

生殖内分泌とプレコンセプションケア

—生活習慣と卵巣機能—

卵巣機能から見たプレコンセプションケア

東京大学医学部附属病院女性診療科・産科/女性外科
原田 美由紀

要約

至適な卵胞局所環境形成における卵巣局所因子の重要性が注目されている。本研究では、生活習慣が卵巣局所因子調節機構を障害し、卵巣機能異常を惹起する可能性につき検証した。生活習慣により生じる因子として、肥満、終末糖化産物 (AGEs) の蓄積、これらが攪乱する卵巣局所因子として小胞体ストレス (ER stress) に着目した。

肥満個体の卵巣では ER stress が活性化していた。ER stress は顆粒膜細胞 (GC) のプロゲステロン産生を抑制し、その機序として、hCG/LH 誘導性の ERK1/2 と PKA の活性化を抑制することにより、StAR タンパク発現、 3β -HSD 酵素活性を抑制した。一方、体外受精治療周期において、形態不良胚へと発生した卵子を容れていた卵胞では、形態良好胚へと発生した卵子を容れていた卵胞に比し、卵胞液中の AGEs、炎症性サイトカイン IL-6、IL-8 の濃度が高く、卵丘細胞における IL-6、IL-8、ER stress 応答因子 ATF4 発現が亢進していた。ヒト培養 GCs において、AGEs は ATF4 を介して IL-6、IL-8 分泌を促進した。

生活習慣により生じる肥満と AGEs 蓄積に着目して、生活習慣が GCs における ER stress 制御異常を介して黄体機能不全や胚発生能低下に関与することを明らかにした。これらの要因はプレコンセプション期の生活習慣改善により是正可能であり、挙児希望時の至適な卵巣機能を担保するという観点からプレコンセプションケアの重要性を支持する知見である。

