

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380163

研究課題名(和文) 卵胞発育・排卵中枢へのエストロゲンフィードバックを担う脳内メカニズム

研究課題名(英文) Brain mechanism mediating estrogen feedback controlling follicular development and ovulation

研究代表者

束村 博子 (Tsukamura, Hiroko)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：00212051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円、(間接経費) 4,230,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部から分泌される性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)のパルス状分泌およびサーージ状分泌は、下垂体からの性腺刺激ホルモンのパルス状分泌およびサーージ状分泌を刺激し、それぞれほ乳類の卵胞発育および排卵を制御する。本研究では、ラットおよびマウスを用いて、GnRHサーージおよびパルス状分泌の中枢とされる視床下部弓状核(ARC)および前腹側室周囲核(AVPV)に局在するキスペプチンニューロンにおけるキスペプチン遺伝子発現に対するエストロジェンの効果のエピジェネティックなメカニズムを明らかにした。これらの成果は、将来的には家畜の繁殖率の向上や、生殖医療への応用が可能な基礎的知見である。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to investigate the brain mechanism mediating estrogen feedback to regulate two modes (pulse and surge) of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)/gonadotropin release. Kisspeptin neurons located in the anteroventral periventricular nucleus (AVPV) and hypothalamic arcuate nucleus (ARC) are considered to control follicular development and ovulation via GnRH pulse and surge, respectively. In vivo and in vitro study using rats and mice revealed that epigenetic mechanism is involved in the both negative and positive feedback effects of estrogen to control expression of kisspeptin located in the AVPV and ARC. Since kisspeptin neurons are considered to govern reproductive function in mammals, the present results are expected to be applied to increase animal production efficiency in the future.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学獣医学・応用動物科学

キーワード：キスペプチン Kiss1 メタスチン GPR54 エストロジェン ヒストン エピジェネティック 性腺刺激ホルモン

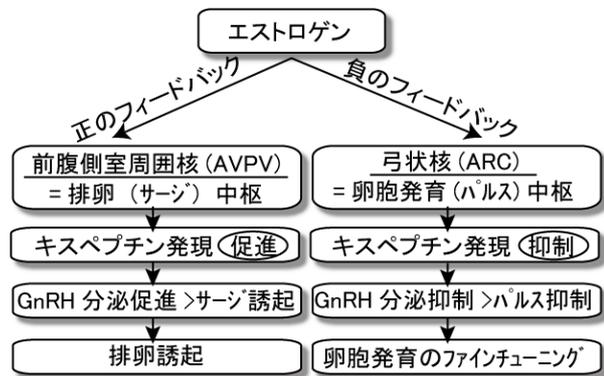
## 1. 研究当初の背景

哺乳類のメスにおいて、卵胞発育と排卵は、エストロゲンのフィードバック機構により制御される。卵胞から分泌されるエストロゲンは、低濃度の時には視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH) 分泌に対して抑制的に作用し(負のフィードバック)、下垂体からの性腺刺激ホルモンのパルス状分泌を抑制することにより卵胞発育のファンクションニングする働きをもつ。ところが、卵胞成熟にともない血中エストロゲンが増加すると、エストロゲンは、GnRH/ 黄体形成ホルモン(LH)の大量放出(サージ)を促し(正のフィードバック) 排卵を誘起する。エストロゲンによる両方向(正と負)のフィードバックがどのような機構により制御されるかについては不明であり、世界の多くの研究グループが長年研究を進めて来たが、未だ解明に至っていない。

Kiss1 遺伝子によりコードされるキスペプチンは、GnRH 放出を直接刺激することにより、魚類から哺乳類まで種を超えて生殖機能を制御する因子として、当該分野で現在もっとも注目されるペプチドである。申請者は、キスペプチンがエストロゲンの正のフィードバックによる GnRH/LH サージ誘起を仲介することを明らかとし、またキスペプチンニューロンがラットの前腹側室周囲核(AVPV)および室傍核(ARC)に局在することを明らかにした。さらに、両神経核の同ニューロンにエストロゲン受容体(ER)αが共存し、エストロゲンがAVPVでのキスペプチン発現には促進的に、一方ARCでの発現には抑制的に制御することを明らかにし、本研究の基礎を築いた。

## 2. 研究の目的

哺乳類のメスの卵胞発育と排卵を制御する性ステロイド(エストロゲン)のフィードバック機構に着目し、卵胞発育を支配する負のフィードバック、および排卵を支配する正のフィードバックによる性腺刺激ホルモン分泌の制御機構の解明を目的とする。具体的には、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)分泌を支配する神経ペプチドであるキスペプチンの遺伝子発現に対する、エストロゲンの促進(正)および抑制(負)作用を、組織特異的な転写因子および enhancer/suppressor の同定により明らかにする。本研究によって得られる成果は、長年謎であった正と負フィードバック機構の解明に新たな知見を加える学術的な意義を持つと同時に、家畜の排卵・卵胞発育異常などの繁殖障害の治療の開発につながる応用に向けた基礎的知見の提供することとなる。



## 3. 研究の方法

### (1) エストロゲン Kiss1 遺伝子の組織特異的エンハンサー領域の同定

本研究では、AVPV および ARC のキスペプチンニューロンにおいて、エストロゲンが組織特異的に Kiss1 遺伝子発現を制御 (AVPV では促進; ARC では抑制) するメカニズムを解明するため、Kiss1 遺伝子の組織特異的なエンハンサー領域の検索を行い、これを in vivo レポーターアッセイ系により証明した。

具体的には、各種の Kiss1 遺伝子の 3' あるいは 5' 領域を削除した配列にレポーター遺伝子として緑色蛍光タンパク (GFP) を結合させていくつかの DNA コンストラクトをマウス受精卵に導入し、AVPV および ARC のキスペプチンニューロンに発現する GFP の有無により、組織特異的エンハンサー候補領域を確かめた。

### (2) エストロゲンにより制御される Kiss1 遺伝子の組織特異的発現を制御するエピジェネティックメカニズムの解明

エストロゲンにより制御される Kiss1 遺伝子の組織特異的発現を制御するメカニズムとして、Kiss1 遺伝子プロモータ周辺領域の DNA メチル化やヒストンアセチル化など、エピジェネティック修飾の可能性を検討するための実験を行った。マウス視床下部ニューロン由来の不活化細胞株を用いた予備実験から、キスペプチン遺伝子の発現に対する DNA メチル化阻害剤である 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC) およびヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である trichostatin A (TSA) の効果を確認した。また、Kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストンのアセチル化が、組織特異的な Kiss1 発現に関与することを確認するため、AVPV および ARC 組織片を用い、アセチル化ヒストンに対する抗体を用いた ChIP アッセイを実施し、ヒストンアセチル化に対するエストロゲンの効果を確認した。

### (3) キスペプチンニューロンによる生殖制御に関する生理作用の解明

家畜であるブタやヤギ、ウシを用いた共同研究により、キスペプチンがこれらの動物

の卵胞発育や排卵を制御することかを確認するための実験を行った。これらの動物における Kiss1 遺伝子のクローニングやエストロゲンによる Kiss1 遺伝子発現効果を確認した。また、泌乳中の動物における生殖機能抑制のメカニズムについて、ラットを用いて吸乳刺激による脳内キスペプチン発現への効果を確認した。特に泌乳中のキスペプチン発現制御へのエストロゲンの役割を確認した。さらに、ARC のキスペプチンニューロンに共発現するニューロキニン B やダイノルフィンの性腺刺激ホルモン分泌に対する役割を確認するための実験を、各種アンタゴニスト等を用い、ラットやイヌ等を用いて実施した。

#### 4. 研究成果

##### (1) Kiss1 遺伝子の組織特異的エンハンサー領域の同定

Kiss1 遺伝子の 3' および 5' 領域を欠如した配列にレポーター遺伝子として GFP を結合させていくつかの DNA コンストラクトをマウス受精卵に導入し、AVPV および ARC のキスペプチンニューロンに発現する GFP の有無により、組織特異的エンハンサー候補領域を確認した結果、Kiss1 遺伝子 3' 側を欠損したコンストラクトを導入したマウスでは AVPV キスペプチンニューロンに GFP 蛋白が発現しないことが明らかとなった。これらの結果より、Kiss1 遺伝子 3' 側に AVPV における Kiss1 遺伝子発現を促進するためのエンハンサー領域が存在することが明らかとなった。一方、Kiss1 遺伝子 5' 側領域を欠如した場合には、ARC におけるキスペプチンニューロンに GFP 蛋白が発現しないことから、Kiss1 遺伝子 5' 側に ARC における Kiss1 遺伝子発現を促進するためのエンハンサー領域が存在することが明らかとなった。

##### (2) エストロゲンにより制御される Kiss1 遺伝子の組織特異的発現を制御するエピジェネティックメカニズムの解明

マウスを用い、Kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストン蛋白のアセチル化が AVPV においては、エストロゲンにより促進され、一方 ARC においては抑制されることを明らかにした。また、内因性エストロゲンが高濃度の発情前期のマウスでは AVPV の Kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストン蛋白のアセチル化が高く、ARC では逆に低いことが明らかになるとともに、内因性のエストロゲン濃度が低い発情休止期には、AVPV の Kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストン蛋白のアセチル化が低く、ARC では逆に高いことが明らかになった。この結果から、エストロゲンは、Kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストン蛋白のアセチル化の制御することにより、正および負のフィ-

ードバック効果を発現することが示唆された。さらに、*in vitro* マウス神経由来細胞系へのヒストン脱アセチル化阻害剤 TSA が Kiss1 遺伝子発現を促進すること、一方で DNA メチル化阻害剤である 5-aza-dC は、何ら Kiss1 発現に効果を示さないことを明らかにした。これらの結果から、エストロゲンによる AVPV キスペプチン発現促進作用が、kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストンのアセチル化により誘起されること、および ARC ではエストロゲンが逆に kiss1 遺伝子プロモータ領域のヒストンのアセチル化を抑制することを明らかとした。これらのことから、エストロゲンの正負のフィードバックは、キスペプチン遺伝子発現をエピジェネティックに制御し、特に AVPV に局在するキスペプチンニューロンは、GnRH/LH サージの制御を介して、動物の排卵を制御することが示した。これらのことから、(1) の成果と合わせて本研究が、動物の排卵を制御の応用に繋がることを示した。

##### (3) キスペプチンニューロンによる生殖制御に関する生理作用の解明

家畜であるヤギ、ウシにおいても、キスペプチンが生殖機能を促進することを確認した。また、ブタにおいて、脳内のキスペプチン遺伝子発現が性成熟前から見られることから、ブタの性成熟は、キスペプチンの発現よりもキスペプチンの放出を制御するメカニズムの成熟が性成熟を制御すると考えられた。また、交尾排卵動物であるスunks の Kiss1 遺伝子をクローニングし、脳内発現を確認した結果、スunks では視索前野の局在するキスペプチンニューロンにおける Kiss1 発現がエストロゲンにより促進される事、また交尾刺激がキスペプチンニューロンの神経活動を刺激することが明らかとなった。また、泌乳中の動物における生殖機能抑制のメカニズムについて、ラットを用いて吸乳刺激による脳内キスペプチン発現への効果を確認したところ、吸乳刺激が ARC における Kiss1 遺伝子発現を抑制することにより性腺刺激ホルモン分泌が抑制されることを明らかにすると共に、泌乳期後期にはエストロゲン依存性に Kiss1 遺伝子発現抑制がみられ、この時期のエストロゲン依存性の性腺刺激ホルモン抑制が起こることを明らかにした。さらに、ARC のキスペプチンニューロンに共発現するニューロキニン B のアンタゴニスト投与がラットおよびイヌにおいて、性腺刺激ホルモンや性腺ホルモンの分泌を抑制する事から、ニューロキニン B がキスペプチンの分泌を促進する作用を介して、性腺刺激ホルモン分泌を促進的に制御することを示唆した。また、ダイノルフィンのアンタゴニスト投与がラットにおいて性腺刺激ホルモン分泌を優位に促進することを示すと

もに、このアンタゴニストの効果が負のフィードバックレベルのエストロゲンを処置したラットにのみ見られたことから、ダイノルフィンがキスペプチン分泌をエストロゲン依存性に抑制することを明らかにし、ダイノルフィンが負のフィードバックを担うことを明らかにした。

以上の結果から、(1)(2)の成果と合わせて本研究は、動物の卵胞発育および排卵に関わるエストロゲンの正負のフィードバックを担う機構を明らかにし、さらに本研究成果が家畜の繁殖制御の応用に繋がることを示した。

## 5. 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] (計 2 2 件)

Ieda, N., Uenoyama, Y., Tajima, Y., Nakata, T., Kano, M., Naniwa, Y., Watanabe, Y., Minabe, S., Tomikawa, J., Inoue, N., Matsuda, F., Ohkura, S., Maeda, K.-I. and Tsukamura, H. (2014) KISS1 Gene Expression in the Developing Brain of Female Pigs at Pre- and PostPeri-pubertal Periods. *J Reprod Dev.* In press. (査読あり)

Naniwa, Y., Nakatsukasa, K., Setsuda, S., Oishi, S., Fujii, N., Matsuda, F., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Maeda, K.-I. and Ohkura, S. (2013). Effects of full-length kisspeptin administration on follicular development in Japanese Black beef cows. *J Reprod Dev.* 2013 Dec 17;59(6):588-94. Epub 2013 Oct 10. (査読あり)

Suetomi, Y., Matsuda, F., Uenoyama, Y., Maeda, K.-I., Tsukamura, H. and Ohkura, S. (2013). Molecular cloning and identification of transcriptional regulatory domain of the goat neurokinin B gene *TAC3*. *J Reprod Dev.* 59(5): 463-469. (査読あり) Epub 2013 Jun 29.

Okamura, H., Tsukamura, H., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Wakabayashi, Y. and Maeda, K.-I. (2013). Kisspeptin and GnRH pulse generation. *Adv Exp Med Biol.* 2013;784:297-323. (査読あり) doi: 10.1007/978-1-4614-6199-9\_14.

Review.

Nakahara T, Uenoyama Y, Iwase A, Oishi S, Nakamura S, Minabe S, Watanabe Y, Deura C, Noguchi T, Fujii N, Kikkawa F, Maeda K, Tsukamura H. (2013) Chronic peripheral administration of kappa-opioid receptor antagonist advances puberty onset associated with

acceleration of pulsatile luteinizing hormone secretion in female rats. *J. Reprod. Dev.* 59, 479-84. (査読あり) Epub 2013 Jul 22.

Sakakibara, M., Uenoyama, Y., Minabe, S., Watanabe, Y., Deura, C., Nakamura, S., Suzuki, G., Maeda, K.-I., and Tsukamura, H. (2013) Microarray analysis of perinatal-estrogen-induced changes in gene expression related to brain sexual differentiation in mice. *PLOS ONE*, 8(11):e79437. (査読あり) doi: 10.1371/journal.pone.0079437. eCollection 2013.

Mostari, M.P., Ieda, N., Deura, C., Minabe, S., Yamada, S., Uenoyama, Y., Maeda, K.-I. and Tsukamura, H. (2013) Dynorphin-kappa opioid receptor signaling partly mediates estrogen negative feedback effect on LH pulses in female rats. *J Reprod Dev.*, 59(3):266-72. (査読あり) Epub 2013 Feb 8.

Sakakibara, M., Deura, C., Minabe, S., Iwata, Y., Uenoyama, Y., Maeda, K.-I. and Tsukamura, H. (2013) Different critical perinatal periods and hypothalamic sites of oestradiol action in the defeminization of LH surge and lordosis capacity in the rat. *J Neuroendocrinol*, 25, 251-259. (査読あり) doi:

10.1111/j.1365-2826.2012.02389.x.

Yamada, S., Uenoyama, Y., Deura, C., Minabe, S., Naniwa, Y., Iwata, K., Kawata, M., Maeda, K.-I., Tsukamura, H. (2012) Oestrogen-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion and Kiss1 mRNA expression in the arcuate nucleus during late lactation in rats. *J Neuroendocrinol*, 24, 1234-1242. (査読あり) doi:

10.1111/j.1365-2826.2012.02330.x.

Tomikawa, J., Uenoyama, Y., Ozawa M., Fukunuma, T., Takase, K., Goto, T., Abe, H., Ieda, N., Minabe, S., Deura, C., Inoue, N., Sanbo, M., Tomita, K., Hirabayashi, M., Tanaka, S., Imamura, T., Okamura, H., Maeda, K.-I., Tsukamura, H. (2012) Epigenetic regulation of Kiss1 gene expression mediating estrogen-positive feedback action in the mouse brain. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, E1294-E1301.

( 査読あり ) doi:  
10.1073/pnas.1114245109. Epub 2012  
Apr 13.  
Inoue, N., Sasagawa, K., Ikai, K.,  
Sasaki, Y., Tomikawa, J., Oishi, S.,  
Fujii, N., Uenoyama, Y., Ohmori, Y.,  
Yamamoto, N., Hondo, E., Maeda, K.-I.  
and Tsukamura, H. (2011) Kisspeptin  
neurons mediate reflex ovulation in  
the musk shrew (*Suncus murinus*). *Proc  
Natl Acad Sci USA*. 108, 17527-17532.  
( 査読あり )  
Matsuyama, S., Ohkura, S., Mogi, K.,  
Wakabayashi, Y., Mori, Y., Tsukamura,  
H., Maeda, K.-I., Ichikawa, M. and  
Okamura, H. (2011). Morphological  
evidence for direct interaction  
between kisspeptin and GnRH neurones  
at the median eminence of the male  
goat: an immunoelectron microscopic  
study. *Neuroendocrinology*, 94,  
323-332. ( 査読あり )  
Tomikawa, J., Shimokawa, H., Uesaka,  
M., Yamamoto, N., Mori, Y., Tsukamura,  
H., Maeda, K.-I., and Imamura, T.  
(2011) Single-stranded noncoding RNAs  
mediate local epigenetic alterations  
at gene promoters in rat cell lines.  
*The Journal of Biological Chemistry*  
286: 34788-34799. ( 査読あり )  
Uenoyama, Y., Inoue, N., Pheng, V.,  
Homma, T., Takase, K., Yamada, S.,  
Ajiki, K., Ichikawa, M., Okamura, H.,  
Maeda, K.-I., and Tsukamura, H. (2011)  
Ultrastructural evidence of  
kisspeptin-gonadotrophin-releasing  
hormone interaction in the median  
eminence of female rats: implication  
of axo-axonal regulation of GnRH  
release. *Journal of  
Neuroendocrinology* 23, 863-870. ( 査  
読あり )  
Minabe, S., Uenoyama, Y., Tsukamura, H.  
and Maeda, K.-I. (2011) Analysis of  
pulsatile and surge-like luteinizing  
hormone secretion with frequent blood  
sampling in female mice. *Journal of  
Reproduction and Development* 57,  
660-664. ( 査読あり )  
Noritake, K., Matsuoka, T., Ohsawa, T.,  
Shimomura, K., Sanbuissho, A.,  
Uenoyama, Y., Maeda, K.-I., and  
Tsukamura, H. (2011) Involvement of  
neurokinin receptors in the control of  
pulsatile luteinizing hormone  
secretion in rats. *Journal of*

*Reproduction and Development* 57,  
409-415. ( 査読あり )  
Noritake, K.-I., Suzuki, J., Matsuoka,  
T., Makino, T., Ohnishi, H., Shimomura,  
K., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Maeda,  
K.-I. and Sanbuissho, A. (2011)  
Testicular toxicity induced by a  
triple neurokinin receptor antagonist  
in male dogs. *Reproductive Toxicology*  
31, 440-446. ( 査読あり )  
Oishi, S., Misu, R., Tomita, K.,  
Setsuda, S., Masuda, R., Ohno, H.,  
Naniwa, Y., Ieda, N., Inoue, N., Ohkura,  
S., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Maeda,  
K.-I., Hirasawa, A., Tsujimoto, G. and  
Fujii N. (2011) Activation of  
Neuropeptide FF Receptors by  
Kisspeptin Receptor Ligands. *ACS  
Medicinal Chemistry Letters* 2, 53-57.  
( 査読あり )

[ 学会発表 ] ( 計 1 0 0 件、研究代表者が筆頭  
発表者のもののみを記載 )

束村博子: 哺乳類の脳における性ステロ  
イドの organizational および  
functional 効果: 生殖中枢キスペプチン  
ニューロンの性分化とキスペプチン発  
現のエピジェネティック制御機構。第 3  
6 回日本分子生物学会年会、2013 年 12  
月 3 日~6 日、神戸ポートアイランド神  
戸国際会議場 ( 兵庫県神戸市 )

束村博子: ほ乳類の脳の性分化と卵胞発  
育・排卵中枢の制御を担う性ステロイド  
のはたらき。第 40 回日本神経内分泌学  
学会学術集会 / 第 38 回日本比較内分泌学  
学会大会 日本比較内分泌学会企画委員会  
主催シンポジウム、2013 年 10 月 24~26  
日、宮崎市民プラザ ( 宮崎県宮崎市 )

束村博子: 種を超えて生殖を制御する神  
経ペプチド: キスペプチン。第 27 回日  
本下垂体研究会学術集会、2013 年 8 月 9  
日~11 日、天童ホテル ( 山形県天童市 )  
Tsukamura, H.: Lactational anestrus  
and Kisspeptin signaling. 5<sup>th</sup> Parental  
Brain conference, 2013.7.11-14,  
Regensburg (Germany).

束村博子: キスペプチンニューロンによ  
る卵胞発育と排卵制御の神経内分泌メ  
カニズム。Nordscience forum 2013、  
2013 年 6 月 8 日、ウエスティン都ホテル  
京都西館 4 階『瑞穂 ( みずほ ) の間』( 京  
都市 )

Tsukamura, H. (University of Nagoya,  
Nagoya, Japon): Kisspeptin control of  
gonadotropin release. Recent advances  
in the central control of reproduction,

2013.4.10-12, INRA(the French National Institute for Agricultural Research)Centre INRA, Conference hall(France)

束村博子、富川順子、上野山賀久、前多敬一郎：生殖中枢キスペプチンニューロンに対するエストロゲンのエピジェネティック制御。第90回日本生理学会大会、平成25年3月27日~29日、タワーホール船堀(東京)

Tsukamura, H., Tomikawa, J., Uenoyama, Y. and Maeda, K.-I. : Epigenetic regulation of kiss1 gene expression mediating estrogen positive feedback action. 2nd World Conference on Kisspeptin Signaling in the Brain, 2012.11.6~9, Tokyo, Japan.

束村博子、富川順子、上野山賀久、前多敬一郎：エストロジェンの正のフィードバックを仲介する Kiss 1 発現調節のエピジェネティックメカニズム。第39回日本神経内分泌学会学術集会、2012.9.28-29、北九州国際会議場(福岡県北九州市)

束村博子、前多敬一郎、上野山賀久：視床下部弓状核特異的なキスペプチン発現を制御する分子機構。第105回日本繁殖生物学会大会、2012.9.5-8、筑波大学大学会館(茨城県つくば市)

束村博子：種を超えて生殖を制御する神経ペプチド：キスペプチン。日本下垂体研究会第27回学術集会、2012.8.11、天童ホテル(山形県天童市)

束村博子、上野山賀久、富川順子、井上直子、大蔵聡、前多敬一郎：エストロジェンフィードバックによるキスペプチン遺伝子発現を制御の分子機構。第9回GPCR研究会、2012.5.11~12、日本未来科学館 みらいCANホール(東京)

束村博子、上野山賀久、富川順子、大蔵聡、井上直子、前多敬一郎：キスペプチンニューロンによる GnRH パルス/サージ発生制御機構。第85回日本内分泌学会学術総会、2012.4.19-21(4.21)、名古屋国際会議場

束村博子：キスペプチンー生殖を支配する神経ペプチド。第12回日本内分泌学会中国支部学術集会、2012.3.3、松江テルサ(島根・松江)

束村博子：脳の性分化：発達脳へのステロイド感作とキスペプチンニューロン。国立医薬品食品衛生研究所特別講演会、平成23年11月30日、東京

Tsukamura H., Homma T., Ieda N.,

Minabe S., Inamoto Y., Yoshida K., Tomikawa J., Yamada S., Ohkura S., Inoue N., Uenoyama Y., Maeda K.-I. : Long-term neonatal estrogen exposure suppresses pulsatile LH release by an irreversible suppression of arcuate kiss1 gene expressions through ER alpha in rodents. The Second World Congress on Reproductive Biology, 2011.10.9-12, Cairns, Australia.

Tsukamura H. : GnRH pulse generation and it's application to the manipulation of follicular development and ovulation. The Joint Symposium of Thai and Japanese Societies for Animal Reproduction, 2011.9.29-30, チュラロンコン大学 獣医学部(タイ国・バンコク)

## 5. 研究組織

### (1)研究代表者

束村博子 (TSUKAMURA Hiroko)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号：00212051

### (3)連携研究者

石井寛高 (ISHII Hirotaka)  
日本医科大学・医学部・助手  
研究者番号：20445810

平林真澄 (HIRABAYASHI Masumi)  
生理学研究所・行動・代謝分子解析センター・准教授

研究者番号：20353435