

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09517

研究課題名（和文）メラトニンによる卵子の質向上メカニズムの解明

研究課題名（英文）The analysis of the mechanism of melatonin

研究代表者

田村 博史（Tamura, Hiroshi）

山口大学・医学部・特別医学研究員

研究者番号：50379947

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：生殖補助医療技術の進歩にもかかわらず、卵子の質を向上させる有効な方法は確立していない。松果体ホルモンであるメラトニンは卵子の質の向上を目的として不妊症患者に臨床応用も行われているが、そのメカニズムは明らかではない。卵子の質の不良な症例にメラトニン錠3mg/日を併用して体外受精胚移植を施行し、採卵時に採取した顆粒膜細胞の遺伝子変化をRNAシーケンスで行った。Gene ontology解析では、細胞死、T細胞活性に関する遺伝子群の発現が抑制されており、ステロイド産生、血管新生に関する遺伝子群の発現が増強されていた。これらの遺伝子群を制御することでメラトニンは卵子の質の向上に関与していると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖補助医療において、卵子の質を向上させる有効な治療法が確立していない現状において、メラトニンを併用した体外受精胚移植は卵子の質を向上させる新たな治療法として注目される。本研究において抗酸化作用のみならず、受容体を介した内分泌作用によって生殖に関連した関連遺伝子群の発現を制御することによっても卵子の質の向上に関与することが網羅的、包括的に明らかとなった。これは生殖医療の進歩に大きく貢献するものである。

研究成果の概要（英文）：Despite advances in assisted reproductive technologies, effective methods to improve oocyte quality have not been established. Melatonin, a pineal hormone, has been clinically applied to improve oocyte quality. However, the mechanism by which melatonin improves oocyte quality is not fully understood. To elucidate this mechanism, melatonin tablets 3 mg/day were administered to the patients with poor oocyte quality in in vitro fertilization-embryo transfer program, and the granulosa cells collected at the oocyte retrieval were used for the experiments.

Gene ontology analysis showed that the expression of genes related to cell death and T-cell activity was suppressed, while the expression of genes related to steroid production and angiogenesis was enhanced. The expression of these genes was upregulated in the Gene ontology analysis. It is thought that melatonin is involved in the improvement of oocyte quality by regulating these gene groups.

研究分野：産婦人科

キーワード：メラトニン 体外受精胚移植 卵子の質

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 生殖補助医療技術の進歩にもかかわらず、不妊治療で行う体外受精胚移植(IVF-ET)では満足いく妊娠率が得られていない。卵子の質の低下が主な要因であるが詳細な機序は解明されておらず、卵子の質を向上させる有効な方法も確立していない。

(2) 我々はこれまでに、卵胞液中に松果体ホルモンであるメラトニンが高濃度に存在し、その抗酸化作用によって活性酸素から卵子や顆粒膜細胞を保護することを明らかにしてきた。さらに卵子の質の不良な不妊症患者にメラトニンを投与して受精率、妊娠率を向上させる臨床応用も行っている。

2. 研究の目的

(1) 我々は、直接的な抗酸化作用を期待してメラトニンを併用した IVF-ET を施行しているが、メラトニン投与によって卵胞液中の酸化ストレスが低下し、受精率・妊娠率が上昇し、卵子の質の向上を認めている。

(2) 一方で、メラトニン膜受容体 (MT1, MT2) は、卵子、顆粒膜細胞、cumulus cell にも存在している。直接的な抗酸化作用に加えて、受容体を介した作用も関与している可能性があり、メラトニンがどのような機序を介して卵子の質を向上させているのか、そのメカニズムを解明したい。

3. 研究の方法

(1) 患者の同意の下、IVF-ET 採卵時に採取した顆粒膜細胞を用いて実験に供する。

良好群(C群): 良好な受精率、胚盤胞が得られ妊娠が成立した症例、

不良群(F群): 受精率が不良(30%未満)で胚盤胞が得られない症例、

メラトニン群(M群): 不良群に対して次周期にメラトニン錠 3mg/日併用して受精率上昇、胚盤胞が得られた症例。

(2) これらの顆粒膜細胞より抽出した RNA を用いて網羅的トランスクリプトーム解析をマイクロアレイ法で行い、各群で変化のみられた遺伝子群を抽出した。クラスタリング解析を行い各群の遺伝子発現の特徴を調べた。

(3) Gene ontology 解析を行い、C群とF群を比較することで、卵子の質の不良な症例では良好な症例に比較してどのような変化があるか、また、F群とM群を比較することで、メラトニン投与前後でどのような変化がみられるかを調べた。

4. 研究成果

(1) 顆粒膜細胞より抽出した RNA を用いて網羅的トランスクリプトーム解析をマイクロアレイ法

で行った。クラスタリング解析を行い、各群の遺伝子発現を解析すると、F群と、C群+M群の2つのグループに分けられた(図1)。これはメラトニン投与によって不良群(F群)の遺伝子発現が良好群(C群)へ近づいたと考えられる。この結果から、不妊症患者に対するメラトニン投与は、抗酸化作用のみならず、遺伝子発現を制御することによっても卵子の質の向上に貢献する可能性があることを示唆する。