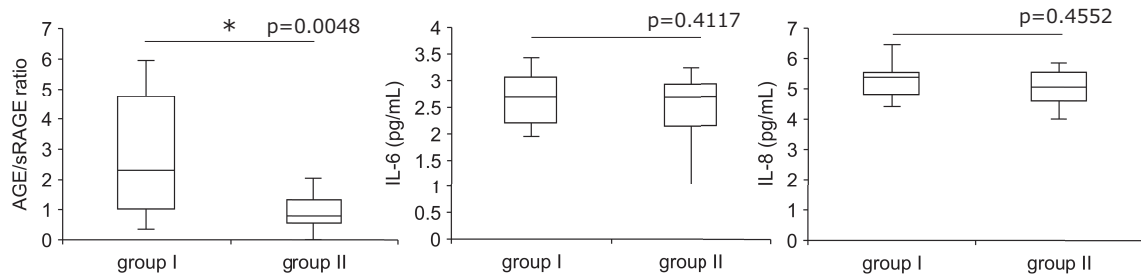
背景

女性の妊娠前、妊娠中の健康状態が妊娠の成立と継続、さらに出生児の短期、長期的予後に影響を与えることが明らかになっている。本項では、妊娠成立のために必須

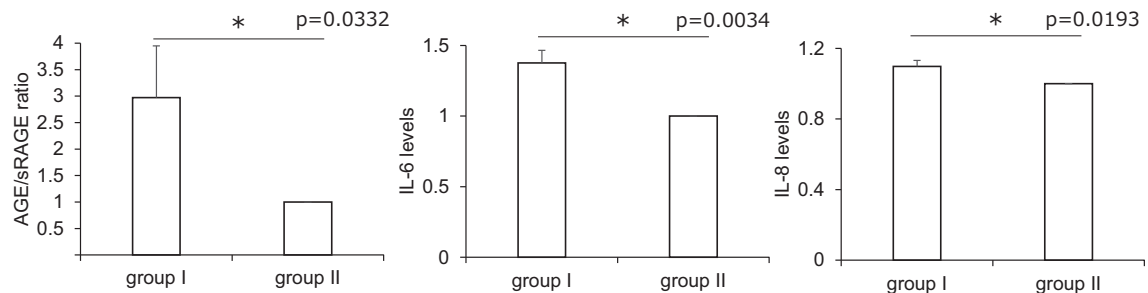
である卵巣機能に着目し、プレコンセプションケアにより介入可能な生活習慣が卵巣機能に与える影響につき検討する。肥満、やせ、喫煙、食習慣などの生活習慣や全身の健康状態が卵巣機能低下を引き起こすことは知られているが、その機序は明らかでない。一方、至適な卵胞局所環境形成における卵巣局所因子の重要性が注目されている。生活習慣や全身の健康状態により惹起される卵巣の病態において卵巣局所因子が果たす役割を明らかにし、挙児に先立ち卵胞局所環境是正をはかることが有効な戦略となるかを検討することは、プレコンセプションケアにおいて重要な課題である。本項では、生活習慣により生じる因子として、肥満、終末糖化産物 (advanced glycation end products; AGEs) の蓄積、これらが攪乱する卵巣局所因子として小胞体ストレス (endoplasmic reticulum stress; ER stress) に着目して、卵巣機能制御における卵胞局所の ER stress の役割を明らかにした私たちの研究結果を紹介する。

ER stress とは、異常な折りたたみ構造のタンパク質が小胞体内に蓄積した状態と定義される。ER stress は、タンパク質合成負荷の増大あるいは小胞体の処理能力低下をきたすさまざまな生理的・病理的要因により惹起される。ER stress は ER stress センサーの活性化により細胞に検知され、小胞体ストレス応答 (unfolded protein response; UPR) と呼ばれる細胞内情報伝達経路群が活性化される。活性化された UPR は当初は細胞恒常性の維持に、ER stress が長期化すると細胞死の誘導へと働く。最近 UPR がさまざまな生理的、病理的状态下で広く細胞機能制御に働くことが明らかとなっている。卵巣における ER stress の有無と機能制御における役割は明らかでなかったが、私たちは先行研究において、正常の卵胞発育過程において ER stress が前胞状卵胞以降の顆粒膜細胞 (granulosa cells; GCs) において活性化されていることを明らかにした¹⁾。

すべての卵胞 (N=23, 16) での比較



同一患者 (N=7) 内での比較



引用文献 (3) より改変

図1 卵胞液内の遊離 AGEs 指標 (AGEs/sRAGE), IL-6, IL-8濃度。

上段：採取した卵胞液のうち、内包していた卵子が受精成立したすべての卵胞の結果を解析した。下段：group I, group II 両方の卵胞を認めた7名の患者において、同一患者内で group I と group II の結果を比較した。個人間での絶対値のばらつきが大きいため、同一個人内の group I の計測値の平均と group II の計測値の平均を比較した。

* $p < 0.05$ を統計学的有意差と見なした。

肥満と黄体機能不全

肥満女性においてはしばしば排卵障害を認め、また月経周期が保たれている場合でも黄体期の短縮やプロゲステロン (P4) 産生低下と関連する。

肥満個体の GCs では ER stress が活性化しており、活性化した ER stress が P4産生を抑制することにより肥満女性で認められる黄体機能不全の病態に寄与するという仮説を立て、検証した²⁾。遺伝性肥満マウス Ob/Ob マウスの卵巣では UPR 因子群の発現が増加しており、肥満個体の卵巣で ER stress が活性化していることが示された。In vivo での ER stress 活性化の影響を検討するため、幼若マウスに ER stress 刺激剤 tunicamycin (Tm) を投与したのちに hCG を投与すると、GCs の P4 産生能が抑制された。また in vitro でヒト培養 GCs において Tm 投与により hCG 誘導性の P4産生が抑制され、その機序として、ER stress は hCG/LH 誘導性の adenylyl cyclase (AC) 活性には影響を与えず、その下流にある extracellular signal-regulated kinase (ERK)

