科学研究費助成事業(科学研究費補助金)研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号:10101

研究種目:若手研究(B)研究期間:2010-2011課題番号:22790225

研究課題名(和文) セロトニンを指標にした卵胞成熟機構と不妊症の解析

研究課題名(英文) The role of serotonin during oocytogenesis

研究代表者

福元 隆浩 (FUKUMOTO TAKAHIRO)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教

研究者番号:50433024

研究成果の概要(和文):

卵胞の成熟機構の直接的な影響をセロトニンが担っている事を明らかにした。具体的には、子宮内と卵巣内のセロトニン含有量が低下すると卵胞は異常形態と示す一方、セロトニン含有量を調整してやると、正常な卵胞へと回帰する事が判明した。この結果は、産婦人科等が発表している臨床結果の理解をさらに高める物を考えられ、今後の不妊症治療に向けた研究に役立つと思われる。

研究成果の概要 (英文):

We found the new role of serotonin during oocytogenesis.

交付決定額

(金額単位:円)

			(35 H)(1 125 • 1 4)
	直接経費	間接経費	合 計
2010年度	1, 900, 000	570,000	2, 470, 000
2011年度	1, 200, 000	360,000	1, 560, 000
年度			
年度			
年度			
総計	3, 100, 000	930, 000	4, 030, 000

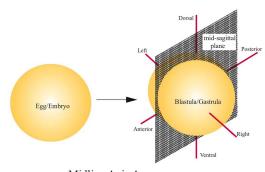
研究分野:生殖生理学

科研費の分科・細目:基礎医学

キーワード:セロトニン

1. 研究開始当初の背景

"ヒトの背骨は何故からだの中心に形成されるのか?"は、発生生物学において基本的問題の一つである。前後軸、背腹軸および左右軸の3軸により表現される生物の形は、この中心軸が規定されて初めて定義することが可能になる(図1)。脊椎動物の背骨の移に実在する組織で中心軸形成を考察でおは、と場合がある一方、放射相称動物や植物における仮定上の軸を規定する場合もある。動植物の形作りを考察するいずれの過程でも、体の中心軸は無意識/意識的に関わらず規定さ



Midline Axis Appearance 図 1

れる必要がある。つまり、中心軸の規定機構

は、体の形作りを考察する上で必須かつ根幹 をなす要因である。しかし、解剖学的知見が 豊富であるにも関わらず、その機構の理解は 極めて貧弱である。概念上の中心軸は、解剖 学的に5段階で規定される。1)胚組織と胚外 組織が受精卵内で区別される。2)胚組織での 形態変化が始まる。3)位置特異的な組織形成 が初期胚全体で始まる。4)中心軸の規定予定 位置の組織構造が形成される。 5)中心軸が解 剖学上規定される。各段階は、組織間の相互 作用ならびに誘導因子によって制御される。 現在幾つのシグナル機構がこれら段階を理 解するために提唱されているが、本研究では セロトニンシグナルに注目し、"中心軸はど のように規定されるのか? "の理解を目指す。 この生物学上の基本定義を理解する過程に おいて、遺伝子/タンパク質レベルではなく セロトニンという小分子で検討する本研究 は独自性があり、新しい見解が期待される。 中心軸の規定は継続的な前後/左右軸形成 の基本であり、他の研究分野への影響も多大 である。また、どの動植物も中心軸を有して いることから、本研究が科学の一般原理の理 解へと飛躍する事が期待できる。さらに、こ れら一連の成果が、奇形児や胎児欠損等、人 間の重篤疾患の機構理解を将来的にもたら す事を願う。

2. 研究の目的

ヒトの背骨はなぜ体の真ん中にあるのであろう? 我々は概して当たり前の事として受け入れられている現象に注目した。この現象は、背骨のように実在する物では明きからに、また円形動植物に置いても中心軸の形成はどのようになっているか、という1、と物学的に重要な歴史的疑問である(図1)。機構が理解できれば、ヒトでは奇形児治療は生物学的にも社会的にも大きな意味をなす。さらに、神経伝達物質としてのセロトニンの機能ではなく、一般生命現象に関与している事を証明できれば、生命科学の発展に大きく貢献できると考えた。

