

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790240

研究課題名(和文)多嚢胞性卵巣症候群発症メカニズム解明への神経学的アプローチ

研究課題名(英文)Alterations in reproductive neuroendocrine system of a rat model of polycystic ovary syndrome

研究代表者

岩田 衣世(iwata, kinuyo)

日本医科大学・医学部・助教

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、(間接経費) 630,000円

研究成果の概要(和文)：高アンドロゲン投与による多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)モデルラットの脳内キスペプチンニューロンの発現と黄体形成ホルモン(LH)の血中の分泌状態について検討した。高アンドロゲンにより、卵胞発育に関わるキスペプチンの発現は低下しており、LHパルスも抑制されていた。排卵に関わるキスペプチンには異常がなかったものの、下垂体での性腺刺激ホルモン放出ホルモンに対する反応性が低下していたことから、排卵を誘起するLHサージが抑制されていることが明らかとなった。PCOSの特徴の一つである高アンドロゲン血症では、アンドロゲンが脳内のキスペプチンと下垂体に作用し、卵胞発育や排卵に影響を与える可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Expression of kisspeptin in the brain and luteinizing hormone (LH) levels in the plasma were examined in androgen-induced polycystic ovary syndrome (PCOS) model rats. Kisspeptin expression and LH pulses associated with follicular development were suppressed in PCOS model rats. Although kisspeptin associated with ovulation was unaffected by androgen, GnRH administration could not induce LH release in PCOS rats, resulting in a suppression of LH surge. Hence, hyperandrogenism in women with PCOS may be associated with anovulation and menstrual irregularity by adversely affecting kisspeptin neurons and the pituitary.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード：キスペプチン 多嚢胞性卵巣症候群 アンドロゲン 黄体形成ホルモン 脳 生殖

### 1. 研究開始当初の背景

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は、卵胞の発育・排卵がうまくいかないことにより、卵巣に多くの卵胞が存在する疾患で、女性の6~10%で見られると報告されている。PCOSの患者では、生理不順や無月経などがみられ、不妊につながることから女性にとって重要な問題となっている。PCOSの原因としては、視床下部下垂体性腺軸の異常によりホルモン分泌が乱れることが考えられているが、はっきりとした原因はわかっていない。

キスペプチンは、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の分泌を促進し、その結果、下垂体から黄体形成ホルモン(LH)の分泌を促すことにより卵胞発育や排卵に関与している。ラットやマウスを用いた研究により、キスペプチンは脳内で主に2か所に発現しており、前腹側室周囲核のキスペプチンは、高濃度のエストロゲンに反応して、LHサージを誘起することで排卵機構に、弓状核のキスペプチンはLHのパルス状分泌を制御することで卵胞発育に関与していると考えられている。PCOSとキスペプチンの関係については、PCOS患者の血中のキスペプチン濃度が低下しているという報告はあるが、詳しい関係については未だ不明である。

### 2. 研究の目的

PCOSの発症原因の一つとして、脳内のキスペプチンに異常があるのではないかと考え、PCOSモデルラットを使用して、脳内のキスペプチンの発現と血中のLHの分泌について検討することを目的とした。モデル動物については、すでに論文で報告されている長期アンドロゲン暴露により誘発させたPCOSモデルラットを使用した。高アンドロゲン血症は、PCOSの診断基準の一つであり、特に欧米において、PCOS患者で高アンドロゲン血症が多くみられる。これまでPCOSモデルラットの作成方法については数多くの報告があるが、本研究では、長期アンドロゲン暴露した雌ラットを用いて、脳内のキスペプチンの発現について解析を行った。

### 3. 研究の方法

離乳直後のメスラットの皮下に90日間投与可能なdihydrotestosterone(DHT)のペレットをインプラントし、成熟後実験に使用した。

(1)卵胞発育の機構について検討するため、卵巣除去した動物を用いて、弓状核のキスペプチンの発現をin situ hybridizationで検討した。また、血中のLHのパルス状分泌について検討するため、採血を行い、LHの濃度をラジオイムノアッセイにて測定した。

(2)排卵機構について検討するため、LHサージを誘起するように高濃度のエストロゲンを充填したシリコンチューブを皮下にインプラントした動物を用いた。前腹側室周囲

核のキスペプチンの発現をin situ hybridizationと免疫組織化学を用いて検討した。LHのサージ状分泌を調べるため、採血を行い、LHの濃度を測定した。

(3)キスペプチンを投与し、血中LH濃度を測定した。

(4)下垂体のGnRHに対する反応性を検討するため、GnRHのアゴニストを投与し、血中のLH濃度を測定した。

(5)雌においてキスペプチンニューロンが直接アンドロゲンの作用を受けるのかを調べるため、アンドロゲン受容体が発現しているかを、免疫組織化学とin situ hybridizationを用いて検討した。

### 4. 研究成果

(1)卵胞発育に関わっているLHのパルス状分泌がDHTラットで有意に低下していた。またLHパルス分泌に関与している弓状核のキスペプチンの発現もDHTラットで有意に低下していた(図1)。

