

初期胚におけるレプチンの発現とその機能について

秋田大学医学部医学科生殖発達医学講座産婦人科分野
 福田 淳, 河村和弘, 田中俊誠

はじめに

レプチンcDNAは、遺伝性肥満マウス (ob/ob mouse) の研究からクローニングされた肥満調節遺伝子である。レプチンは脂肪組織から産生され、視床下部に作用し、強力な摂食抑制作用を示すとともにエネルギー代謝を亢進させ体重増加抑制作用を示す。この遺伝子の発見によって、体重調節機構の解明や、肥満研究に大きな進展がみられた。一方、その1年後には受容体もクローニングされた。受容体の組織分布は視床下部以外にもさまざまな組織に分布することが報告され、レプチンが多臓器で多機能を有していることが報告されてきている。

生殖分野ではレプチン発見後、比較的早期に胎盤から強く産生されていることが示され、妊娠との関係が着目されている。また、最近では神経性食指不振症や多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) における排卵障害との関連からレプチンと排卵に関する研究が行われてきている。本稿ではレプチンと排卵、とくに初期胚における役割について、当科での成績を中心に概説する。

レプチンとレプチン受容体の構造

レプチン遺伝子は21アミノ酸からなるシグナルペプチドを有し、167アミノ酸の前駆体をコードする。ゲノムでは7番染色体の長腕に存在し、3つのエクソンと2つのイントロンからなる。糖鎖は認められず、マウスとヒトの間では83%の相同性を有する。

レプチン受容体 (Ob-R) は、クラス I サイトカイン受容体スーパーファミリーに属する膜1回貫通型の受容体である。スプライシングの違いにより、大きく分けて5種類 (Ob-Ra~Ob-Re) が報告されている。完全型がOb-Rbで細胞内ドメインはSTAT3, MAPキナーゼを活性化する。短縮型であるOb-Ra, Ob-Rc, Ob-Rdは細胞内ドメインが短縮されている。Ob-Reは膜貫通部位が欠如しており、分泌型と考えられ、血中におけるレプチンの中和作用があると考えられている。組織分布は視床下部が主であるが、他にも脂肪組織、造血器、血管内皮、

膵臓β細胞、肺、肝臓など多岐にわたっており、それぞれの組織で異なった機能を有すると報告されている。

生殖分野におけるレプチンの役割

生殖分野におけるレプチンの機能については、そもそもレプチン欠損マウス (ob/ob mouse) では不妊になることから端を発している。このマウスに対して摂食抑制をしても不妊は解消されず、レプチン投与によって妊娠可能となる。レプチン投与により、LH上昇と卵巣・子宮重量の上昇が認められることから、レプチンは直接的に視床下部・下垂体系に作用するものと考えられている。このLH上昇作用はおそらく、月経発来機序にも密接に関与している。従来、思春期の発来は脂肪の蓄積が重要であることが指摘されていたが、現在では蓄積されてきた脂肪からのレプチンの上昇がLHを上昇させ、月経を発来させるものと考えられている。一方、われわれは、臨床的に極度のやせや、肥満婦人における排卵障害をよく経験するが、脂肪量と排卵障害の関係について分子レベルでの解明はなかなか困難であった。脂肪組織から分泌されるレプチンの変動が、排卵に影響を与える可能性は容易に想像できることから、近年レプチンの生殖細胞における直接作用の研究が多く報告されるようにな

