

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18217

研究課題名（和文）臓器連関に着目した多嚢胞性卵巣症候群の病態解析と新規治療法の開発

研究課題名（英文）Analysis of the pathophysiology of polycystic ovary syndrome with a focus on inter-organ relationships

研究代表者

大須賀 智子 (Osuka, Satoko)

名古屋大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：30778296

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：動物モデルや既存データの解析によりPCOSにおいて臓器間で関連する因子の抽出を行った。モデルの解析により肝臓で遺伝子発現変動のみられたヘパトカインとしてRBP4を検出、血清濃度の上昇を確認した。卵子の解析ではリボソーム関連のパスウェイの活性化が示された。RBP4とリボソーム活性化の関連は既報でも示されている。着床の場である子宮内膜についての既存データ解析ではIGF-1の発現低下やTNF- $\alpha$ パスウェイの活性化が認められた。TNF- $\alpha$ パスウェイはIGF-1で抑制、RBP4で活性化される。PCOSにおいてアンドロゲンの作用や肝臓からのRBP4分泌の上昇が代謝障害や不妊に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCOS（多嚢胞性卵巣症候群）は、排卵障害による不妊症に加え、糖質・脂質代謝異常や、子宮体がん、妊娠時中の周産期合併症の増加にも関与する。女性の10%程度に認められるありふれた疾患であるにもかかわらず、病態の詳細は不明であり、現在は対症療法のみで根本的な治療法はない。近年2型糖尿病や脂質代謝異常などの疾患において、臓器連関（臓器間のネットワーク）の重要性が多数報告されている。本研究では、PCOSを全身性の疾患ととらえて多臓器の解析を行うことで、PCOSにおいても臓器間のネットワークがその病態に関与することを示唆、PCOSの病態の理解を深め、抜本的な治療法開発に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We analyzed animal models and existing data to extract factors associated among organs in PCOS. Analysis of the model detected RBP4 as a hepatokine with altered gene expression in the liver and elevated serum levels. Analysis of oocytes showed activation of ribosome-related pathways, and RBP4 has also been reported to be associated with ribosome activation. In addition, analysis of existing data on the endometrium, the site of implantation, showed decreased expression of IGF-1 and activation of the TNF $\alpha$  pathway, which is suppressed by IGF-1 and activated by RBP4, suggesting that androgen action and increased RBP4 secretion from the liver in PCOS may contribute to metabolic disorders and infertility.

研究分野：不妊生殖

キーワード：多嚢胞性卵巣症候群

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は、排卵障害による不妊症に加え、糖質・脂質代謝異常や、子宮体がん、妊娠時中の周産期合併症の増加にも関与する。女性の10%程度に認められるありふれた疾患であるにもかかわらず、病態の詳細は不明であり、現在は対症療法のみで根本的な治療法はない。近年、2型糖尿病や脂質代謝異常などの疾患において、臓器連関(臓器間のネットワーク)の重要性が多数報告されている。代謝異常を呈するPCOSでも臓器連関が病態に寄与する可能性が示唆される。

(2) 研究代表者は、早期からPCOSを全身性疾患ととらえ、複数臓器における解析を可能にするため、動物モデル作製に取り組んできた。胎生期アンドロゲン投与により、ヒトPCOSに近い表現型をしめすモデルの作製に成功、視床下部神経ペプチドであるキस्पепチンの発現異常について報告している。当モデルを活用することで、ヒトPCOS患者では困難な複数臓器の解析を行うことが可能である。

### 2. 研究の目的

PCOSの動物モデルや臨床検体を活用することで、臓器間のネットワークの視点より、PCOSの新規治療に結びつくような病態解明を試みる。ヒト検体では解析できない臓器として、生殖内分泌を司る視床下部、代謝の重要な場である肝臓、妊娠に必須であり、妊孕能を大きく左右する卵子の解析を行う。臨床検体や既存データも活用し、PCOSの病態に関連する新規分子を同定、臓器間の相互作用における役割を見出す。

