

卵巢機能発現におけるIGF-IおよびIGF結合蛋白
の役割の研究

課題番号07671827

平成7年度～平成8年度文部省科学研究費補助金
(一般研究C) 研究報告書



平成10年3月

研究代表者 安達知子



(東京女子医科大学医学部産婦人科助教授)

研究発表

1. 学会誌等

- 1) Tomoko Adachi, Mitsutoshi Iwashita, Atsuko Kuroshima, Yoshihiko Takeda: Regulation of IGF binding proteins by FSH in human luteinizing granulosa cells. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 12(9): 639-643, 1995
- 2) 安達知子、岩下光利、香山俊子、片山恵利子、黒島淳子、武田佳彦：ヒト卵巣顆粒膜細胞におけるFSHとIGF-IおよびIGF結合蛋白の相互調節
日本受精着床学会雑誌 12(1): 125-127, 1995
- 3) M. Iwashita, Y.Kudo, Y.Yoshimura, T.Adachi, E.Katayama, Y.Takeda : Physiological role of Insulin-like-growth-factor-binding protein-4 in human folliculogenesis. *Horm Res* 46 (1): 31-36, 1996
- 4) Y.Yoshimura, M.Ando, S.Nagamatsu, M.Iwashita, T. Adachi, K.Sueoka, T.Miyazaki, N.Kuji and M.Tanaka: Effects of insulin-like growth factor-I on follicle growth, oocyte maturation, and ovarian steroidogenesis and plasminogen activator activity in the rabbit.
Biology of Reproduction 55: 152-160, 1996
- 5) Y.Yoshimura, S.Nagamatsu, M.Ando, M.Iwashita, T. Oda, T.Katsumata, S.Shiokawa, Y.Nakamura: Insulin-like growth factor binding protein-3 inhibits gonadotropin-induced ovulation, oocyte maturation, and steroidogenesis in rabbit ovary. *Endocrinology* 137: 438-446, 1996
- 6) 安達知子、岩下光利、原 誠、小野寺潤子、工藤美樹、武田佳彦：卵胞発育に伴う卵胞内ホルモン環境の変動 *日本受精着床学会雑誌* 14(1): 102-105, 1997

2. 口頭発表

- 1) T. Adachi, M. Iwashita, T. Kayama, A. Kuroshima, Y. Takeda: A study of the regulation of IGF binding proteins secreted by FSH in human luteinizing granulosa cells. *IXth World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction* Vienna, Austria, April 3-7, 1995

- 2) 安達知子、岩下光利、三室卓久、小林万利子、原 誠、黒島淳子、武田佳彦：ヒト顆粒膜細胞におけるFSHの作用機序－IGF結合蛋白の分泌調節を介する機構の研究
第47回日本産科婦人科学会総会 名古屋 4.25.1995
- 3) 安達知子、岩下光利、三室卓久、原 誠、黒島淳子、武田佳彦：ヒト顆粒膜細胞のエストロゲンおよびIGF結合蛋白分泌に対するFSHとIGF-Iの作用の研究
第68回日本内分泌学会総会 東京 6.2.1995
- 4) 岩下光利：卵胞発育におけるIGF-I・BPシステムの意義 生殖生理東京カンファレンス
東京 1995.8.26
- 5) 安達知子、原 誠、小野寺潤子、岩下光利、武田佳彦、斉藤理恵、黒島淳子：若年者体重減少性無月経婦人における血中GHとIGF-Iおよびその結合蛋白の分析。
第40回日本不妊学会総会 山形 10.26.1995
- 6) 小林万利子、三室卓久、網野幸子、酒井啓治、原 誠、小野寺潤子、安達知子、武田佳彦、岩下光利：hMG抵抗症例に対するGH併用時の血中IGFBP-1の動態。
第40回日本不妊学会総会 山形 10.26.1995
- 7) 原誠、岩下光利、安達知子、工藤美樹、小野寺潤子、武田佳彦：卵胞発育におけるIGF結合蛋白プロテアーゼの意義 第48回日本産科婦人科学会総会 横浜 1996.4.8.
- 8) 安達知子、岩下光利、原 誠、小野寺潤子、武田佳彦：卵胞発育に伴う卵胞内ホルモン環境の変動。 第14回日本受精着床学会 郡山 7.11.1996
- 9) 岩下光利：IGFと卵胞発育、シンポジウム 卵および卵胞発育の基礎 第41回日本不妊学会総会 徳島 11.7.1996
- 10) T.Adachi, M.Iwashita, Y.Takeda: Physiological significance of IGF system in human follicular growth. 10th World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction Vancouver, Canada May 24-28, 1997
- 11) 安達知子、岩下光利、武田佳彦：加齢に伴う卵胞内環境の変動 第70回日本内分泌学会 東京 6.3.1997
- 12) 安達知子：Poor responderに対するGH併用療法の応用と作用機序 シンポジウム ARTにおける何時症例の取扱と対応 第15回日本受精着床学会 東京 7.25.1997

