Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

Suppression of progesterone production by stresscopin/urocortin 3 in cultured human granulosa-lutein cells

矢田，愛

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2009-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲4705
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004705

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏　　名	矢田　愛
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学　位　記　番　号	博い第 4705 号
学位授与の　要　件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の　日　付	平成 21 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Suppression of progesterone production by stresscopin/urocortin 3 in cultured human granulosa-lutein cells(培養ヒト黄体化卵巣顆粒膜細胞におけるストレス関連ペプチド Stresscopin/urocortin3 のプロゲステロン産生抑制効果)

審　査　委　員

主　査　　教　授　林　　祥剛
　　教　授　西尾　久英
　　教　授　田原　真也

学位論文の内容の要旨

Suppression of progesterone production by stresscopin/urocortin 3 in cultured human granulosa-lutein cells

培養ヒト黄体化卵巣顆粒膜細胞におけるストレス関連ペプチド

Stresscopin/urocortin3のプロゲステロン産生抑制効果

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻　外科系講座　産科婦人科学

（指導教官：藤澤　正人　教授）

矢田　愛

目的：ストレスにより視床下部から分泌が誘導されるCRH (Corticotropin-releasing hormone)は、視床下部-下垂体-副腎系（HPA axis）を介して、副腎皮質ホルモンを分泌し短時間の生体防御機能を高めると考えられている。生殖内分泌領域では、身体的・精神的なストレスが月経・妊娠維持に影響を及ぼすことが臨床でしばしば経験され、不安神経症、うつ病、低栄養、摂食障害、過度な運動等に関連した、視床下部性のストレス性無月経もその一つである。

近年、ストレス関連ペプチドとして、urocortin1 (Ucn1), stresscopin (SCP)/urocortin3 (Ucn3), stresscopin-related peptide (SRP)/urocortin 2 (Ucn2)が発見され、CRHR1およびCRHR2という2種類の受容体にそれぞれ異なる結合能（CRHとUcn1は、CRHR1, CRHR2の両方に結合し得るが、SCPとSRPは、CRHR2のみに結合する。）で結合し、CRHと同様に生体のストレス反応に関与することが解明されつつある。

各臓器において、ストレスを受けた直後の、短時間での生体防御反応がみられるfighting phaseではCRH, Ucn1が分泌され、CRHR 1 を介する反応（覚醒、心拍上昇等）が認められ、ストレスから回復し、ストレスに適応していくrecovery phaseでは、Ucn1, SCP, SRPが分泌され、CRHR2を介する反応（抗不安や食欲抑制、血圧低下等）が認められる。しかし、卵巣におけるこれらCRH関連ペプチドの発現および機能についてはほとんど未解明であるのが現状である。

本研究ではストレス関連ペプチドの１つであるSCP/Ucn3に着目し、卵巣機能、特に培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのステロイド産生、特にプロゲステロン産生に及ぼす影響を検討した。

方法：初期の子宮癌手術で摘出されたヒト正常卵巣および不妊治療患者（男性因子と卵管因子）の卵胞液から分離培養したヒト黄体化顆粒膜細胞におけるSCP/Ucn3およびCRHR2のmRNAレベルでの存在を、RT-PCRで検討した。培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのSCP/Ucn3およびCRHR2の局在は免疫染色法で検討した。また卵胞液中、培養液中のSCP/Ucn3蛋白発現を確認するために、卵胞液中および細胞密度を高くした培養ヒト黄体化顆粒膜細胞培養液中のSCP/Ucn3濃度をRIA法で測定した。SCP/Ucn3の培養ヒト黄体化顆粒膜細胞のプロゲステロン産生に与える影響を検討するため、SCP/Ucn3添加前後の培養液中プロゲステロン値の変化をELISA法で測定した。上記検討はすべて、神戸大学大学院医学系研究学科医学倫理委員会の

承認のもと、インフォームドコンセントの後に施行した。

結果：ヒト正常卵巣ではSCP/Ucn3 mRNAおよび CRHR2 mRNA発現を認めた。培養ヒト黄体化顆粒膜細胞においてSCP/Ucn3および CRHR2は、いずれも mRNAレベルならびに蛋白レベルでの発現が認められた。RIA法の解析より、SCP/Ucn3は、培養液中、卵胞液中いずれにも存在することが認められ、SCP/Ucn3はヒト黄体化顆粒膜細胞より産生されることが示唆された。また、SCP/Ucn3添加により培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン産生を抑制した。SCP/Ucn3とCRHR2アンタゴニストantisauvagine-30の同時添加により、その抑制が回復したことより、SCP/Ucn3のプロゲステロン産生抑制効果はCRHR2を介することが示唆された。

結論・考察：本研究により、SCP/CRHR2システムはヒト卵巣においても存在し、SCP/Ucn3はCRHR2を介し培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン産生を抑制することが明らかとなった。

卵巣におけるSCP/Ucn3およびCRHR2の発現および培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン産生抑制効果は、黄体化顆粒膜細胞において産生されたSCP/Ucn3が、autocrineまたはparacrine因子としてプロゲステロン分泌を抑え、卵巣機能発現に対して抑制的に働くことを示唆している。