### 3. 研究の方法

(1) 動物モデルの解析: PCOSモデルラットならびにモデルマウスを胎生16-19日目に経母体にアンドロゲン(ジヒドロテストステロン)投与により作成する。PCOS様表現型として、性周期の異常や卵巣の多嚢胞化所見を確認する。モデル動物の肝臓、視床下部、卵子を採取し、RNA-seqを用い、コントロールと比した遺伝子発現変動の網羅的解析ならびに発現変動の原因検索として、DNAメチル化の網羅的解析を行う。また、施行RNA-seqで変動を認めた遺伝子について、免疫染色や血中濃度の測定等、タンパクレベルでのvalidationを行う。

(2) 既存データと臨床検体を用いた解析: ヒト検体ですでに解析データが蓄積されている子宮内膜については、既存データを利用し、非PCOS患者と、PCOS患者間で比較を行い、変動遺伝子の抽出を行う。同定された候補遺伝子について、非PCOS患者とPCOS患者の内膜細胞を用いた検証を行う。

(3) 臓器間のネットワークの検討: 3-(1)(2)で抽出された分子について、相互作用の検討を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 動物モデルの解析

PCOSラットモデルの肝臓と視床下部のRNA-seqにおける発現変動遺伝子: DEGs ( $|\text{Fold change}| > 2, p < 0.05$ ) 数は視床下部で12、肝臓で57、内共通したものは3遺伝子であった。視床下部と肝臓で共通して変化を示した遺伝子では、メチル化変化と発現変動遺伝子との関連は示されなかった。メチル化変化と発現変動を示した遺伝子は、視床下部でVglut1(高メチル化/発現低下)、Bcm1(低メチル化/発現低下)が認められた。VGLUT1-positive glutamatergic neuronはストレス反応における褐色脂肪細胞の熱産生やGnRHニューロンの制御に関連するという報告がある。またBCM1の遺伝子多型とPCOSの関連が報告されている。視床下部ではメチル化変化を示した遺伝子数は肝臓より多かったが、発現変動を示した遺伝子は少数であった。肝臓で遺伝子発現変動のみられたアディポカイン・ヘパトカインにLect2、Rbp4が認められた。このうちRBP4は、ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)にて血清濃度の上昇が確認された。RBP4はヒトPCOSにおける血中濃度の上昇の報告がある(引用文献1)。またPioglitazoneやfenretinideなどが降剤として挙げられることから、PCOSの治療薬候補となる可能性が示唆された。

PCOSモデルマウスの卵子の解析では、6-8週齢で、pregnant mare serum gonadotropin(pmsg)にて過排卵刺激して卵胞発育させ、44-48時間後に解剖し、卵子を回収した。卵子のRNA-seqにおける発現変動遺伝子: DEGs ( $|\text{Fold change}| > 2, p < 0.05$ ) 数は発現上昇を認めたものが90遺伝子、発現低下を示したものが27遺伝子であった。Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)を用いたパスウェイ解析では、ribosomeパスウェイの活性化を認めた(図1)。発現上昇がみとめられたリボソーム関連遺伝子について、モデルマウスの卵巣を用いた免疫染色によるvalidationを行い、該当タンパクの染色増強を確認した(図2)。卵子や卵胞発育とリボソームの関連については、リボソーム関連遺伝子の欠損により、卵胞が閉鎖卵胞となり、早発閉経にいたるといった報告がある(引用文献2)。リボソームパスウェイの活性化による、異常な卵胞発育亢

