

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：35302

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06037・19K21172

研究課題名(和文)哺乳類の発情行動を制御するGnRHニューロンの同定

研究課題名(英文)Mechanisms of female sexual behavior controlled by GnRH neurons

研究代表者

中村 翔(Nakamura, Sho)

岡山理科大学・獣医学部・助教

研究者番号：50829223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、雌の発情行動の制御メカニズムを解明するため、発情行動後にc-FosおよびGnRHを免疫組織化学により染色し、活性化GnRHニューロンの割合を検討した。野生型ラットでは約70%のGnRHニューロンが活性化していたが、Kiss1 KOラットのGnRHニューロンは活性化していなかった。発情行動に関するGnRHニューロンの活性化には、生殖内分泌系と同様にキスペプチンが関与することが示唆された。また、一連の研究を通じて発情行動発現時に活性化するニューロン群を視床下部および扁桃体に発見した。今後、当該ニューロンの発情行動へ及ぼす影響について明らかにしていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、発情行動を制御するGnRHニューロンの活性化にはキスペプチンが上位で制御することが示唆された。哺乳類の繁殖が成立するには、動物の生理状態に応じて生殖内分泌系と発情行動が協調的に制御されることが重要である。家畜の生産現場では、人工授精時の初回受胎率の低下が深刻な問題となっている。人工授精のタイミングは発情行動の発見によって決定されるため、発情行動の異常に起因する繁殖障害を解決するには、発情行動を制御する脳内メカニズムの解明が重要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to investigate the brain mechanism controlling female sexual behavior. Double immunofluorescence for c-Fos and GnRH was performed by using the brain that were collected from estrogen-primed female Kiss1 KO rats after showing lordosis. Wild-type females showed 70% of GnRH neurons coexpress c-Fos, while there is few c-Fos-expressing GnRH neurons in Kiss1 KO females. This result suggests that kisspeptin neurons would govern both HPG-axis and female sexual behavior via the activation of GnRH neurons. In accordance with these series of experiments, several groups of neurons in the hypothalamus and amygdala were found to be activated after sexual behavior. The effects of these neurons on female sexual behavior will be investigated.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：発情行動 ロードシス GnRH キスペプチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の繁殖が成立するには、動物の生理状態に応じて生殖内分泌系と発情行動が協調的に働くことが重要である。雌では発情期に成熟卵胞から大量のエストロジェンが分泌されると、視床下部から GnRH の一過性の大量分泌(サージ)が起こる。このとき下垂体から黄体形成ホルモン(LH)サージが誘起され、排卵が起こるとともに、雌は雄を受け入れる発情行動を示し、妊娠可能となる。近年、家畜の生産現場では、人工授精時の初回受胎率の低下が深刻な問題となっている。人工授精のタイミングは発情行動の発見によって決定されるため、微弱な発情行動や排卵しているにもかかわらず発情行動を示さないサイレントヒートなどの繁殖障害が初回受胎率低下の一因と考えられる。このような発情行動の異常に起因する繁殖障害を解決するには、発情行動を制御する脳内メカニズムの解明が求められる。

Kiss1 遺伝子にコードされるキスペプチンは GnRH 分泌を刺激することにより、種を超えて哺乳類の生殖機能を最上位から制御する因子として当該分野では最も注目されている神経ペプチドである。GnRH は LH 分泌促進機能の他に、発情行動の発現にも重要であることが知られている。ヤギでは GnRH の分泌期間が発情行動の持続期間と一致することが報告されている。ラットでは、脳内の腹内側核や中脳中心灰白質とよばれる発情行動中枢を介して GnRH が発情行動を調節する機構の存在が示唆されている。しかし、GnRH という同一のペプチドが内分泌と発情行動という異なる生理現象を協調的に調節する機構については不明なままである。

2. 研究の目的

本研究は、ホルモン分泌調節機構と発情行動調節機構の両方に関与する GnRH ニューロンがどのように個体の発情状態を把握し、内分泌と発情行動という異なる生理現象へとアウトプットするのかを明らかにし、発情行動に問題を有する家畜の原因解明や治療法開発に資する基礎的知見を提供することを目的とする。

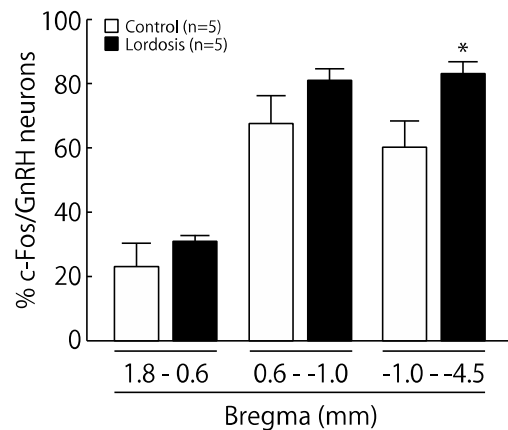
3. 研究の方法

本研究では、発情行動を制御する GnRH ニューロン群の局在を明らかにするため、ニューロンの活性化マーカーの一つである c-Fos と GnRH の二重免疫染色を検討した。実験には、*Kiss1* KO ラットあるいは野生型ラットの雌に卵巣除去後に発情前期を模したエストロジェンを負荷し発情行動が惹起されるモデルを使用した。発情モデル雌ラットを雄ラットと 17:00-19:00 の間の 1 時間同居させ、発情行動を観察した後 4% パラホルムアルデヒドにより灌流固定し脳を採取した。脳の凍結切片を用いて c-Fos および GnRH の二重免疫染色を行い、c-Fos を発現する GnRH ニューロンの局在および割合について検討した。

