

機関番号：32666

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500316

研究課題名 (和文) GnRH ニューロンにおける形態変動解析のための機能科学的アプローチ

研究課題名 (英文) The study of functional morphology for understanding dynamic morphological change of GnRH neurons.

研究代表者

飯島 典生 (IIJIMA NORIO)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00285248

研究成果の概要 (和文)：

GnRH ニューロンの制御に関して近年注目を集める kisspeptin に対する抗体を作製して、kisspeptin 神経の視床下部における神経線維の分布から、その生理作用に関して解析を進めた。Kisspeptin 神経線維の GnRH 神経細胞体への近傍への投射は稀であり、代わって Kisspeptin 神経線維は視床下部内の背側弓状核に密な分布が認められた。この領域は下垂体からのプロラクチン分泌を制御する Dopamine ニューロンが分布する (TIDA neuron)。

本研究による形態学的解析結果は、kisspeptin 神経線維は TIDA neuron にシナプスを介した連絡があることを示している。また生理学的な応答として、TIDA neuron は kisspeptin に応答した細胞内カルシウムの上昇、神経活動マーカー Fos の発現誘導を見出した。以上より kisspeptin による Dopamine neuron を介したプロラクチン分泌の制御が明らかとなった。更にはプロラクチンの脳内への浸潤による GnRH ニューロンを含めた神経内分泌制御の可能性が期待できる。

研究成果の概要 (英文)：

We made a specific polyclonal antibody against kisspeptin which is a remarkable regulatory peptide for hypothalamo-pituitary-gonadal (HPG) axis. Immunohistochemistry using this antibody revealed that a few kisspeptin-immunoreactive (ir) fibers were located in GnRH cell bodies and did not show any direct contact between them. However, kisspeptin-ir fibers were densely distributed in the dorsal part of arcuate nucleus in which dopamine neurons were located, which were called TIDA neurons.

The morphological investigation in this study revealed that kisspeptin-ir fibers showed direct contact with TIDA neurons. In addition, physiological experiments revealed that TIDA neurons showed an increase of intracellular calcium and expression of cFos in response to kisspeptin. Thus, we conclude that kisspeptin regulates prolactin secretion from the pituitary via the TIDA neurons. Furthermore, this knowledge suggests that kisspeptin regulates the HPG axis via prolactin which permeates into the brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：視床下部、生殖神経内分泌、GnRH、免疫組織化学、kisspeptin、Dopamine、
プロラクチン

1. 研究開始当初の背景

GnRH ニューロンは生殖神経内分泌の中核となる神経細胞であり、その活動（GnRH 分泌活性）により性ホルモン分泌制御などの多岐にわたる制御がなされている。生理学的・分子遺伝学的な解析により、神経ペプチド kisspeptin によって GnRH ニューロンが制御されていることは多く報告されており、近年注目を集めている。しかし未だ形態学的に kisspeptin-GnRH ニューロン両者の関係は明らかではなかった。

2. 研究の目的

Kisspeptin 神経線維が GnRH 神経細胞体および GnRH 神経線維にシナプスを形成しているのか、あるいは他の細胞を介して hypothalamus-pituitary-gonad axis の制御に機能しうるのか検討した。

3. 研究の方法

Kisspeptin に対する特異抗体を作製し、kisspeptin 神経線維の可視化を可能ならしめ、GnRH などとの多重染色を行った。

4. 研究成果

Kisspeptin 神経線維の GnRH 神経細胞体への近傍への投射は稀であった。また正中隆起・弓状核においては GnRH/kisspeptin 神経線維の混在が認められたが、両神経線維の直接的なコンタクトは観察し得なかった。代わって Kisspeptin 神経線維は視床下部内の背側弓状核に密な分布が認められた。この領域は下垂体からのプロラクチン分泌を制御する Dopamine ニューロンが分布する (TIDA neuron)。

2 二重蛍光免疫組織化学により Kisspeptin 神経線維は TIDA neuron との密な接触が多く観察された。さらに Synaptophysin(シナプス構成タンパク)/Tyrosin hydroxylase (Dopamine 産生酵素)/kisspeptin 三重蛍光染色でも 3 種の輝点は一致が観察された。

3 免疫電子顕微鏡観察では、TIDA neuron の細胞体、樹状突起に kisspeptin 神経線維との間にシナプス構造を見出した。

これらの結果は kisspeptin 神経から TIDA neuron にシナプスを介した連絡があることを示している。

4 生理学的な応答として、視床下部分散培養系における TIDA neuron は kisspeptin に応答した細胞内カルシウムの上昇を見出した。

以上の結果は kisspeptin による Dopamine neuron を介したプロラクチン分泌の制御を強く示唆している。更にはプロラクチンの脳内への浸潤による GnRH ニューロンを含めた神経内分泌制御の可能性が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

① Iijima N, Takumi K, Sawai N, Ozawa H. An Immunohistochemical Study on the Expressional Dynamics of Kisspeptin Neurons Relevant to GnRH Neurons Using a Newly Developed Anti-kisspeptin Antibody. J Mol Neurosci 査読有 (2011) 43 146-154.