進が PCOS における異常卵胞発育と多嚢胞性卵巣に寄与している可能性が示唆された。

図1

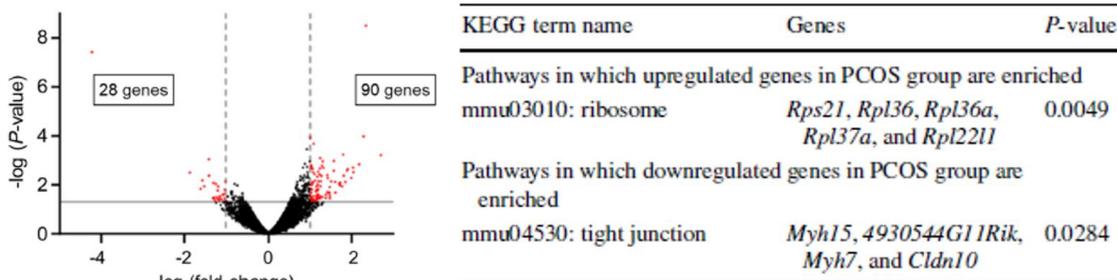
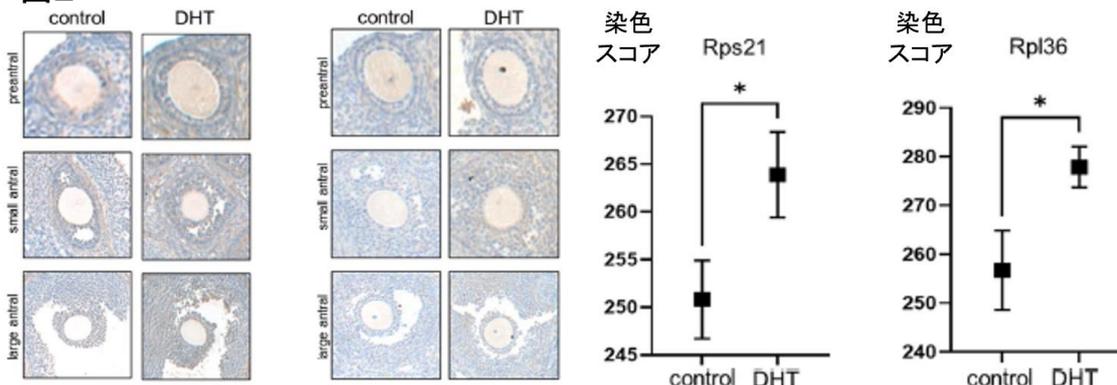


図2



(2) 既存データと臨床検体を用いた解析

着床の場である子宮内膜については、これまでヒト検体を用いた解析が複数行われており、結果がデータベース上に公表されていることから、これらを解析することにより、PCOS 患者で発現変動を来している遺伝子の抽出を行った。これにより、PCOS 患者の内膜では、間質細胞における TSPY2 の発現上昇ならびに、上皮細胞における IGF-1 の発現低下が認められた。パスウェイ解析では、肝臓の解析と同様、fatty acid metabolism の有意な変動が認められた。これらの遺伝子につき、ヒト内膜細胞での発現解析を行ったところ、PCOS 患者の内膜細胞では、正常ヒト内膜細胞に比して、TSPY2 は発現上昇を、IGF-1 は発現低下を示した。

(3) 相互作用

肥満、インスリン抵抗性、糖尿病に対し、IGF-1 は保護的作用を、RBP4 は有害な作用を来すとされる (参考文献 3)。肥満マウスモデルでは、RBP4 とリボソーム関連タンパクの活性化が増強されているという報告がある (参考文献 4)。肥満やインスリン抵抗性などに代表される PCOS 患者の代謝障害と、卵胞発育異常、着床障害にはこれらの因子が関連した密接なつながりがあると考えられる。直接の相互作用については、今後の検討が必要であるが、最も影響の強い因子を見出すことができれば、代謝障害、排卵障害、着床障害を一元的に治療できる新規治療法に結び付く可能性が期待される。

