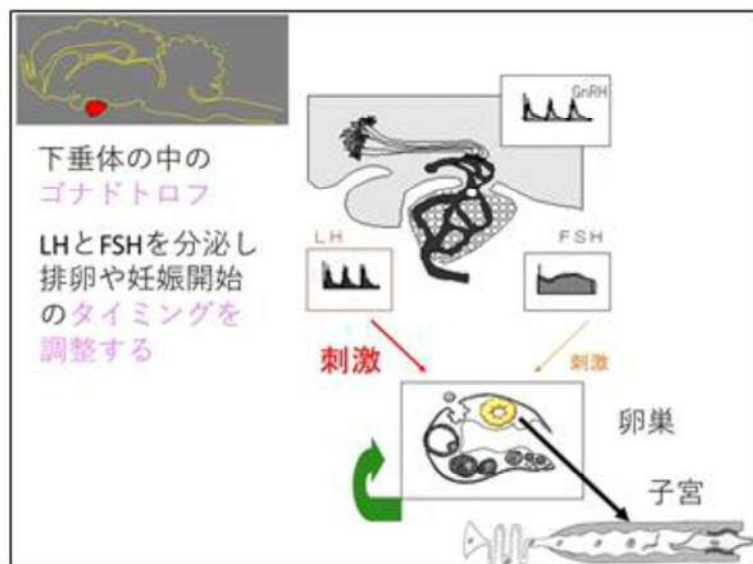




コロナウイルスは、排卵・妊娠開始のタイミング調節役 ゴナドトロフ細胞の機能を低下させ、不妊の原因になるか？

山口大学共同獣医学部 教授 角川博哉

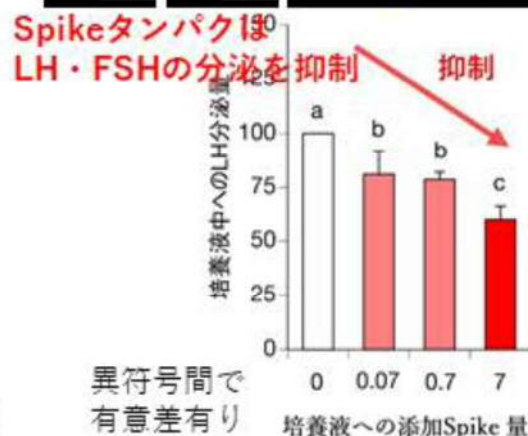
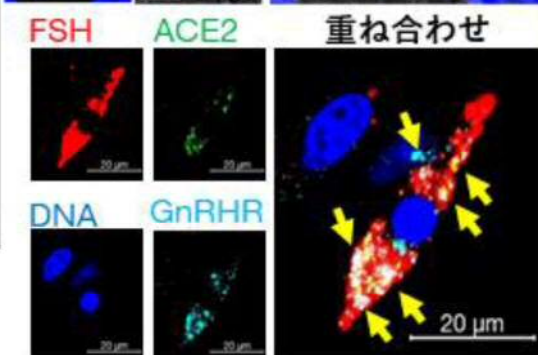
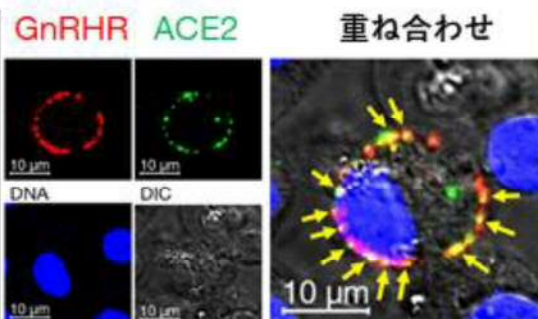
背景



