

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18979

研究課題名(和文) プロゲステロンとその代謝産物による体温調節に関する機能形態学的メカニズムの解析

研究課題名(英文) thermogenic pathways of progesterone and its metabolites in rats

研究代表者

岩田 衣世 (Iwata, Kinuyo)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00582991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：体温上昇作用のあるプロゲステロンがどのような経路を介して作用しているのかを検討することを目的とした。ラットの体温測定法として、直腸温の測定を試みたが、体温計の挿入角度などにより値が不安定であったため、埋め込み型の体温計を利用することとした。次にプロゲステロンの体温上昇作用をみるため、プロゲステロンを雌ラットに皮下投与もしくはシリコンチューブによる連続投与を行ったが体温上昇作用はみられなかった。本実験では、再現性を得ることができなかったが、今後投与方法やプロゲステロンの代謝産物が体温へ及ぼす影響について検討する予定である。

研究成果の概要(英文)：This study aims to determine thermogenic pathways of progesterone in female rats. Rectal temperatures were measured, but values were a lack of stability. Therefore, an implantable thermometer was utilized. To study whether progesterone induces thermogenesis, progesterone was subcutaneously injected or a progesterone-containing silicon tube was implanted in ovariectomized rats. Progesterone did not affect body temperatures. Our results did not coincide with previous studies. We will try other methods and study effects of its metabolite on thermogenesis.

研究分野：生殖神経内分泌

キーワード：プロゲステロン 体温上昇

1. 研究開始当初の背景

1940年代にプロゲステロンに体温上昇作用があることが報告されて以降、女性の基礎体温の記録は生殖機能を診断するうえで非常に役立つ指標の一つとして使用されている。しかし、プロゲステロンの体温上昇の作用経路については、脳内の体温中枢である視索前野に作用すること、作用経路に下垂体が関与している可能性があること以外は未だ明らかになっていない。

環境温度(寒い時)と甲状腺ホルモンによる代謝活性化について、作用部位は異なるものの淡蒼縫線核を介して交感神経系を活性化し、褐色脂肪細胞に作用することが明らかとなっている(Lopez et al., 2010, Morrison et al., 2012)。また、寒い時、血中のACTHが上昇し、ACTHが褐色脂肪細胞に直接作用し、熱産生に関与しているUCP1の発現を増加させることが報告されている(Beukel et al., 2014)。プロゲステロンが、これら経路に関与しているかは明らかになっていない。

プロゲステロン投与による直腸温度の上昇は、卵巣摘出もしくは甲状腺摘出ラットにおいてみられたが、下垂体摘出ラットではプロゲステロン投与による体温上昇がみられなかった(Freeman et al. 1970)。このことからプロゲステロンによる体温上昇には甲状腺ホルモンとは別の経路を介しており、その経路に下垂体が関与している可能性が示唆されたが、その後詳しいメカニズムは明らかになっていない。

プロゲステロンの代謝産物で生理活性作用が報告されているアロプレグナノロンは、GABAA受容体のモジュレーターとして作用することが報告されている。寒い時、視索前野でGABAA受容体に作用し、交感神経系を介し褐色脂肪細胞を活性化することが報告されている。アロプレグナノロンが体温調節に関与しているかは未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

これまで報告されている結果をもとに本研究では、プロゲステロンの体温上昇作用について、プロゲステロンの作用経路について(交感神経系を介した経路と下垂体を介した経路の可能性)とプロゲステロンの代謝産物による体温調節の可能性について明らかにすることを目的とする。

プロゲステロンが交感神経系を活性化し、褐色脂肪細胞に作用する可能性と、下垂体(特にACTH)を介して褐色脂肪細胞に作用し体温を上昇させている可能性が考えられるため自律神経系と内分泌系両方の経路について検討する。