<引用文献>

- 1.Hahn S, et al. Retinol-binding protein 4 levels are elevated in polycystic ovary syndrome women with obesity and impaired glucose metabolism. *Eur J Endocrinol* 2007;157(2):201-207
2. Liu X-M, et al. Loss of oocyte Rps26 in mice arrests oocyte growth and causes premature ovarian failure. *Cell Death Dis.* 2018;9:1144.
- 3.Ludger Scheja, Joerg Heeren, The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(9):507-524.
- 4.N. Mody et al. Susceptibility to diet-induced obesity and glucose intolerance in the APPSWE/PSEN1A246E mouse model of Alzheimer's disease is associated with increased brain levels of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and retinol-binding protein 4 (RBP4), and basal phosphorylation of S6 ribosomal protein. *Diabetologia* 2011;54:2143-2151

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tsukui Yumiko, Kitahara Yoshikazu, Hasegawa Yuko, Kobayashi Mio, Osuka Satoko, Iwase Akira	4. 巻 69
2. 論文標題 Anti-Mullerian hormone levels in the diagnosis of adolescent polycystic ovarian syndrome: a systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 897 ~ 906
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ22-0081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Wei Wei, Komatsu Kouji, Osuka Satoko, Murase Tomohiko, Bayasula Bayasula, Nakanishi Natsuki, Nakamura Tomoko, Goto Maki, Iwase Akira, Masubuchi Satoru, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 29
2. 論文標題 Tamoxifen Activates Dormant Primordial Follicles in Mouse Ovaries	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reproductive Sciences	6. 最初と最後の頁 3404 ~ 3412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s43032-022-00896-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyake Natsuki, Nagai Takashi, Suga Hidetaka, Osuka Satoko, Kasai Takatoshi, Sakakibara Mayu, Soen Mika, Ozaki Hajime, Miwata Tsutomu, Asano Tomoyoshi, Kano Mayuko, Kawaguchi Yohei, Miyata Takashi, Kobayashi Tomoko, Sugiyama Mariko, Iwama Shintaro, Iwase Akira, Inoshita Naoko, Arima Hiroshi, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 163
2. 論文標題 Functional Lactotrophs in Induced Adenohypophysis Differentiated From Human iPS Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/endocr/bqac004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kasahara Yukiyo, Osuka Satoko, Takasaki Nobuyoshi, Bayasula, Koya Yoshihiro, Nakanishi Natsuki, Murase Tomohiko, Nakamura Tomoko, Goto Maki, Iwase Akira, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Primate-specific POTE-actin gene could play a role in human folliculogenesis by controlling the proliferation of granulosa cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death Discovery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-021-00566-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Muraoka Ayako, Osuka Satoko, Yabuki Atsushi, Bayasula, Yoshihara Masato, Tanaka Hideaki, Sonehara Reina, Miyake Natsuki, Murakami Mayuko, Yoshita Sayako, Nakanishi Natsuki, Nakamura Tomoko, Goto Maki, Iwase Akira, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 19
2. 論文標題 Impact of perioperative use of GnRH agonist or dienogest on ovarian reserve after cystectomy for endometriomas: a randomized controlled trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Reproductive Biology and Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12958-021-00866-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakanishi Natsuki, Osuka Satoko, Kono Tomohiro, Kobayashi Hisato, Ikeda Shinya, Bayasula, Bayasula, Sonehara Reina, Murakami Mayuko, Yoshita Sayako, Miyake Natsuki, Muraoka Ayako, Kasahara Yukiyo, Murase Tomohiko, Nakamura Tomoko, Goto Maki, Iwase Akira, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 30