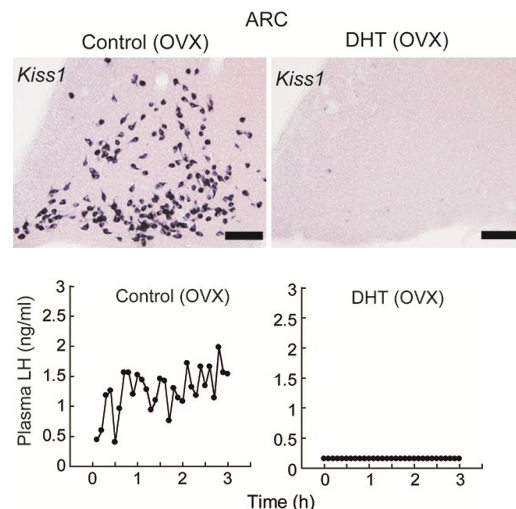


図1、弓状核のキスペプチンの発現(上段)と血漿中LHのパルス状分泌(下段)を示す。対照群(control、左列) DHT群(DHT、右列)を示す。

(2)高濃度のエストロゲンを投与した状態で、前腹側室周囲核のキスペプチンの発現は、対照群とDHT群で差はみられなかった(図2)。しかし、DHT群では、LHサージが抑制されていた(図3)。

GnRHの発現については、免疫染色による差はみられなかった。

(3)LHの低下がキスペプチンの発現低下によるものなのかを検討するため、DHTラットにキスペプチンを投与したところ、キスペプチン投与によるLHの放出がみられなかった。

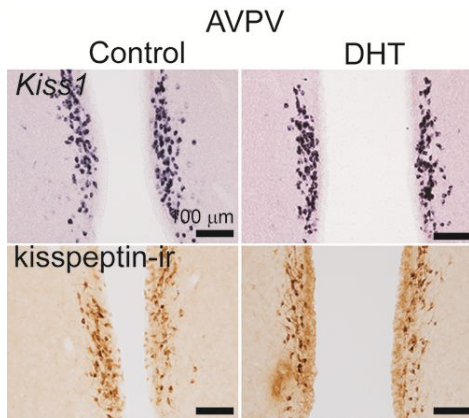


図2、前腹側室周囲核 (AVPV) のキスペプチンの発現を示す。In situ hybridization による mRNA の発現 (上段) と免疫染色による免疫陽性細胞の発現 (下段) を示す。対照群 (control、左列) DHT 群 (DHT、右列)。

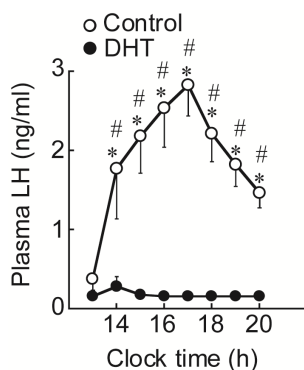


図3、エストロゲン投与による血漿中 LH のサージ状分泌を示す。対照群 (control) DHT 群 (DHT)。

(4) 下垂体に異常があるのかを調べるため、GnRH アゴニストを投与し、LH 濃度を測定したところ、GnRH 投与による LH の放出が DHT 群で有意に低下していた (図4)。

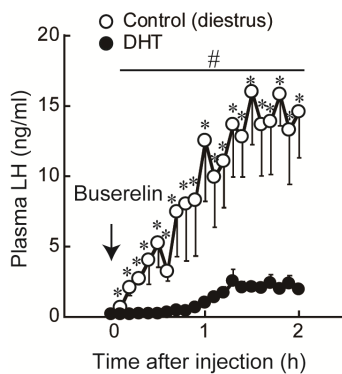


図4、GnRH アゴニスト (buserelin) 投与による血漿中 LH の変化。対照群 (control) DHT 群 (DHT)。

(5) 雌の前腹側室周囲核のキスペプチンニューロンについて、アンドロゲン受容体を発現しているニューロンは少なかった。一方、弓状核のキスペプチンについてはアンドロ

ゲン受容体を発現しているニューロンは数多く存在していた。

これらの結果から、雌においてアンドロゲンは、弓状核のキスペプチンを抑制することにより LH パルスを抑制し、その結果卵胞発育の低下を引き起こす可能性が示唆された。一方、排卵を制御するキスペプチンは、アンドロゲンの影響を受けないものの、アンドロゲンは、下垂体のホルモン感受性の低下を引き起こし、その結果 LH サージが抑制され、排卵が抑制する可能性が示唆された。これまでアンドロゲンの生殖神経内分泌系に与える影響については雄を用いた研究が多く、雌を使用した報告は数少ない。PCOS 患者では、複数の病因が関係していると考えられているが、卵巣でのアンドロゲン過剰産生が、中心病態であると考えられている。本研究結果から女性において長期高アンドロゲン血症は、以上のような神経内分泌変化をもたらす可能性が考えられ、PCOS の生殖機能不全に關与している可能性が示唆された。

#### 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 0 件)

[学会発表](計 4 件)

Iwata K., Kunimura Y., Matsumoto K., Ozawa H. Effect of androgen on kisspeptin expression and luteinizing hormone release in female rats, 8<sup>th</sup> international Congress of Neuroendocrinology 2014, 2014/08/16-2014/08/20, Hilton Sydney, AUSTRALIA

岩田衣世、國村有弓、松本恵介、小澤一史 高アンドロゲン血症の雌ラットの脳内キスペプチン発現および黄体形成ホルモン分泌に関する研究 第119回日本解剖学会総会・全国学術集会 2014年03月27日-2014年03月29日 自治医科大学キャンパス(栃木)

岩田衣世、國村有弓、松本恵介、小澤一史 長期高アンドロゲン暴露により誘発した多嚢胞性卵巣症候群モデルラットの脳内キスペプチン発現および黄体形成ホルモン分泌に関する研究 第40回日本神経内分泌学会学術集会 2013年10月25日-2013年10月26日 宮崎市民プラザ(宮崎)

Iwata K., Kunimura Y., Matsumoto K., Ozawa H. Effect of chronic exposure to androgen on kisspeptin expression and luteinizing hormone release in female rats, 7<sup>th</sup> international meeting steroids and nervous system, 2013/02/16-2013/02/20,

Torino-Orbassano, 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・助教

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：