各卵子を個別に培養し、卵子の質を反映するパラメータ、すなわち受精成立の有無、良好胚形成の有無を記録した。卵胞液中の AGEs, soluble receptor for AGE (sRAGE: AGE 作用に拮抗する) 濃度を測定し、その卵胞が包含していた卵子の質との関連の解析を行った。遊離 AGEs の指標である AGE/sRAGE (soluble receptor for AGE) 比は形態不良胚へと発生した卵子 (group I) の FF 中で、形態良好胚に発生した卵子 (group II) に比し、有意に高かった。また同一患者の卵胞同士で比較した場合、group I の FF において AGE/sRAGE 比、炎症性サイトカインである interleukin (IL)-6, IL-8 濃度がいずれも有意に高かった。また group I の CC において、小胞体ストレス応答因子 activating transcription factor (ATF) 4, IL-6, IL-8 mRNA 発現量がいずれも有意に高かった。

ヒト顆粒膜細胞 (GCs) 培養系を用いた検討: 体外受精治療時に卵胞液中より得られた GCs を培養して検討を行った。GCs を AGEs により刺激すると GCs からの IL-6, IL-8 の培養上清中への分泌が増加し、GCs における小胞体ストレス応答因子 ATF4 の発現が増加した。そして ATF4 発現ノックダウンした細胞においては、AGEs 刺激による IL-6, IL-8 分泌が減弱した。

卵胞における AGEs の蓄積により、卵胞局所環境において ER stress の活性化を介して炎症性サイトカインの産生が増加し、卵子の発生成低下と関連することが示された。ER stress、AGE-RAGE 経路は卵子の発生成向上のための治療ターゲットとなる可能性が示唆された。生体内の AGEs 蓄積量は生活習慣の改善により改善可能な外因性 AGEs 量により規定される。AGEs 蓄積を減らす生活習慣 (禁煙、高温無加湿により調理された食事摂取を控えるなど) を推進するプレコンセプションケアが卵巣機能低下予防に役立つ可能性がある。

## 3. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Chisato Kunitomi, Miyuki Harada, Nozomi Takahashi, Jerilee MK Azhary, Akari Kusamoto, Emi Nose, Nagisa Oi, Arisa Takeuchi, Osamu Wada-Hiraike, Tetsuya Hirata, Yasushi, Hirota, Kaori Koga, Tomoyuki Fujii, Yutaka Osuga, Activation of endoplasmic reticulum stress mediates oxidative stress-induced apoptosis of granulosa cells in ovaries affected by endometrioma. *Mol Hum Repro*, 査読有 vol 26, 2020, pp 40-52, 10.1093/molehr/gaz066
- ② Jerilee MK Azhary, Miyuki Harada, Chisato Kunitomi, Akari Kusamoto, Nozomi Takahashi, Emi Nose, Nagisa Oi, Osamu Wada-Hiraike, Yoko Urata, Tetsuya Hirata, Yasushi Hirota, Kaori Koga, Tomoyuki Fujii, Yutaka Osuga, Androgens increase accumulation of advanced glycation end products in granulosa cells by activating ER stress in PCOS, *Endocrinology*, 査読有, vol. 161, 2020, pp.1-13, 10.1210/endo/bqaa015
- ③ Nozomi Takahashi, Myuki Harada, Nagisa Oi, Gentaro Izumi, Kenji Momozawa, Atsushi Matsuzawa, Yukio Tokunaga, Tomoyuki Fujii, Yutaka Osuga, Preclinical validation of the new vitrification device possessing a feature of absorbing excess vitrification solution for the cryopreservation of human embryos., *J Obstet Gynaecol Res*, 査読有, vol. 46, 2020, pp.302-309, 10.1111/jog.14176.
- ④ Kenji Momozawa, Atsushi Matsuzawa, Yukio Tokunaga, Nagisha Ohi, Miyuki Harada, , A new vitrification device that absorbs excess vitrification solution adaptable to a closed system for the cryopreservation of mouse embryos, *Cryobiology*, 査読有, vol. 88, 2019, pp.9-14, 10.1016/j.cryobiol.2019.04.008.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 森嶋かほる、原田美由紀、大井なぎさ、矢神智美、眞田裕子、松尾光徳、眞壁友子、矢野倫子、宮下真理子、原口広史、金谷真由子、秋山育美、能瀬さやか、廣田泰、甲賀かをり、

平池修、大須賀稔、藤井知行、当院における妊孕性温存療法の現状、第62回日本生殖医学会学術講演会、神戸、2019年

- ② 矢神智美 原田美由紀 大井なぎさ 原口広史 眞田裕子 松尾光徳 眞壁友子 矢野倫子 宮下真理子 秋山育美 金谷真由子 森嶋かほる、東京大学医学部附属病院における妊孕性温存外来開設と医療チーム連携、一妊孕性温存を希望する乳がん患者の患者支援を始め、第62回日本生殖医学会学術講演会、神戸、2019年
- ③ 大井なぎさ 原田美由紀 高橋望 福田典子 小野寺優美 徳永幸雄 松澤篤史 桃沢健二 大須賀稔 藤井知行、新規ガラス化保存デバイス（ダイヤモンド）のヒト胚凍結融解における有用性、第37回受精着床学、新宿、2019年

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況（計 0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：原田 美由紀

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。