2. 論文標題 Upregulated Ribosomal Pathway Impairs Follicle Development in a Polycystic Ovary Syndrome Mouse Model: Differential Gene Expression Analysis of Oocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reproductive Sciences	6. 最初と最後の頁 1306 ~ 1315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s43032-022-01095-7	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大須賀智子
2. 発表標題 多嚢胞性卵巣症候群の基礎と臨床
3. 学会等名 第32回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大須賀智子
2. 発表標題 アンドロゲン曝露によるキスペプチン/ゴナドトロピン分泌異常と不妊症 (多嚢胞性卵巣症候群)
3. 学会等名 第36回 下垂体研究会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoko Osuka, Sayako Yoshita, Tomofumi Shimizu, Chinami Matsumoto, Tomomi Seki, Natsuki Miyake, Reina Sonehara, Ayako Muraoka, Natsuki Nakanishi, Tomoko Nakamura, Hiroaki Kajiyama
2. 発表標題 Unkeito (Wen-jing-tang) Decreases Ovulation Disorder in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome
3. 学会等名 SRI 70th Annual Scientific Meeting
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Natsuki Miyake, Satoko Osuka, Maki Goto, Tomomi Seki, Ayako Muraoka, Natsuki Nakanishi, Tomoko Nakamura, Akira Iwase, Hiroaki Kajiyama
2. 発表標題 Association Between Anti-Mullerian Hormone Levels and Polycystic Ovarian Syndrome in a General Cohort of Young Women in Japan
3. 学会等名 SRI 70th Annual Scientific Meeting
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sayako Yoshita, Satoko Osuka, Ayako Muraoka, Shotaro Hayashi, Natsuki Nakanishi, Tomohiko Murase, Tomoko Nakamura, Maki Goto, Hiroaki Kajiyama, Tomofumi Shimizu, Chinami Matsumoto
2. 発表標題 Effects of Unkeito, a Traditional Japanese Kampo Medicine, on Animal Models of Polycystic Ovary Syndrome
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅菜月、須賀英隆、大須賀智子、井上直子、上野山賀久、小谷友美、梶山広明、束村博子、有馬寛
2. 発表標題 マウスES細胞を用いたキスペプチンニューロンを含む視床下部弓状核の分化誘導法の検討
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大須賀 智子
2. 発表標題 プレコンセプションケアの視点からの甲状腺疾患：基礎と臨床「甲状腺疾患と卵巣予備能評価」
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 沙矢子、大須賀 智子、田中 秀明、矢吹 淳司、曾根原 玲菜、三宅 菜月、村上 真由子、村岡 彩子、仲西 菜月、中村 智子、後藤 真紀、梶山 広明、清水 智史、松本 千波
2. 発表標題 温経湯の多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）モデルラットにおける 性周期異常に関連する基礎研究
3. 学会等名 第40回産婦人科漢方研究会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Natsuki Nakanishi, Satoko Osuka, Rena Sonehara, Natsuki Miyake, Mayuko Murakami, Shotaro Hayashi, Ayako Muraoka, Sayako Yoshita, Yukiyo Kasahara, Tomohiko Murase, Tomoko Nakamura, Maki Goto, Fumitaka Kikkawa
2. 発表標題 Differential Gene Expression and DNA Methylation Analysis of Oocyte in A Mouse Model of PCOS
3. 学会等名 The 72nd Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田沙矢子、大須賀智子、曾根原玲菜、三宅菜月、林祥太郎、村岡彩子、仲西菜月、笠原幸代、邨瀬智彦、中村智子、後藤真紀、吉川史隆
2. 発表標題 PCOS（多嚢胞性卵巣症候群）モデルラットにおける温経湯の効果
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 沙矢子、大須賀 智子、田中 秀明、矢吹 淳司、曾根原 玲菜、三宅 菜月、村上 真由子、林 祥太郎、村岡 彩子、仲西 菜月、渡邊 鈴美香、古澤 直美、邨瀬 智彦、中村 智子、後藤 真紀、梶山 広明
2. 発表標題 動物モデルを用いた 卵胞発育における 温経湯の効果の検討
3. 学会等名 第 65 回日本生殖医学会学術講演会
4. 発表年 2020年

## 〔図書〕 計1件

1. 著者名 Anna Sarah Erem, Satoko Osuka, Mohammed S. Razzaque	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer Cham	5. 総ページ数 163
3. 書名 Phosphate Metabolism From Physiology to Toxicity	

## 〔産業財産権〕

## 〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	仲西 菜月  (Nakanishi Natsuki)	名古屋大学・医学部附属病院・助教	
研究協力者	三宅 菜月  (Miyake Natsuki)	名古屋大学・医学系研究科・特任助教	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------