3. 出版物

- 1) M.Iwashita, T.Adachi, Y.Kudo, Y.Takeda: Gonadotropins regulate insulin-like growth factor binding proteins in human luteinizing granlosa cells. New Achievements in Reserch of Ovarian Function Frontiers in Endocrinologyl 13: eds. S.Fujimoto, J.F.Strauss,III, p141-146, 1995
- 2) 岩下光利 : IGF受容体とIGF結合蛋白(IGFBP) 発生と成長因子・ホルモン、ホルモンの分子生物学6 学会出版センターp25-40, 1996

研究成果

要約

1. 顆粒膜細胞のエストラジオール(E2)分泌機能に対するIGF-Iの促進作用、およびその結合蛋白(IGFBP)によるIGF-I作用の抑制機序の検討

体外受精の採卵時に患者の同意を得て卵胞より顆粒膜細胞を採取し培養後、IGF-IをIGFBPの存在下に添加し、E2分泌に及ぼす影響を解析したところ、IGF-Iは濃度依存性にE2分泌を促進し、IGFBP-1と-3は濃度依存性に、IGF-Iによって促進されたE2分泌を抑制した。

IGFBP-1および-3は濃度依存性にIGF-Iが顆粒膜細胞の膜分画に結合するのを抑制した。IGFBP-1および-3は、IGF-Iがそのレセプターへ結合するのを抑制することにより、IGF-Iの作用発現を抑制することが明らかとなった。

2. FSHによるIGFBPを介する顆粒膜細胞の機能調節の検討

FSHはIGF-Iと相乗的にE2分泌を促進した。顆粒膜細胞にFSHを添加して、培養液中の分泌されるIGFBP-1および-3の濃度をイムノアッセイおよびWestern ligant blot (WLB)で評価した。FSHは、IGFBP-1の分泌を抑制し、WLBで評価したIGFBP-3の結合活性を抑制した。顆粒膜細胞から分泌されるIGFBP-3のプロテアーゼ活性を分析するため、¹²⁵I-IGFBP-3とFSHで処理した培養液をインキュベートしたところ、IGFBP-3は分子量の小さいfragmentに分解された。以上より、FSHはIGF-Iの作用を抑制する顆粒膜細胞からのIGFBP-1分泌およびプロテアーゼ活性を介したIGFBP-3の生物活性を抑制することにより、ヒト顆粒膜細胞に対するIGF-Iの作用を増強し、この機序により卵胞発育、E2分泌を促進すると推測された。

3. 発育卵胞および閉鎖卵胞に関わるIGF系の動態の解析

患者の同意を得て開腹手術時に卵巣から卵胞液を採取し、卵胞液のE2およびアンドロステンジオン(A)濃度を測定し、月経周期や卵胞形態を参考として、主席卵胞(排卵直前卵胞)、発育卵胞(A/E比<1.0)および閉鎖卵胞(A/E比>4.0)に分類し、卵胞液中のIGF-I系の動態の解析を行った。

A/E比は閉鎖、発育、主席卵胞の順に13.3、0.076、0.003であり、閉鎖卵胞では主席・

発育卵胞に比較して、IGF-Iは低値を示し、IGFBPsのWLBによる分析ではIGFBP-2と-4の結合活性の増加がみられ、IGFBP-4のプロテアーゼ活性は有意に低下していた。また、IGFBP-1は主席卵胞でのみ高値を示した。

発育卵胞では閉鎖卵胞と比較して、卵胞液中のIGF-Iの濃度が高く、顆粒膜細胞のアロマターゼ活性を高め、高E、低Aの環境を形成すると考えられるが、さらにIGF-Iの作用を抑制するIGFBP-2と-4の結合活性が低下し、IGFBP-4を分解するプロテアーゼ活性が亢進していることより、卵胞の発育・成熟に促進的なIGF-Iの生物作用を高める機構が存在することが明らかとなった。なお、IGFBP-1は、排卵直前の卵胞で高値を示したことより、排卵およびそれに引き続く黄体化と関係が深いものと考えられた。

顆粒膜細胞のエストラジオール(E2)分泌機能に対するIGF-Iの促進作用、およびその結合蛋白(IGFBP)によるIGF-I作用の抑制機序の検討、FSHによるIGFBPを介する顆粒膜細胞の機能調節の検討、発育卵胞および閉鎖卵胞に関わるIGF系の動態の解析の3つの主要研究計画に対し、いずれも成果が得られた。

ヒト卵巢では、卵胞の発育がみられると同時にその卵胞の中から排卵に至る主席卵胞と退縮していく閉鎖卵胞の選択が行われているが、発育成熟卵胞の高E、低Aの環境を形成するには、顆粒膜細胞から分泌されるIGFBP-2を抑制し、IGFBP-4を分解するプロテアーゼ活性を高めてIGFBP-4の結合活性を低下させる機序により、IGF-Iの生物活性を高めていることが明らかにされた。また、卵胞の発育・成熟の調節の中心を担う下垂体ホルモン・FSHは、発育卵胞の卵巢顆粒膜細胞からのIGFBP-1の分泌を抑制し、あるいはIGFBP-3を分解してその作用を減弱化するIGFBP-3のプロテアーゼの顆粒膜細胞からの分泌を介して、IGF-Iの作用を卵巢局所で増強していることが推測された。