方法の一部



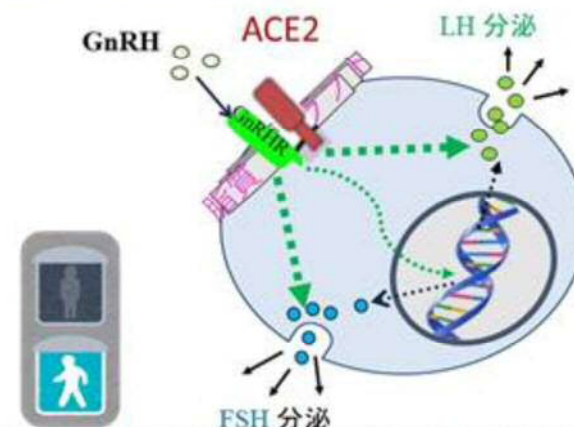
結果の一部



結論

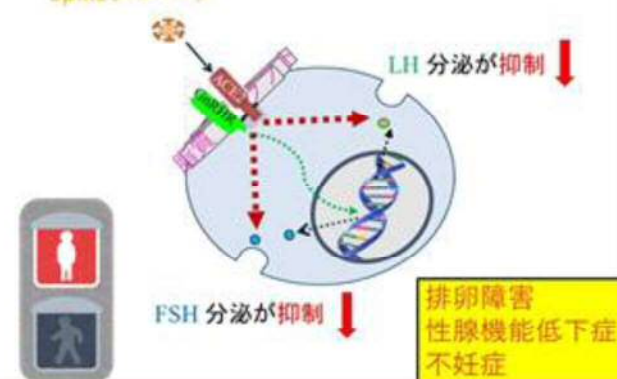
健康時

ACE2はゴナドトロフ表面で
GnRH受容体と脂質ラフトに相乗し



感染後

ACE2受容体にSpikeタンパクが結合すると
Spikeタンパク



山口大学研究プロジェクト
コロナの時間学 ～新型コロナウイルスが人間と社会に対して与える時間的影響～

研究成果報告書

主研究者	角川 博哉	所属	共同獣医学部・獣医学科
共同研究者	大学院生および学部生(Dimas Arya Abdillah, Onalenna Kereilwe, Raihana Nasrin Ferdousy, Risa Saito)		
研究課題名			
コロナウイルスは排卵・妊娠開始のタイミング調節役ゴナドトロフ細胞の機能を低下させ不妊の原因になるか？			
研究内容と成果の概要			
下垂体前葉の中のゴナドトロフ細胞は、卵巣等を調節するホルモン、LH と FSH を分泌して、排卵や妊娠開始のタイミングを精密に調節する極めて重要な細胞である。同細胞の時間調節役としての機能不全は、排卵障害、性腺機能低下症、不妊症の主因でもある。ゴナドトロフ細胞からのホルモン分泌は、視床下部から分泌された GnRH が、ゴナドトロフ細胞膜上の特殊部位である脂質イカダに所在する GnRH 受容体に結合することで刺激される。しかしこれまでの主研究者らの研究により、脂質イカダには他の受容体も同乗しており、それら同乗している受容体は、GnRH とは独立して LH と FSH の分泌調節できることが解明している (Kadokawa、2020 年)。このコンセプトで既に主研究者らは4つの重要な新規受容体を発見したが、他にも重要で未発見の同乗受容体が存在する可能性が考えられる。 ACE2 は、新型コロナウイルス、severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)、がヒト細胞に侵入する際に利用する受容体である。様々な ACE2 を発現している細胞に対して、同ウイルスの Spike タンパク部位が結合し感染する(Sharma ら、2021)。主研究者らは、ウシ下垂体前葉に対し次世代シーケンサーを利用し、全ての発現遺伝子のリストを作成しているが (Pandey ら、2017 年)、同リストに ACE2 が入っている。したがって SARS-CoV-2 は排卵・妊娠開始のタイミング調節役であるゴナドトロフ細胞の機能を低下させ、不妊の原因になるか調べる必要がある。 これまでの医学生物学史の中でウシは重要な発見をするツールであり、重要な発見が他動物種に先駆けて得られることも多い。この理由は明白であり、ウシからは適度な大きさの新鮮な臓器材料を入手しやすいためである。さらにヒトのゲノム塩基配列との相同性が、マウスやラット等の実験動物よりも高いという“盲点”もある。ヒトとウシの ACE2 のアミノ酸配列も相同性が極めて高い。さらに Spike タンパクの結合のために必須なアミノ酸残基の全てがウシ ACE2 にもあり(Luan ら、2020 年)、実際にウシの呼吸器に SARS-CoV-2 は感染する(Teodoro ら、2021 年)。 主研究者らは、これまでの外部の諸機関との多様な教育研究活動を通じて、高品質で細胞培養にも利用できるウシ下垂体前葉の入手ルートを確立している。そのためウシの優れたモデル性能と、山口大学共同獣医学部の特徴を発揮した研究を実施できる。以上の背景から本課題で、次の二つを調べた。 目的 1：ACE2 は下垂体前葉のどの細胞で発現するか明らかにする。			

