

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24045

研究課題名(和文) Neuropeptide Yは多嚢胞性卵巣症候群の卵胞発育障害に関与しているのか

研究課題名(英文) The role of Neuropeptide Y in pathophysiology PCOS follicular development failure

研究代表者

浦田 陽子 (Urata, Yoko)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20572598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：<結果1>24時間のアンドロゲン刺激(in vitro)では、ラット顆粒膜細胞のNPYおよびNPY受容体発現は変化しなかった。<結果2>1ヵ月のアンドロゲン刺激(in vitro)により、ラット顆粒膜細胞のNPYおよびNPY受容体発現は変化した。<結果3>DHTを1ヵ月間投与(in vivo)したラット顆粒膜細胞を、NPYで刺激(in vitro)し、アポトーシスおよび細胞増殖能を、TUNELアッセイとKi67の細胞免疫染色で評価した。DHT投与の有無により、アポトーシスのパターンは変化した。<結果4>ヒト卵胞液をIVF患者より採取し、NPY濃度をELISAで測定した。現在解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Neuropeptide Yが多嚢胞性卵巣症候群の卵胞発育障害治療における、新規ターゲット分子の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：<Objectives> PCOS accounts for 80% of anovulatory infertile women, but the pathophysiology of its follicular developmental disorders has not been elucidated and there is no specific treatment method. Neuropeptide Y (NPY), a neuropeptide, is known to have high blood levels in non-obese PCOS women, and NPY may be involved in PCOS. The objective of this study is to clarify (1) the mechanism of regulation of NPY and NPY receptor expression in the PCOS ovary, and (2) the function of NPY in the PCOS ovary. <Result>1.Androgen stimulation did not change NPY and NPY receptor expression in rodent granulosa cells. 2.Chronic androgen stimulation changed the expression of NPY and NPY receptors in rodent granulosa cells.3.Rodent granulosa cells administered with chronic DHT were stimulated with acute NPY, and apoptosis and cell proliferation ability were evaluated. The pattern of apoptosis changed with and without DHT administration.4.NPY concentration of human follicular fluid is under analysis.

研究分野：産婦人科学

キーワード：Neuropeptide Y 多嚢胞性卵巣症候群 卵胞発育障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) は無排卵性不妊の女性の 80% を占めるが、その卵胞発育障害の病態は解明されておらず、特異的な治療法はない。PCOS 卵胞ではマクロファージが多く存在しており、免疫学的因子の関与が考えられる。神経ペプチドである Neuropeptide Y (NPY) は、非肥満 PCOS 女性の血中濃度が高いことが知られており、NPY の PCOS への関与が考えられる。

### 2. 研究の目的

(1) PCOS 卵巣での NPY と NPY 受容体の発現制御機構

(2) PCOS 卵巣での NPY の機能 (卵胞発育の制御と、免疫学的機能) を明らかにする

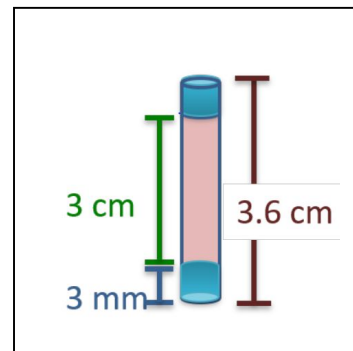
上記を目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) げっ歯類卵巣より顆粒膜細胞 (GC) を分離培養した。

(2) 高アンドロゲン暴露ラットの作成

右図のような、7.5mg のジヒドロテストステロンを内包したシリコンカプセルを作成し、ジヒドロテストステロンが 83  $\mu\text{g}$ /日徐放されるようにする。カプセルを、3 週令幼若雌げっ歯類に皮下移植し、1 か月後に卵巣を摘出した。



(3) ヒト卵胞液を遠心し、上清を回収した。

### 4. 研究成果

(1) アンドロゲン刺激 (in vitro) では、NPY および NPY 受容体発現は変化しなかった。

幼若げっ歯類の卵巣より分離した顆粒膜細胞を、24 時間ジヒドロテストステロンで in vitro 刺激したところ、NPY および NPY 受容体発現は変化しなかった。

(2) 1 か月の高アンドロゲン刺激 (in vitro) により、NPY および NPY 受容体発現は変化した。

ジヒドロテストステロンを 1 か月間投与 (in vivo) した幼若げっ歯類より、卵巣を摘出し、顆粒膜細胞を分離した。分離した顆粒膜細胞での、NPY と NPY 受容体の発現を、Western Blot 法で確認した。NPY 発現は低下し、NPY 受容体は種類によって変化のパターンが異なっていた。

(3) ジヒドロテストステロンを 1 か月間投与 (in vivo) した幼若げっ歯類より、卵巣を摘出し、顆粒膜細胞を分離した。分離した顆粒膜細胞を、NPY で刺激 (in vitro) し、アポトーシスおよび細胞増殖能を、TUNEL アッセイと Ki67 の細胞免疫染色で評価した。ジヒドロテストステロン投与の有無により、アポトーシスのパターンは変化した。

(4) ヒト卵胞液を IVF 患者より採取し、NPY 濃度を ELISA で測定した。

PCOS の有無、血清 AMH、BMI、年齢といった患者背景で解析をした。現在解析中である。

以上より、卵巣顆粒膜細胞の NPY に対するアンドロゲンの作用は、長期的なものと考えられた。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 zhary JMK, Harada M, Kunitomi C, Kusamoto A, Takahashi N, Nose E, Oi N, Wada-Hiraike O, Urata Y, Hirata T, Hirota Y, Koga K, Fujii T, Osuga Y.	4. 巻 161
2. 論文標題 Androgens Increase Accumulation of Advanced Glycation End Products in Granulosa Cells by Activating ER Stress in PCOS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/endo/bqaa015	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 該当する

1. 著者名 Kunitomi C, Harada M, Kusamoto A, Azhary JM, Nose E, Koike H, Xu Z, Urata Y, Takahashi N, Wada-Hiraike O, Hirota Y, Koga K, Fujii T, Osuga Y	4. 巻 27
2. 論文標題 Induction of aryl hydrocarbon receptor in granulosa cells by endoplasmic reticulum stress contributes to pathology of polycystic ovary syndrome.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Hum Reprod	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/molehr/gaab003	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------