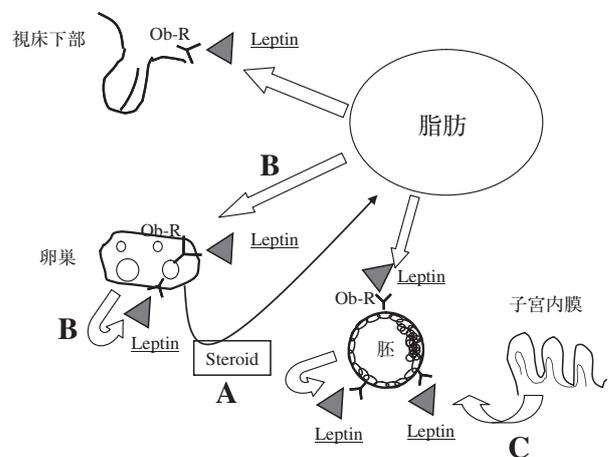


図1 生殖におけるレプチンの役割

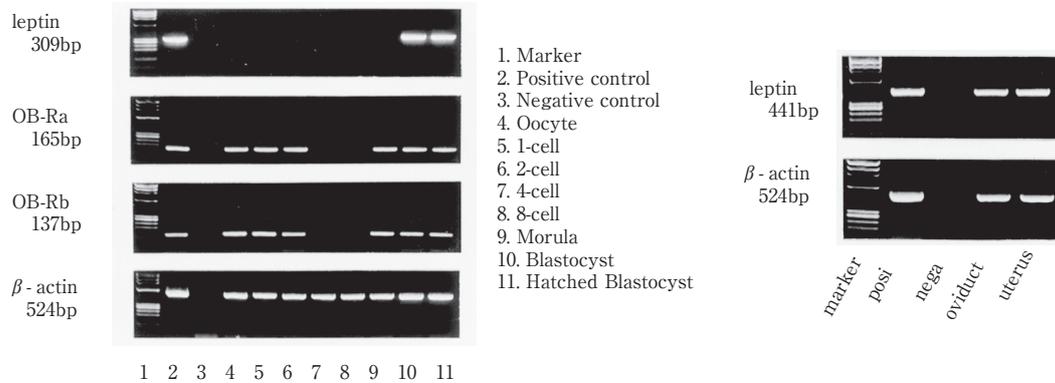


図2 マウス着床前期胚・卵管・子宮におけるreptin, OB-Ra, OB-Rb mRNAの発現

ってきている。

現在まで報告されている生殖系におけるレプチンとその受容体 (Ob-R) の発現を図1に示す。レプチンの発現は顆粒膜細胞, 莖膜細胞, 胞胚期胚, 子宮内膜上皮に発現を認め, レプチン受容体 (Ob-Rb)は視床下部, 顆粒膜細胞, 莖膜細胞, 卵子および初期胚, 子宮内膜上皮に発現を認めている。以上の発現分布からレプチンは血中レプチン以外にも各細胞でオートクライン・パラクライン的な作用を示しているものと推測されている。以下, 先述した中枢作用以外のレプチンの機能について概説する。

(1) 性周期における血中レプチン値の変動

性周期における血中のレプチン濃度の変動についてはいくつかの報告があるが, いずれも黄体期に高値を示すと報告されている。血中レプチンの大部分は脂肪組織から分泌されており, 肥満と相関することはよく知られているが, 他におそらく血中のステロイド特にエストロゲンがレプチンの分泌を促進させると考えられている (図1中Aの部分)。その根拠はレプチン濃度に男女差があり, 女性で有意に高値を示すこと, 閉経後女性にHRTを施行するとレプチン濃度が上昇すること, 卵巣摘除マウスを用いた実験でも同様の結果であること, などがあげられている。

(2) 卵巣におけるレプチンの発現と機能

逆にレプチンが卵巣におけるステロイド合成に与える影響についてもさまざまな検討がなされている (図1中Bの部分)。卵巣におけるレプチンおよびレプチン受容体 (Ob-Rb)は組織酵素抗体法で, とくに顆粒膜細胞・

莖膜細胞に発現を認めている。マウス卵巣におけるレプチンmRNAの性周期変動をみると, レプチンはHCG投与後2時間で最高値を示し, レプチン受容体 (Ob-Rb)はHCG投与後9時間でピークとなっている。これらの成績はレプチンが黄体期においてなんらかの機能を有していることを示唆している。レプチン受容体はサイトカイン受容体と同様の細胞内ドメインをもつことから排卵後の卵巣の炎症反応に関連している可能性が指摘されているが, 詳細については未だ明らかではない。一方, 卵胞期におけるレプチンの活性についてはステロイド合成能の観点から研究されている。肥満ややせにおける排卵障害の観点からみると, そのような状況下でのレプチン濃度の異常がステロイド合成や卵胞発育に関与していることが示されれば理解しやすいわけであるが, 実際の成績は非常にばらつきがある。培養実験系において, レプチンはアロマトラーゼ活性を上昇させエストロゲン合成を活性化する, テストステロン・プロゲステロン合成を活性化する, という報告がある一方で, 逆に抑制するという報告, 低濃度では促進するが高濃度では抑制する, といった報告までさまざまである。血中レプチン濃度と卵胞発育に関してはさらなる検討が必要である。