4. 研究成果

1. 発情行動により活性化する GnRH ニューロンの局在

c-Fos を指標とし、発情行動により活性化された GnRH ニューロンの割合を野生型のラットを用いて検討したところ、視床下部後方(Bregma -1.0- -4.5 mm)に局在する GnRH ニューロンの活性化している割合が発情行動を示した実験群(83.2%)で対照群(60.2%)に比べ有意に高いことが明らかとなった。



2. 発情行動により活性化する GnRH ニューロンへ及ぼすキスペプチンの影響

Kiss1 遺伝子を欠損した *Kiss1* KO ラットの発情行動発現後の GnRH ニューロンの活性を c-Fos の共発現する割合を指標に検討した。*Kiss1* KO ラットが発情行動を示したにも関わらず、GnRH ニューロンに c-Fos がほとんど発現していなかった。この結果から、発情行動による GnRH ニューロンの活性化にはキスペプチンが関与することが推察された。また、発情行動において GnRH ニューロンは必須な因子ではなく、発情行動を増強するなどの修飾的な役割を担うことが示唆された。

以上の研究成果より、発情行動により活性化した GnRH ニューロンは視床下部後方に局在すること、さらにその活性化にはキスペプチンが関与することが示唆された。さらに、視床下部前方に局在する GnRH ニューロン群は生殖内分泌系に、後方の GnRH ニューロン群は発情行動に関与することにより同一の GnRH というペプチドが内分泌系と発情行動という異なる生理現象をキスペプチンにより協調的に調節されている可能性が示された。また、本研究では、視床下部および扁

桃体において発情行動発現時に活性化するニューロン群を発見した。今後は当該ニューロンの発情行動へ及ぼす影響について明らかにすることが課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 MIWA Masafumi、MATSUYAMA Shuichi、NAKAMURA Sho、NODA Kohei、SAKATANI Miki	4. 巻 65
2. 論文標題 Prepartum change in ventral tail base surface temperature in beef cattle: comparison with vaginal temperature and behavior indices, and effect of ambient temperature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 515 ~ 525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2019-087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 NAKAMURA Sho、NODA Kohei、MIWA Masafumi、MINABE Shiori、HAGIWARA Teruki、HIRASAWA Akira、MATSUYAMA Shuichi、MORIYAMA Ryutaro	4. 巻 66
2. 論文標題 Colocalization of GPR120 and anterior pituitary hormone-producing cells in female Japanese Black cattle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 135 ~ 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1262/jrd.2019-111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Uenoyama Yoshihisa、Inoue Naoko、Nakamura Sho、Tsukamura Hiroko	4. 巻 10
2. 論文標題 Central Mechanism Controlling Pubertal Onset in Mammals: A Triggering Role of Kisspeptin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00312	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakamura Sho、Haga Satoshi、Kimura Koji、Matsuyama Shuichi	4. 巻 96
2. 論文標題 Propionate and butyrate induce gene expression of monocarboxylate transporter 4 and cluster of differentiation 147 in cultured rumen epithelial cells derived from preweaning dairy calves1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Animal Science	6. 最初と最後の頁 4902 ~ 4911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jas/sky334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hori Konomi, Matsuyama Shuichi, Nakamura Sho, Iwata Hisataka, Kuwayama Takehito, Miyamoto Akio, Shirasuna Koumei	4. 巻 54
2. 論文標題 Age-related changes in the bovine corpus luteum function and progesterone secretion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reproduction in Domestic Animals	6. 最初と最後の頁 23 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/rda.13303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Jing CHEN, Shiori MINABE, Chudai TAKAHASHI, Arisa MUNETOMO, Fumie MAGATA, Sho NAKAMURA, Yoshihisa UENOYAMA, Hiroko TSUKAMURA, Kei-ichiro MAEDA, Fuko MATSUDA
2. 発表標題 Kisspeptin is required for perinatal testosterone surge in male rats
3. 学会等名 ENDO2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山村 崇、松山 秀一、中村 翔、若林 嘉浩
2. 発表標題 ニューロキニン作動薬の持続投与が家畜の繁殖機能に及ぼす影響
3. 学会等名 日本畜産学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 翔、三輪 雅史、山村 崇、若林 嘉浩、松山 秀一
2. 発表標題 ニューロキニンB受容体作動薬投与がウシの体温に及ぼす影響
3. 学会等名 日本繁殖生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山村 崇、松山 秀一、中村 翔、遠藤 なつ美、田中 知己、若林 嘉浩
2. 発表標題 ニューロキニン作動薬の持続投与がウシの性腺刺激ホルモン分泌に及ぼす影響
3. 学会等名 日本繁殖生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森山 隆太郎、平井 直明、野田 航平、山口 直哉、三輪 雅史、中村 翔、松山 秀一
2. 発表標題 長鎖脂肪酸への暴露がウシおよびブタ精子の運動性に与える影響
3. 学会等名 日本繁殖生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三輪 雅史、中村 翔、松山 秀一
2. 発表標題 体表温センサによる肉用繁殖牛の分娩時刻予知の検討
3. 学会等名 日本繁殖生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 翔、野田 航平、三輪 雅史、美辺 詩織、松山 秀一、森山 隆太郎
2. 発表標題 ウシ下垂体前葉におけるGPR120の局在
3. 学会等名 日本下垂体研究会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----