本研究で我々は月経中期の黄体化顆粒膜細胞に着目したが、月経中期において、成熟過程にある卵胞から産生される低濃度プロゲステロンはエストロゲンとともに排卵に関するLHサージの同期にとって重要な役割を果たしている。ゆえに本研究で明らかにしたSCP/Ucn3のautocrine/paracrine因子としての黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン抑制効果は、この月経中期低濃度プロゲステロン濃度の微妙な調節の一助を担っている可能性があると考えられる。また、月経中期のプロゲステロン濃度は決して高くはないが、排卵や黄体化に不可欠であることが知られており、この時期のプロゲステロン産生を抑制することで排卵障害や月経周期異常が引き起こされることが報告されている。本研究では、ストレス反応によるSCP/Ucn3の過剰発現が、卵巣におけるプロゲステロン産生抑制効果を示すことにより、臨床における卵巣機能異常と異常SCP/Ucn3値の関連性が間接的に示唆された。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲　第２０２３号	氏　名	矢田　愛
論文題目 Title of Dissertation	Suppression of progesterone production by stresscopin/urocortin 3 in cultured human granulosa-lutein cells **培養ヒト黄体化卵巣顆粒膜細胞におけるストレス関連ペプチド Stresscopin/urocortin3 のプロゲステロン産生抑制効果**		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 林　祥剛 副　査 Vice-examiner 西尾久英 副　査 Vice-examiner 田原真也		
審査終了日	平成２１年　３月　１８日		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

要旨

ストレスにより視床下部から分泌が誘導される CRH (Corticotropin-releasing hormone) は、視床下部-下垂体-副腎系 (HPA axis) を介して、副腎皮質ホルモンを分泌し短時間の生体防御機能を高めると考えられている。生殖内分泌領域では、身体的・精神的なストレスが月経・妊娠維持に影響を及ぼすことが臨床でしばしば経験され、不安神経症、うつ病、低栄養、摂食障害、過度な運動等に関連した、視床下部性のストレス性無月経もその一つである。近年、ストレス関連ペプチドとして、urocortin1 (Ucn1), stresscopin (SCP)/urocortin3 (Ucn3), stresscopin-related peptide (SRP)/urocortin 2 (Ucn2)が発見され、CRHR1 および CRHR2 という 2 種類の受容体にそれぞれ異なる結合能で結合し、CRH と同様に生体のストレス反応に関与することが明らかとなった。各臓器においては、ストレスを受けた直後の、短時間での生体防御反応がみられる fighting phase では CRH, Ucn1 が分泌され、CRHR 1 を介する反応（覚醒、心拍上昇等）が認められ、ストレスから回復し、ストレスに適応していく recovery phase では、Ucn1, SCP, SRP が分泌され、CRHR2 を介する反応（抗不安や食欲抑制、血圧低下等）が認められる。しかし、卵巣におけるこれら CRH 関連ペプチドの発現および機能についてはほとんど未解明であった。本研究ではストレス関連ペプチドの１つである SCP/Ucn3 に着目し、卵巣機能、特に培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのステロイド産生、特にプロゲステロン産生に及ぼす影響を検討された。初期の子宮癌手術で摘出されたヒト正常卵巣および不妊治療患者の卵胞液から分離培養したヒト黄体化顆粒膜細胞における SCP/Ucn3 および CRHR2 の mRNA レベルを、RT-PCR で検討し、培養ヒト黄体化顆粒膜細胞での SCP/Ucn3 および CRHR2 の局在は免疫染色法で検討し、卵胞液中、培養液中の SCP/Ucn3 蛋白発現を確認するために、卵胞液中および細胞密度を高くした培養ヒト黄体化顆粒膜細胞培養液中の SCP/Ucn3 濃度を RIA 法で測定し、SCP/Ucn3 の培養ヒト黄体化顆粒膜細胞のプロゲステロン産生に与える影響を検討するため、SCP/Ucn3 添加前後の培養液中プロゲステロン値の変化を ELISA 法で測定された。ヒト正常卵巣では SCP/Ucn3 mRNA および CRHR2 mRNA 発現を認めた。培養ヒト黄体化顆粒膜細胞において SCP/Ucn3 および CRHR2 は、いずれも mRNA レベルならびに蛋白レベルでの発現が認められた。RIA 法の解析より、SCP/Ucn3 は、培養液中、卵胞液中いずれにも存在することが認められ、SCP/Ucn3 はヒト黄体化顆粒膜細胞より産生されることが示唆された。また、SCP/Ucn3 添加により培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン産生を抑制した。SCP/Ucn3 と CRHR2 アンタゴニスト antisauvagine-30 の同時添加により、その抑制が回復したことより、SCP/Ucn3 のプロゲステロン産生抑制効果は CRHR2 を介することが示唆された。卵巣における SCP/Ucn3 および CRHR2 の発現および培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン産生抑制効果は、黄体化顆粒膜細胞において産生された SCP/Ucn3 が、autocrine または paracrine 因子としてプロゲステロン分泌を抑え、卵巣機能発現に対して抑制的に働くこ

とが示唆された。SCP/Ucn3 の autocrine/paracrine 因子としての黄体化顆粒膜細胞でのプロゲステロン抑制効果は、この月経中期低濃度プロゲステロン濃度の微妙な調節の一助を担っている可能性があると考えられた。月経中期のプロゲステロン濃度は決して高くはないが、排卵や黄体化に不可欠であることより、ストレス反応による SCP/Ucn3 の過剰発現が、卵巣におけるプロゲステロン産生抑制効果を示すことにより、卵巣機能異常と異常 SCP/Ucn3 値の関連性が示唆された。

本研究は、視床下部から分泌が誘導される CRH 関連ペプチドの発現および機能について、ストレス関連ペプチドの１つである SCP/Ucn3 に着目し、従来ほとんど知られてなかった卵巣機能、特に培養ヒト黄体化顆粒膜細胞でのステロイド産生、特にプロゲステロン産生に及ぼす影響を明らかにした価値ある集積であると認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。