(3) 初期胚におけるレプチンの発現と機能

われわれは, 体外受精で極度のやせを呈する婦人では胚発育が著しく不良であることを経験し, レプチンが受精卵そのものに影響を与える可能性について研究を行ってきた。未受精卵および初期胚におけるレプチンmRNAの発現をみると, 胞胚期胚以降に強い発現を認めた。絨

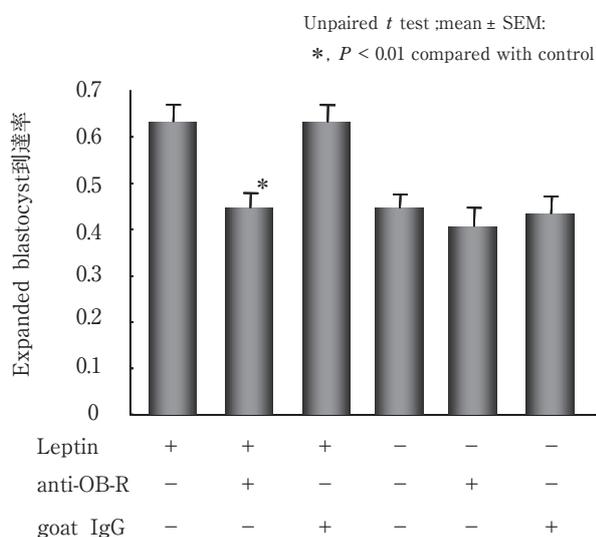


図3 着床前期胚の発育に対するレプチンの効果
56時間培養後Expanded blastocyst到達率

毛においてレプチンが産生されていることは早くから報告されており、胞胚期胚以降、オートクライン的ななんらかの作用を有する可能性を支持している。一方、レプチン受容体 (Ob-Ra, Ob-Rb) は、未受精卵から2細胞期まで発現を認め、いったん消失した後、桑実胚以降で再度その発現を認めた。マウスでは4細胞期後期以降から胚自体のmRNAが合成されることから、2細胞期までは母親由来のmRNA、桑実胚以降は胚自体のmRNA

であると考えられる。したがって、初期胚においてはレプチンの作用を受容する可能性があるものと考えられた。一方、生体内では胞胚期胚に至るまで、卵管から子宮内に存在するため、そこでのレプチン産生について検討した。その結果、排卵後1日目での卵管、および子宮でレプチンmRNAの発現 (図2) を認め、子宮内腔液のレプチン濃度を測定すると着床期にもっともレプチン濃度が上昇した。これらの事実は生体内において、卵管あるいは子宮から分泌されるレプチンが直接的に初期胚になんらかの作用を示す可能性を強く示唆している (図1中Cの部分)。さらに、初期胚におけるレプチンの活性について、拡大胞胚期胚到達率、胚孵化率について検討した。その結果、レプチン10ng/ml以上の濃度で、胚期胚到達率、胚孵化率とも高値となった。また、その作用は抗Ob-Rb抗体で中和された (図3)。

以上から、初期胚発育は卵管・子宮からのレプチンのパラクライン作用によって促進されると結論づけた。われわれの報告後、同様の研究が数施設から報告されている。それによると、レプチンおよび受容体mRNAの発現様式は卵子・初期胚・子宮内膜ともまったく一致した。しかし、その活性については3施設から胚発育を抑制するという逆の報告が出されている。この結果の相違の原因は明らかではなく、さらなる検討が必要かもしれない。