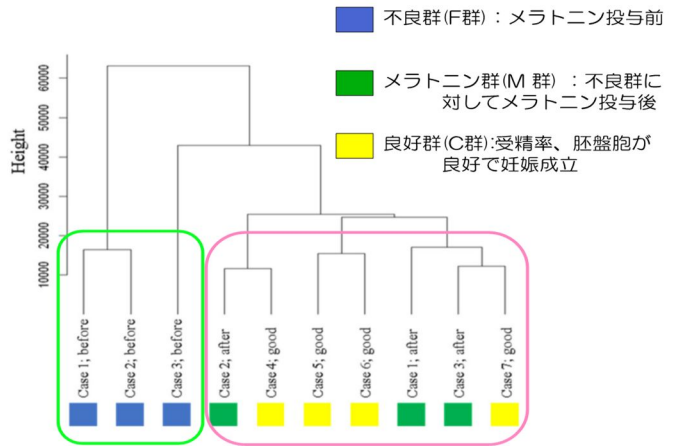


図1. Clustering analysisの結果

(2)どのような遺伝子発現を介してメラトニンが卵子の質を向上させるのかを調べるために、F群とM群を比較し、発現の変化する遺伝子群を抽出した。メラトニン投与前後で変化のあった遺伝子群を抽出し、gene ontology解析を行ったところ、細胞死、T cell 活性に関する遺伝子群が低下し、steroidogenesis、angiogenesisに関連する遺伝子群が増加していた(図2)。

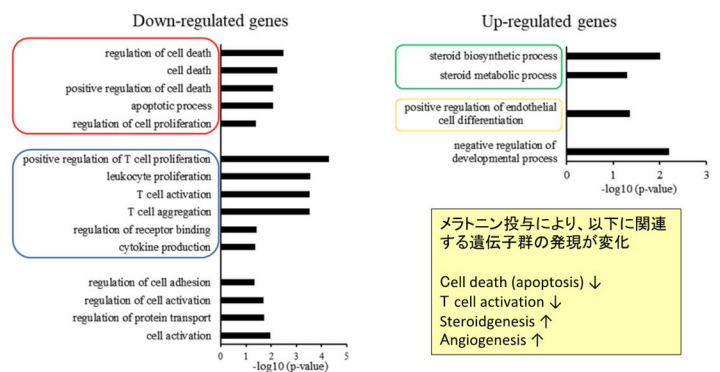


図2. Enriched gene ontology解析の結果

(3)これらの各遺伝子が実際に変化しているかを確認するため、mRNA発現を確認した。Cell death (RASSF2, TNFRSF68)、T cell 活性(CCL5)関連遺伝子発現はメラトニン投与で低下し、steroidogenesis (ACOX2, CYP2R1, HNF1A)、angiogenesis (ACVRL1, ETV2) 関連遺伝子発現はメラトニン投与で上昇していた。

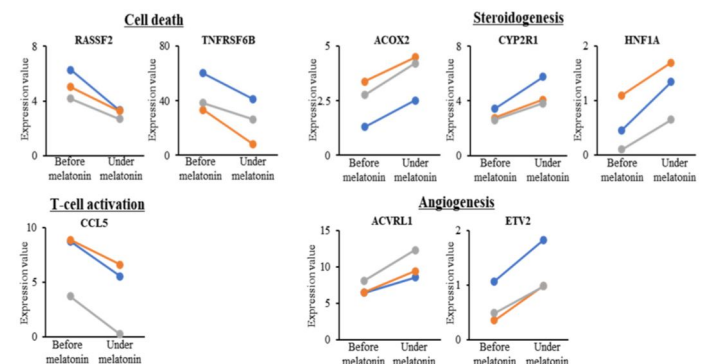


図3. メラトニン投与前後のmRNA発現の変化

(4)体外受精、顕微授精などの生殖補助医療において、卵子の質が不良のため妊娠できない患者に対して、メラトニンを併用した生殖補助医療が不妊症の新たな治療法として注目されている。抗酸化作用を有するメラトニンが卵胞内の酸化ストレスを軽減することによって、卵子や顆粒膜細胞を保護することにより卵子の質を改善すると考えられている。本研究結果からは、メラトニン受容体を介した内分泌作用によって、種々の遺伝子発現を制御することも、受精率や胚盤胞到達率の向上といった卵子の質の向上に貢献していることが明らかとなった。抗酸化作用、内分泌作用などの多様な作用によってメラトニンは卵子の質を向上させる可能性があり、メラトニン投与は新たな治療法として、生殖補助医療の成績向上に貢献できると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Isao Tamura, Hiroshi Tamura, Mai Kawamoto-Jozaki, Yuichiro Shirafuta, Taishi Fujimura, Yumiko Doi-Tanaka, Yumiko Mihara, Toshiaki Taketani, Norihiro Sugino | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Effects of Melatonin on the Transcriptome of Human Granulosa Cells, Fertilization and Blastocyst Formation. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 6731 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23126731 | 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 田村博史 | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 目で見るホルモンと生殖医学の最前線 メラトニンと生殖医学の最前線 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY | 6. 最初と最後の頁 160-165 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 田村博史 | 4. 巻 74 |
| 2. 論文標題 ホルモン調節機構 up-to-date 生殖におけるメラトニンの役割 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 日本産科婦人科学会雑誌 | 6. 最初と最後の頁 2178-2184 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 田村博史 | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 生殖とメラトニン 卵巣加齢と生殖補助医療(ART)への応用 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Mammalian Ova Research | 6. 最初と最後の頁 65-73 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 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 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 田村博史 |
| 2. 発表標題 生涯研修プログラム1 ホルモン調節機構up-to-date 生殖におけるメラトニンの役割 |
| 3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 城崎 舞, 田村 博史, 田村 功, 藤村 大志, 田中結美子, 白蓋雄一郎, 三原由実子, 竹谷 俊明, 杉野 法広 |
| 2. 発表標題 メラトニンの服用はどのような症例により有効か |
| 3. 学会等名 第66回日本生殖医学会学術講演会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔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 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 竹谷 俊明 (Taketani Toshiaki) (70464328) | 山口大学・医学部附属病院・准教授 (15501) | |

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 |
|---------|---------|