② Takumi K, Iijima N, Ozawa H. Developmental changes in the expression of kisspeptin mRNA in rat hypothalamus. J Mol Neurosci 査読有 (2011) 43 138-145

[学会発表] (計 18 件)

① 澤井信彦 飯島典生 松本恵介 小澤一史 雌ラット視床下部弓状核ドーパミン産生ニューロンへの kisspeptin 神経線維入力 第37回日本神経内分泌学会学術集会 Oct 23, 2010 (京都)

② 飯島典生 澤井信彦 岩田衣世 神経ペプチド kisspeptin の視床下部背側弓状核における新規神経回路 第37回日本神経内分泌学会学術集会 Oct 23, 2010 (京都)

③ 託見健 飯島典生 小澤一史 ラット kisspeptin ニューロンの生後発達と性ステロイドによる発現制御 第37回日本神経内分泌学会学術集会 Oct 23, 2010 (京都)

④ 託見健 飯島典生 小澤一史 ラット視床下部における kisspeptin mRNA 発現ニューロンの生後発達変化 第55回日本組織細胞化学学会学術集会 Sep 4, 201

0 (東京)

- ⑤ 澤井信彦 飯島典生 松本恵介 小澤一史 雌ラットにおける隆起漏斗ドーパミンニューロンへのキスペプチン線維投射の形態学的解析 The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Sep 3, 2010 (神戸)
- ⑥ 飯島典生 澤井信彦 岩田衣世 松本恵介 小澤一史 弓状核ドーパミンニューロンを介した神経ペプチドkisspeptinの新たな生理作用 The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Sep 3, 2010 (神戸)
- ⑦ Sawai N, Iijima N, Matsumoto K, Tobarai Y, Ozawa H. A novel input of kisspeptin fibers to dopaminergic neurons in the arcuate nucleus of female rat. The 7th International Congress Neuroendocrinology. July, 13, 2010. (Rouen, France).
- ⑧ Iijima N, Sawai N, Takumi K, Matsumoto K, Tobarai Y, Ozawa H. Reexamination of the expression and distribution of kisspeptin neurons in the rat using a newly developed antibody. The 7th International Congress Neuroendocrinology. July, 11, 2010. (Rouen, France)
- ⑨ 飯島典生 澤井信彦 松本恵介 小澤一史 Kisspeptinニューロンに関する機能形態学的解析第7回GPCR研究会 May 8, 2010 (東京)
- ⑩ 澤井信彦 飯島典生 松本恵介 小澤一史 キスペプチンによる背側弓状核ドーパミン神経細胞制御に関する検討 March 30 2010 盛岡 第115回日本解剖学会全国学術集会 March 28 2010 (盛岡)
- ⑪ 飯島典生 戸張靖子 澤井信彦 松本恵介 小澤一史 KisspeptinニューロンとGnRHニューロンとの機能形態相関に関する免疫組織化学的解析 第115回日本解剖学会全国学術集会 March 30 2010 盛岡 第115回日本解剖学会全国学術集会 March 28 2010 (盛岡)
- ⑫ 託見健 飯島典生 小澤一史 ラット視床下部におけるkisspeptinニューロンの生後発達にともなう発生変化 第115回日本解剖学会全国学術集会 March 30 2010 盛岡 第115回日本解剖学会全国学術集会 March 28 2010 (盛岡)
- ⑬ 託見健、飯島典生、小澤一史：ラット視床下部におけるKisspeptinニューロンの生後発生に関する分子細胞化学的研究：日本解剖学会関東支部第97回学術集会2009.10 (所沢)
- ⑭ 飯島典生、戸張靖子、松本恵介、小澤一史：Kisspeptin神経系に関する免疫組織化学による検討とGnRHニューロンとの相関解析：日本組織細胞化学会学術総会 50周年記念大会 2009.9 (大津)
- ⑮ 飯島典生、戸張靖子、松本恵介、小澤一史：KisspeptinニューロンとGnRHニューロンの相関に関する免疫組織化学的解析：第36回日本神経内分泌学会 2009.9 (北九州)
- ⑯ 飯島典生、戸張靖子、松本恵介、小澤一史：Kisspeptin 神経系に関する免疫組織化学による検討とGnRHニューロンとの相関解析. 第114回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2009.3. (岡山)
- ⑰ Iijima N., Tobarai Y., Matsumoto K., Ozawa H.: Reconsideration about immunohistochemistry against kisspeptin in the rat brain: what are the cross-reacted neurons with anti-kisspeptin antibodies. World Conference on Kisspeptin Signaling in the Brain (1st) 2008.10. (Cordoba, Spain)

[その他]

ホームページ等

<http://www.nms.ac.jp/nms/kaibou2/publications.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯島 典生 (IIJIMA NORIO)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00285248

(2)研究分担者

加藤 昌克 (KATO MASAKATSU)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90143239

(3)連携研究者

()

研究者番号：