プロゲステロンの代謝産物であるアロプレグナノロンが直接脳内(特に視索前野)に作用し、体温調節に関わっている可能性について検討する。

3. 研究の方法

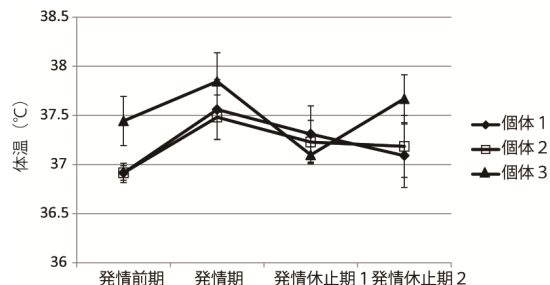
ラットの体温測定方法を確立するために、直腸温の測定と埋め込み型体温計による測定を検討した。直腸温の測定は、慣らしたラットを無麻酔下で保定しながら測定し、記録を行った。埋め込み型体温計(小動物用温度データロガーTD-LAB)は麻酔下で腹腔に体温計を留置し、実験終了後に取り出し、データ解析を行った。

プロゲステロンによる体温上昇が記録できるかを検討するため、プロゲステロン(40 µg/ml、400 µg/ml、4 mg/ml)含有シリコンチューブ(内径1.57 mm、外径3.18 mm、長さ2 cm)を卵巣除去した雌ラットの皮下に留置した。6日目に体温計を回収した。プロゲステロンの皮下投与に関しては、プロゲステロン(20 mg/kg BW)を卵巣除去した雌ラットの皮下に毎日単回投与を1週間行った。投与開始1週間後、体温計を回収した。

4. 研究成果

直腸温の測定

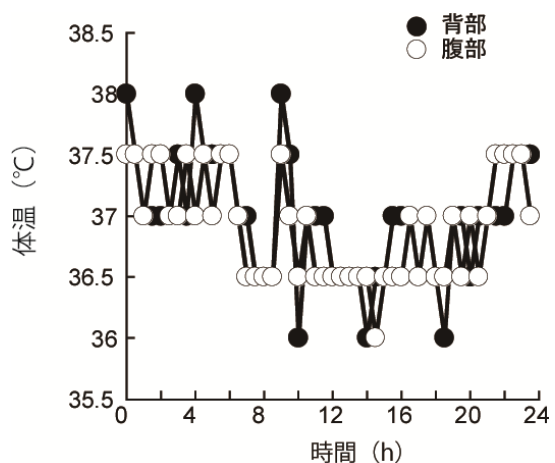
約一ヶ月間測定を行い性周期ごとによる直腸温の変化を示した。



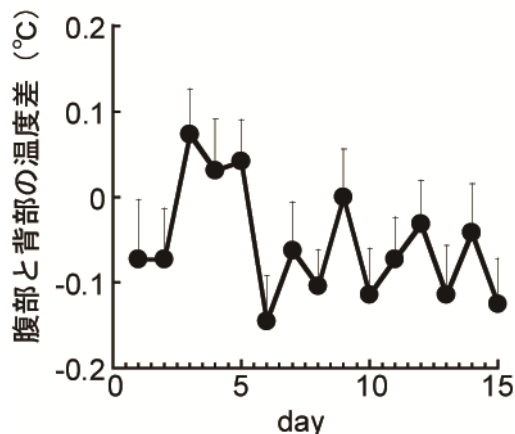
性周期による差はみられなかった。また温度計の挿入の角度などにより測定値にばらつきがみられたため、埋め込み型体温計による測定を試みた。

埋め込み型体温計による測定

腹部に体温計を埋め込み測定することにより、体温の日内変動を記録することができた。次に体温計の位置による差をみるため、腹腔と背部の皮下(肩甲骨あたり)に体温計を埋め込み測定した。