1/2 と protein kinase A (PKA) の活性を抑制した。そして、コレステロールのミトコンドリア内への移送を担う steroidogenic acute regulatory protein (StAR) タンパクの発現を抑制し、さらにプレグネノロンから P4への変換を担う 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) の酵素活性を減弱した。

AGEs 蓄積と卵子の質低下

AGEs とは、タンパク質、脂質、核酸を原料とし、グルコースによる糖化反応 (メイラード反応) の結果生じた生成物の総称である。内因性 AGEs と外因性 AGEs とに分けられ、前者は加齢、高血糖などに伴い生理的に産生され、産生速度は遅い。後者はタバコの抽出物や高温・無加湿で調理された食品に多く含まれており、また調理による産生速度は速い。したがって、生活習慣により制御可能な外因性 AGEs の取り込み量が体内の AGEs 蓄積量に反映される。

AGEs の卵胞内への蓄積が GCs/卵丘細胞 (CCs) における ER stress 活性化を介して炎症性サイトカイン産

生を促進し、卵胞局所環境を悪化させ卵子の発生能を低下させるという仮説を立て、検証した³⁾。体外受精(IVF)患者より、採卵時に卵胞液(FF)、CCsを個々の卵胞別に回収し、FF中のAGE, soluble receptor for AGE(sRAGE), interleukin (IL)-6, IL-8の濃度とCCsにおけるIL-6, IL-8, ER stress 応答 UPR 因子 activating transcription factor 4 (ATF4) mRNA 発現を測定した。卵胞をその内包していた卵子から発生した胚の形態により2群に分けて解析した(形態不良胚: group I, 良好胚: group II)。遊離AGEsの指標であるAGE/sRAGE比はgroup IのFF中で有意に高かった。また、同一患者の卵胞同士で比較した場合、group IのFFにおいてAGE/sRAGE比, IL-6, IL-8濃度がいずれも有意に高かった(図1)。また、group IのCCにおいてATF4, IL-6, IL-8mRNA発現量がいずれも有意に高かった。さらにヒト培養GCsにおいてAGEs刺激はIL-6, IL-8の培養上清中への分泌を増加させ、この効果はATF4ノックダウンにより減弱した。

結 語

生活習慣に起因する肥満やAGEs蓄積により卵胞局所因子ER stressが活性化され、プロゲステロン産生低下や炎症性サイトカイン産生亢進を介し、妊孕性低下へと

つながることが示された。プレコンセプション期の生活習慣改善によりこれらは是正可能であり、挙児希望時の至適な卵巣機能を担保するという観点からプレコンセプションケアの重要性を支持する知見である。

*なお、本項の内容は、第24回日本生殖内分泌学会シンポジウム「生殖内分泌とプレコンセプションケア～妊孕性改善と生児獲得を目指して～」において発表したものである。

引用文献

1. Harada M, Nose E, Takahashi N, Hirota Y, Hirata T, Yoshino O, Koga K, Fujii T, Osuga Y (2015) Evidence of the activation of unfolded protein response in granulosa and cumulus cells during follicular growth and maturation. *Gynecol Endocrinol* 31, 783-787.
2. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Nose E, Azhary JM, Koike H, Kunitomi C, Yoshino O, Izumi G, Hirata T, Koga K, Wada-Hiraike O, Chang RJ, Shimasaki S, Fujii T, Osuga Y (2017) A Potential Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Progesterone Deficiency in Obese Women. *Endocrinology* 158, 84-97.
3. Takahashi N, Harada M, Azhary JMK, Kunitomi C, Nose E, Terao H, Koike H, Wada-Hiraike O, Hirata T, Hirota Y, Koga K, Fujii T, Osuga Y (2019) Accumulation of advanced glycation end products in follicles is associated with poor oocyte developmental competence. *Mol Hum Reprod* 26, 40-52.