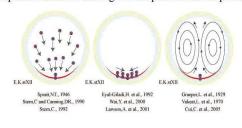
セロトニンシグナルが初期発生過程に関 与することは、幾つものモデル動物で示唆 されている。従 来脳神経科学の分野で的 らかにされた神経伝達因子としての機能が、 細胞分化等の基本的発生過程をも調節しているか否かどうかが契機として明らかにされてきた。例えば、セロシグケルが 遮断されたウニ受精卵では第一細胞分割が 途中で停止するが、遮断解除により細胞分割が再開される。また、マウス初期胚でセロトニン受容体の機能を阻害すると、マウ

スの頭蓋および心臓形成不全が誘導される。 さらに、ニワトリとカエル両初期胚を用い た実験において、我々はセロトニンシグナ ルが左右非対称形成に影響を与えることを 昨年明らかにした。最近では、5-HTの細胞 内濃度変化ならびに局在変化が初期発生過 程に関与する事を示唆する結果を我々は得 ている(未発表)。これら結果は、さらに異 なる生物でも確認されはじめ、我々だけでは なくいくつかのグループが実験事実を蓄積 し始めている。またドイツのグループにより、 マウスのES細胞に5-HTの代謝関連酵素が発 現している事が最近明らかにされ、我々の結 果との相関が強く期待される。これら一連の 研究成果は、セロトニン特異的受容体を介し たシグナル伝達解析に依存した現象理解と は異なり、セロトニン発見当時に記述された セロトニン自身の生理活性物質能を再認識 するものであるだけでなく、セロトニンの生 理活性物質としての新しい機能を探索でき ることが期待できる。

3. 研究の方法

ニワトリとメダカ初期胚を用い、中心軸 形成におけるセロトニンの役割を検討した。 古来100年にも及ぶ中心軸の規定機構に 関する研究は、現在までに大きく3つの仮説 に分類されているが、結論は未だに出ておら ず、その理解は未熟のままである。(図2)

Proposed models for the origin of the primitive streak precursor



Red crescent; Koller's Sickle Purple circle (•); primitve streak precursors

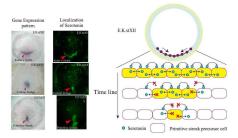
E.K.stXII (Eyal-giladi and Kochav stage XII) Black arrows; tissue flow of epiblast cell

図 2

我々はこれまでの研究結果ならびに三つのこれら結果より、独自のモデルをセロトニンを中心に提唱しており(図3)、上記のようにニワトリとメダカ初期胚を用いて同類の結果を得ている。研究手法としては引き続計るでは関連分子の発現の詳細を検討するだけでなく、分子等の遺伝子発現に子発現によび獲得機能の解析、他方、人工的後の解析に集中する。さらには接着の解析に集中する。おりには接着の延長線上に於いて、新規細胞接入の生殖細胞を用いた生殖細胞の性中過程の研究を開始した。また、がん転移にもセロトニ

ンおよび新規分子群が関与している事も判明したので、培養細胞を用いたがん転移に関する研究も開始した。

Potential model for the positional information of the midline



This process may be regulated under the synthesis/metabolism system of serotoning

Instructive cue or Result?