目的2：Spike タンパクを作用させると、LH や FSH の分泌が抑制されるか評価する。

最初にウシ下垂体前葉組織では、ACE2 の mRNA とタンパクの発現を、RT-PCR 法ならびにウストンブロット法で確認した。次に目的1を達成するために、抗 ACE2 抗体と抗 GnRH 受容体抗体の両方を用いた蛍光免疫染色をウシ下垂体前葉の凍結切片に対して実施した。その結果、大部分の GnRH 受容体陽性細胞における ACE2 の発現が認められた。次にウシ下垂体前葉細胞を培養し、蛍光免疫染色を実施した。その結果、大部分の GnRH 受容体陽性細胞での ACE2 発現が認められた。

続いて目的2を達成するために、ウシ下垂体前葉細胞を培養し、組み替え体の Spike タンパクを培養液に添加し作用させた。添加実験に用いた Spike タンパクの選択の際には、ACE2 への結合にとって必須の S1 領域と、宿主細胞の細胞膜に侵入するために必須の S2 領域の両方を有するものを選択した。細胞培養系への添加実験の結果、Spike タンパクは LH や FSH の分泌を抑制した ($P < 0.05$)。

以上のように、コロナウイルスが排卵・妊娠開始のタイミング調節役ゴナドトロフ細胞の機能を低下させ、不妊の原因になる恐れがあることを支持するデータが得られた。活性化した ACE2 は、細胞内シグナル伝達経路、ERK 経路と SMAD 経路を活性化させ細胞に影響することが知られている (Zhang ら、2019 年; Liu ら、2012 年)。一方、主研究者らは既にゴナドトロフ細胞にはこれら二つの経路が存在し、LH や FSH の分泌調節をしていることを解明している (Rudolf と Kadokawa、2016 年; Kereilwe ら、2018 年)。したがって LH や FSH の分泌抑制メカニズムのひとつとして、Spike タンパクの S1 領域が ACE2 に結合し二つの細胞内シグナル伝達経路に作用したことが考えられた。一方、ゴナドトロフ細胞表面で ACE2 は GnRH 受容体と同部位に所在していたことから、脂質イカダに所在すると考えられた。添加実験に用いた Spike タンパクには S2 領域も含まれる。そのため ACE2 に結合した S1 領域につながる S2 領域が脂質イカダに悪影響し、LH や FSH の分泌抑制が起きるメカニズムも考えられた。

本研究では同定に至っていないが、ゴナドトロフ細胞とは別の下垂体前葉細胞も ACE2 を発現していた。この細胞は、副腎皮質ホルモンの分泌を調節するコルチコトロフである可能性がある (Wang ら 2018)。したがって Spike タンパクが同細胞の ACE2 に結合すると、副腎皮質ホルモンの分泌異常に至り、さらにサイトカインストームという重要問題に関わる恐れも考えられた。

現時点では、ヒトの血液中で Spike タンパクの濃度が感染や回復等の過程でどのように変化するかは明らかになってない。したがって本研究のデータを基に、極めて安全側に立ったリスク回避の観点で、今後の With コロナ時代を私達はどのように生きればよいのかを考えると次のことが言える。感染予防の徹底が、より長い時間の観点で考えるべき不妊対策にとっても重要である。

研究進捗状況・研究成果の公表状況等

計画通りに進捗している。成果がまとまり次第、学会発表等を行う。