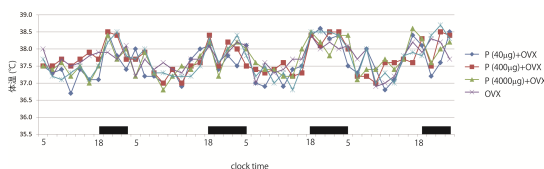


30分置きに測定を行い、24時間の腹部と背部の測定値を示した。値に差がみられるところもあったが、値が一致しているところが多く見られた。

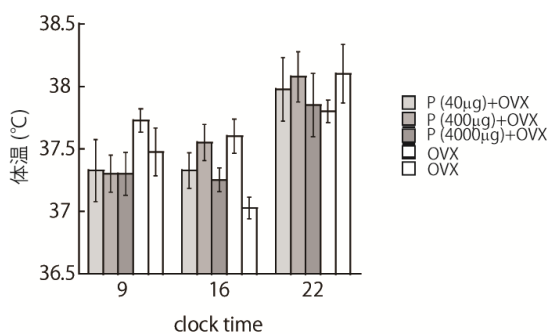


上の図は、腹部と背部の温度差について1日平均を求め、15日間示したグラフである。一日平均 ± 0.1 の差がみられた。日によってばらつきがみられたが、どちらに留置しても値に影響しないと考え、腹部に体温計を留置することにした。

次にプロゲステロンによる体温上昇が記録できるかを検討するため、シリコンチューブを使用することによりプロゲステロンに暴露し続けた状態で体温を測定した。

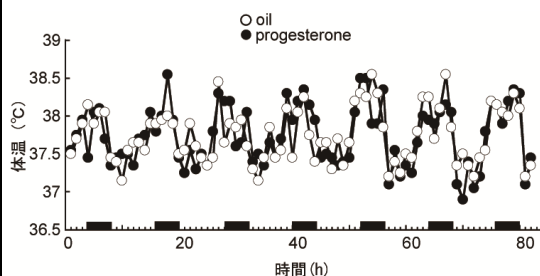


下の黒いバーは暗期時を示している。



上の図は9時、16時、22時の体温を比較したグラフである。どの時間帯もプロゲステロンによる影響はみられなかった。

次にプロゲステロン(20 mg/kg BW)を皮下に毎日単回投与を1週間行った。測定は2時間ごとに記録した。対照群にはプロゲステロンの溶媒である oil を投与した。



下の黒いバーは暗期時を示している。グラフは各群2個体の平均を示している。プロゲステロンによる影響はみられなかった。

以上の結果より、ラットの体温の日内変動を記録することができた。プロゲステロンにより体温の変化はみられなかった。今回内因性のステロイドホルモンの影響をなくすため、卵巣除去したラットにプロゲステロンを投与したが、今後はエストロゲン存在下でのプロゲステロンの効果について検討する予定である。また、プロゲステロン投与後の血中プロゲステロン値や投与方法などについても検討する必要があると考えた。プロゲステロン代謝産物を脳内に投与し体温への影響についても検討していく予定である。

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 4件)

1) Iwata K., Kunimura Y., Matsumoto K., Ozawa H. 2017 Effect of androgen on Kiss1 expression and luteinizing hormone release in female rats. *Journal of Endocrinology* 233:3 281-292
DOI: 10.1530/JOE-16-0568 査読有

2) Kunimura Y., Iwata K., Ishigami A., Ozawa H. 2017 Aged-related alterations in hypothalamic kisspeptin, neurokinin B and dynorphin neurons and in pulsatile LH release in female and male rats. *Neurobiology of Aging* 50 30-38
DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2016.10.018 査読有

3) Iwata K., Ikehara M., Kunimura Y., Ozawa H. 2016 Interactions between kisspeptin neurons and hypothalamic tuberoinfundibular dopaminergic neurons in aged female rats. *Acta Histochemica et Cytochemica* 49 191-196
DOI:10.1267/ahc.16027 査読有

4) Murakawa H., Iwata K., Takeshita T., Ozawa H. 2016 Immunoelectron microscopic observation of the subcellular localization of kisspeptin, neurokinin B and dynorphin A in KNDy neurons in the

arcuate nucleus of the female rat.
Neuroscience Letters 612 161-166
DOI:10.1016/j.neulet.2015.12.008 査読有

〔学会発表〕(計 1件)

1) Iwata K., Kunimura Y., Ozawa H.
Expression of androgen receptor in
kisspeptin neurons of female rats. 9th
international meeting STEROIDS AND
NERVOUS SYSTEM 2017/2/11-2/15 Torino
(Italy)

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 衣世 (IWATA, Kinuyo)
日本医科大学 医学部 解剖学(生体構造
学) 講師
研究者番号: 00582991

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()