図3

4. 研究成果

この研究期間で顕著な成果としては、セロトニンの分泌場所および局在変化を制御している新規細胞接着分子を同定した事である。現在投稿中であり、今後はその詳細を検討する。また、予想通り、セロトニンは生物の形態形成過程に於いて重要な役割を担っている事が証明できたので、これら成果も現在の投稿中である。特に、ニワトリ初期胚を用いた実験に於いて、セロトニンの分泌量は、中心軸形成時期に呼応して著しく増加する事が明らかになった。

この結果はメダカでも同類の結果が出ており、セロトニンが中心軸規定に関与している事が種間で保存されている可能性を大いに示唆できた。これを支持する結果としても、ニワトリ初期胚でのセロトニンの局在変化同様に、メダカ初期胚においてもセロトニンは中心軸規定領域に特異的な局在を見せた。

現在はこれらの詳細な分子機構の解析を 行っており、近日中に論文を投稿できると確 信している。

他方、本研究より得られた結果から、他の 生命現象にも我々の考えている仮説が適。 できる事例が幾つも明らかになって熟する に生殖細胞に於いて、未熟卵胞が成熟する 程に於いてセロトニンが重要な役割をに於いてセロトニンが重要な役割をに於りて とが予想される。未成熟卵胞にどることが予想される。未成熟スピードると、その成熟スピーすることが を添加すると、その成熟スピーするより、生殖細胞にがけるセロトニンが極めて遅延神胞になった。ニンの共になり、生殖細胞に於けるとでリトニンの局在が認めまれるだけでなく、極めて限局した発現を見せれるだけでなく、成熟過程にセロトニンシグナルが 甘藷している事を強く示唆する物であり、今 後の結果が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計7件)

- 1:L.Wafa, H.Cheng, N.Plaa, F.Ghaidi, T.Fukumoto, L.Fazli, M.Gleave, M.Cox, and P. Rennie :Carbidopa Abrogates L-Dopa Decarboxylase Coactivation of the Androgen Receptor and Delays Prostate Tumor Progrssion. Int. j. Cancer 10: 225-236 2011
- 2: T.Tanaka*, T. Bai, <u>T.Fukumoto</u>, and Yukawa: STAT3 signals enhance intracellular Fas-mediated apoptotic signals in HHUA humanendometrial epithelial cells. **Mol Med Rep** 4: 307-312 2011
- 3:T.Shinka, D.Onodera, T.Tanaka, N.Shoji, T.Miyazak, T.Moriuchi, and T.Fukumoto*: Serotonin Synthesis and Metabolism related Molecules in a Human Prostate Cancer Cell Line.

 Oncol Letter 2: 211-215 2011
- 4:N.Tosa, <u>T Fukumoto</u>, and T.Miyazaki : The functional role of glucocorticoid receptor and Nur77 in thymocyte development. **Nuclear Receptors**, 67-86,2011
- 5:<u>T.Fukumoto</u> *, N.Tosa and T.Miyazki : AR has a potential role in mediating the serotonin synthesis mechanism. **Nuclear Receptors**, 113-120 2011
- 6:<u>T.Fukumoto</u>*, N.Shoji, D.Onodera, I. Sakurai, Y.Hirao, T.Tanaka and I,Hatamura: Dynamic content exchange of serotonin during oocyte maturation. **JMOR** ,27:216-219 2010
- 7:I. Sakurai, T. Kouda, <u>T Fukumoto</u>, I.Hatamura, and Y.Hirano:Cytological Changes of Ovarian Oocytes in Polycystic Ovary induced by the Injection Of testosterone propionate in Mice. **JMOR**,27:220-224 2010

[図書] (計2件)

- 1:<u>T.Fukumoto</u> *, N.Tosa and T.Miyazaki : AR has a potential role in mediating the serotonin synthesis mechanism. **Nuclear Receptors**, 113-120 2011
- 2:N.Tosa, <u>T Fukumoto</u>, and T.Miyazaki : The functional role of glucocorticoid receptor and Nur77 in thymocyte development.

Nuclear Receptors, 67-86,2011

- 6. 研究組織
- (1)研究代表者

福元 隆浩(FUKUMOTO TAKAHIRO) 北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教 研究者番号:50433024

(2)研究分担者 ()

研究者番号:

(3)連携研究者 ()

研究者番号: