

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05014

研究課題名(和文)反芻家畜の受胎率向上に資する発情行動発現の分子制御メカニズムの解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism regulating expression of estrous behavior in ruminants

研究代表者

大蔵 聡 (Ohkura, Satoshi)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：20263163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、発情行動に第一義的役割を果たすエストロジェンの受容体(ER)発現を局所的にノックアウトできる遺伝子改変ヤギを作出し、反芻家畜の発情行動を制御する神経機構を解明することを目的とした。ホルモン処置により発情行動を誘起するモデルを構築し、発情に伴う行動量の増加はヤギの発情行動を評価する定量的指標となることを明らかにした。ヤギER遺伝子mRNAの塩基配列および推定アミノ酸配列を同定し、受精卵エレクトロポレーション法によるゲノム編集技術を導入するため、ヤギの遺伝子工学技術の最適化を行った。また、ヤギERが発現する脳領域に微量投与用カニューレを留置する手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において確立した、発情に伴う行動量増加を指標とした発情行動の定量的評価系は、発情行動発現のタイミングを正確に測ることが可能となる点で、反芻動物の発情行動を制御する神経機構の解明に大きく寄与する実験モデル系となる。また、本研究により確立したヤギの遺伝子工学基盤(過排卵処置、卵管内受精卵(1細胞期胚)採取法、GEEP法によるゲノム編集胚の作出など)は、ヤギをモデルとしたゲノム編集技術の確立に寄与し、遺伝子改変技術の対象動物としてのヤギの有用性を飛躍的に高めることができる。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to elucidate the neural mechanisms controlling estrus behavior in ruminants using genetically modified goats that can conditionally knock out estrogen receptor (ER) expression, which plays a primary role in inducing estrus behavior. First, we constructed a model that induced estrus behavior by hormone treatment and found that the increase in the behavioral activity associated with estrus was a quantitative parameter to evaluate the estrus behavior in goats. Second, we identified the nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of the goat ER gene mRNA, and optimized the goat genetic engineering technology to implement genome editing technology by "gene editing by electroporation of Cas9 protein (GEEP)" method in 1-cell stage embryo. Third, we developed a method to implant a microinjection cannula stereotaxically in the brain region where goat ER is highly expressed.

研究分野：家畜繁殖学

キーワード：応用動物 行動学 獣医学 畜産学 神経科学 ヤギ エストロジェン 発情行動

1. 研究開始当初の背景

(1) わが国の畜産現場において、ウシの受胎率が低下を続けている。受胎率の低下は牛群の平均分娩間隔の延長をもたらし、ひいては畜産物生産性を低下させる。ウシの受胎率低下は日本のみならず世界的な傾向であり、畜産物の生産性向上のためには、受胎率の向上と分娩間隔の短縮が喫緊の課題となっている。受胎率低下の要因として、排卵にいたる過程の不調、排卵される卵子の質の不良、受精後の胚着床の問題など、ウシの繁殖生理学的機能の低下が考えられる。乳牛では、遺伝的改良に伴う乳量の飛躍的増加がウシ個体に低栄養状態を惹起し、その結果として繁殖機能の低下を招いたことが原因と考えられている(引用文献)。一方で、ウシの繁殖管理では、発情発見を適切に行い、授精適期に人工授精を実施することがもっとも重要である。近年、微弱発情や無発情などの発情行動の異常を呈するウシが増加して発情発見を困難にし、その結果として授精適期を逃して受胎率の低下を招いている。よって、微弱発情や無発情などの発情行動異常を克服することが課題となっている。本研究では、発情行動の明確化につながる技術開発への応用を視野に入れ、ウシの好適なモデル動物であるヤギを用いて、ウシの受胎率向上に直接的に寄与すると考えられる、発情行動を制御する中枢の同定とその分子メカニズムを解明することを最終的な目的とした。

(2) これまでに研究代表者らのグループは、ウシの受胎率の向上をめざす基盤的研究として、卵胞発育を制御する中枢神経機構である性腺刺激ホルモン放出ホルモンパルス発生機構のメカニズムの解明(引用文献)や、排卵を制御する神経機構の解明(引用文献)を通じ、雌個体における卵胞発育の効果的的刺激や、十分に発育した卵胞の確実な排卵を制御することに主眼をおいて研究を進めてきた。これは、低受胎の要因が、最終的には個体内の内分泌生理メカニズムの変調にあると想定していたためである。それらの研究を進める過程において、本来、繁殖に関わる生理現象と調和して発現すべき発情行動の変調により発情および授精適期の見逃しが頻発し、その結果として人工授精の失敗に直接的につながることに着目した(図1)。また、反芻家畜の発情行動を制御する中枢メカニズムに関する詳細な知見が乏しいことに着目し、本研究課題を着想するに至った。

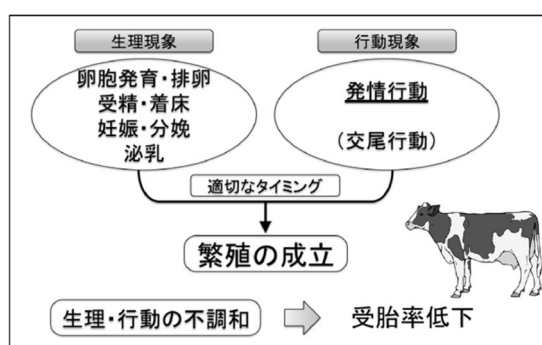


図1. ウシの繁殖には生理現象と行動現象の調和の取れた発現が必須。

(3) 哺乳動物の発情行動は第一義的には十分に発育した卵胞由来のエストロジェンが脳に作用することにより誘起される(引用文献)。げっ歯類モデルでは、エストロジェンの作用部位としてエストロジェン受容体(ER)が存在する視床下部腹内側核、視索前野、視床下部弓状核などが示され、それらの神経核の機能が詳細に調べられている(引用文献 および)。ウシを含む反芻動物でも視床下部腹内側核に ER が局在し、エストロジェンの作用部位として考えられているが(引用文献) 詳細な分子メカニズムの解明には至っていない。反芻動物の発情行動制御中枢の局在とそのメカニズムを詳細に同定するには、発情行動の様式が異なるげっ歯類モデルでの知見に加え、反芻動物を用いた基盤的知見の蓄積が必要と考えられた。

2. 研究の目的

(1) 上記の背景およびこれまでの研究成果に基づき、本研究では反芻動物の好適なモデル動物であるシバヤギをモデルに用い、発情行動に第一義的役割を果たすエストロジェンの受容体発現をコンディショナルにノックアウトできる遺伝子改変ヤギをゲノム編集技術とアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを活用して作出することをめざした。この動物をモデルとして用いて、特に、行動量の増加を発情の指標として定量化した発情行動の変化を調べ、反芻家畜の発情行動を制御する神経機構の局在を同定し、その分子メカニズムを解明することを目的とした。本研究によりウシの受胎率向上に資する知見を集積し、反芻家畜の発情行動を明確化する新しい技術の開発や、微弱発情などの繁殖障害の治療を目的とした臨床応用への展開のための基盤とすることを最終的な目的とした。

3. 研究の方法

(1) 発情行動誘起モデルの構築と発情行動の定量化：

発情行動を任意のタイミングで誘起するため、卵巣除去シバヤギを用いて、プロジェステロンおよびエストロジェンの投与により発情行動を誘起するモデルを作出した。ヤギ(引用文献)およびヒツジ(引用文献)の先行研究を参考にして、ヤギにおける発情行動誘起のホルモン投

与プログラムを最適化した。次に、発情行動誘起モデルを用い、発情行動特異的なパラメーター（行動量、鳴き、尾振り行動、交尾行動など）を測定し、定量化したパラメーターと発情行動発現のタイミングとの比較を実施した。さらに、発情行動発現の背景となる神経内分泌学的指標（血中黄体形成ホルモン濃度、黄体形成ホルモンのパルス状分泌と同期する視床下部神経活動など）の経時変化を調べた。

(2) ゲノム編集技術を活用した遺伝子改変ヤギの作出：

ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9 システムまたはTALEN 法)を用いて、ヤギ ER 遺伝子(*ESR1*) 遺伝子座に loxP 配列を導入した遺伝子改変ヤギ(*ESR1*-floxed ヤギ)の作出を最終的な目的として、まず、常法によりヤギ *ESR1* mRNA の塩基配列および推定アミノ酸配列の同定を行った。本研究項目を実施する中で、ヤギ *ESR1* 遺伝子座のゲノム構造情報の取得に時間を要し、また、CRISPR/Cas9 システムまたはTALEN 法による遺伝子組換えをヤギ細胞系に適用することが困難であることが判明したため、より高効率に遺伝子改変個体を作成できる技術として受精卵エレクトロポレーション(GEEP)法(引用文献)に着目して、ヤギの遺伝子工学基盤(過排卵処置、卵管内受精卵(1細胞期胚)採取法など)の確立を行った。

(3) AAV ベクターを用いたコンディショナルノックアウト技術の確立：

ESR1-floxed ヤギの作出と並行し、Cre/loxP システムによりコンディショナルに *ESR1* をノックアウトするための AAV ベクター(AAV-Cre)をヤギ脳内局所に投与する手法の開発と、ヤギ脳組織への感染に最適な AAV 血清型の探索を行った。

4. 研究成果

(1) 発情行動誘起モデルの構築と発情行動の定量化：

発情行動を任意のタイミングで誘起するため、卵巣除去シバヤギにプロジェステロンおよびエストロジェンを処置して発情行動を誘起するモデルを構築し、発情行動特異的な指標(行動量、鳴き、交尾行動など)の定量と、血中性腺刺激ホルモン濃度の測定を行った。その結果、行動量(歩数)の増加が黄体形成ホルモンサージに先行して起こり、この時間的相関関係はオスに対する受容行動を示さない無発情メス個体においても顕著であった(図2)このことから、発情に伴う行動量の増加はヤギの発情行動を評価する定量的指標となることが明らかとなった。本研究において確立した発情に伴う行動量増加を指標とした発情行動の定量的評価系は、発情行動発現のタイミングを正確に測ることが可能となる点で、反芻動物の発情行動を制御する神経機構の解明に大きく寄与する実験モデル系となる。

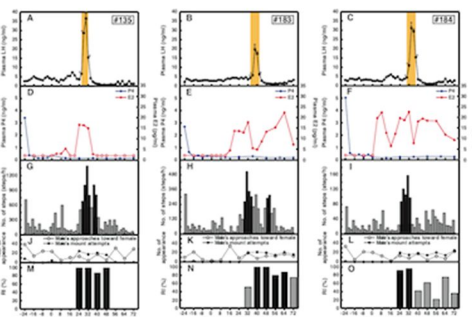


図2. 卵巣除去シバヤギにおけるエストロジェン投与による発情誘起後の血漿中黄体形成ホルモン(1段目) エストラジオール/プロジェステロン(2段目)濃度の推移と、行動量(歩数:3段目)および発情行動発現(4段目)の推移。

(2) ゲノム編集技術を活用した遺伝子改変ヤギの作出：

ゲノム編集技術を用いて、ヤギ *ESR1* 遺伝子座に loxP 配列を導入した遺伝子改変ヤギ(*ESR1*-floxed ヤギ)を作成することを最終的な目的として、RACE 法によりヤギ *ESR1* mRNA の塩基配列および推定アミノ酸配列の同定を行った。その結果、ヤギ *ESR1* mRNA には少なくとも2つのバリエーション(3,836 および 4,353 塩基)が存在することが明らかとなった。ヤギ *ESR1* プロモーター領域および *ESR1* 発現の転写調節因子の探索には至らなかったが、今後これらの情報を利用してヤギ *ESR1* のゲノム構造の同定を引き続き行い、*ESR1*-floxed ヤギの作出を試みる。

ヤギにおいて新たなゲノム編集技術の導入を試みた。より高効率に遺伝子改変個体を作成できる GEEP 法に着目し、マウスやブタにおけるゲノム編集が報告されている同法を本研究の目的である遺伝子改変ヤギ作出に導入することを試みた。GEEP 法では1細胞期胚にゲノム編集を行うため、ヤギ1細胞期胚を確実に採取する必要がある。そこで、ヤギの過排卵処置や、オスとの交配および卵管内受精卵を効率的に回収するタイミングの検討を行い、ヤギの遺伝子工学技術の最適化を行った。その結果、1細胞期胚を多数採取できるプロトコルを確立し、採取した1細胞期胚にGEEP法を適用することにより、ある特定遺伝子のゲノム編集胚の作出ができた。今後、今回作出したゲノム編集胚を受胎ヤギに移植し、ゲノム編集個体が得られることを検証する。最終的にヤギにおけるGEEP法が確立できれば、高効率な遺伝子改変ヤギの作出に寄与する技術となるため、今後も引き続きその確立を継続する。

(3) AAV ベクターを用いたコンディショナルノックアウト技術の確立：

AAV ベクターを用いた遺伝子改変技術に適用するため、ヤギ脳内局所に AAV-Cre を投与するための手法の開発を行った。ヤギ用脳定位固定装置と脳室の X 線造影画像を用いて、ER が発現する領域に微量投与用カニューレを留置する手法を開発した。ER が発現する領域のひとつである内側視索前野の座標を同定して、自作の両側微量投与用カニューレ(図3)を内側視索前野に留置し、エストロジェンを内側視索前野に直接微量投与したところ、黄体形成ホルモンのサージ状分泌を誘起することができた(図4)。このことから、脳内微量投与用カニューレの留置が正確に行われていることが確認できた。本研究において確立した微量投与用カニューレの留置技術は、AAV ベクターを用いたコンディショナルノックアウト技術の確立には必須の手技であり、*ESR1*-floxed ヤギの作出に大きく寄与する技術となる。また、ヤギ神経細胞への遺伝子導入に最適な AAV 血清型の同定を試みたが、最適な血清型の確定には至らなかった。今後これらの同定を引き続き行う。

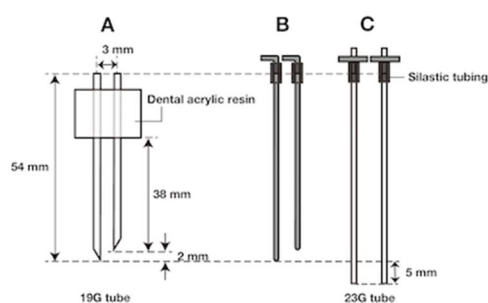


図3. 自作の脳内微量投与用カニューレの模式図。

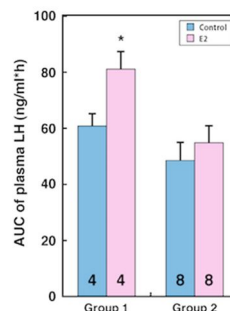


図4. エストロジェン微量投与後の黄体形成ホルモン分泌曲線下面積。内側視索前野にエストロジェンを投与できた群(Group 1)では黄体形成ホルモン分泌が誘起された。

< 引用文献 >

- Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 449-457, 2000.
- Ohkura S, Takase K, Matsuyama S, Mogi K, Ichimaru T, Wakabayashi Y, Uenoyama Y, Mori Y, Steiner RA, Tsukamura H, Maeda KI, Okamura H. Gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *J. Neuroendocrinol.* 21: 813-821, 2009.
- Matsuda F, Nakatsukasa K, Suetomi Y, Naniwa Y, Ito D, Inoue N, Wakabayashi Y, Okamura H, Maeda KI, Uenoyama Y, Tsukamura H, Ohkura S. The luteinising hormone surge-generating system is functional in male goats as in females: involvement of kisspeptin neurones in the medial preoptic area. *J. Neuroendocrinol.* 27: 57-65, 2015.
- Plant TM, Zeleznik AJ. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 4th edition.* Academic Press, 2015.
- Molenda-Figueira HA, Williams CA, Griffin AL, Rutledge EM, Blaustein JD, Tetel MJ. Nuclear receptor coactivators function in estrogen receptor- and progesterin receptor-dependent aspects of sexual behavior in female rats. *Horm. Behav.* 50: 383-392, 2006.
- Flanagan-Cato LM. Sex differences in the neural circuit that mediates female sexual receptivity. *Front. Neuroendocrinol.* 32: 124-136, 2011.
- Fabre-Nys C, Gelez H. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Horm. Behav.* 52: 18-25, 2007.
- Tanaka T, Mori Y, Hoshino K. Long-term recording of hypothalamic GnRH pulse generator activity during programmed administration of progesterone and estradiol in the ovariectomized goat. *J. Reprod. Dev.* 40:183-188, 1994.
- Fabre-Nys C, Martin GB. Hormonal control of proceptive and receptive sexual behavior and the preovulatory LH surge in the ewe: reassessment of the respective roles of estradiol, testosterone, and progesterone. *Horm. Behav.* 25: 295-312, 1991.
- Tanihara F, Takemoto T, Kitagawa E, Rao S, Do LT, Onishi A, Yamashita Y, Kosugi C, Suzuki H, Sembon S, Suzuki S, Nakai M, Hashimoto M, Yasue A, Matsuhisa M, Noji S, Fujimura T, Fuchimoto D, Otoi T. Somatic cell reprogramming-free generation of genetically modified pigs. *Sci. Adv.* 2: e1600803, 2016.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsuda, F., Ohkura, S., Magata, F., Munetomo, A., Chen, J., Sato, M., Inoue, N., Uenoyama, Y. and Tsukamura, H.	4. 巻 45
2. 論文標題 Role of kisspeptin neurons as a GnRH surge generator: Comparative aspects in rodents and non-rodent mammals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 2318-2329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14124	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 -
1. 著者名 Suetomi, Y., Tatebayashi, R., Sonoda, S., Munetomo, A., Matsuyama, S., Inoue, N., Uenoyama, Y., Takeuchi, Y., Tsukamura, H., Ohkura, S. and Matsuda, F.	4. 巻 32
2. 論文標題 Establishment of immortalised cell lines derived from female Shiba goat KNDy and GnRH neurones	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 e12857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12857	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 -
1. 著者名 Kitagawa, Y., Sasaki, T., Suzumura, R., Morishima, A., Tatebayashi, R., Assadullah, Ieda, N., Morita, Y., Matsuyama, S., Inoue, N., Uenoyama, Y. Tsukamura, H. and Ohkura, S.	4. 巻 736
2. 論文標題 Facilitatory and inhibitory role of central amylin administration in the regulation of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in goats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2020.135276	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 Sasaki, T., Sonoda, T., Tatebayashi, R., Kitagawa, Y., Oishi, S., Yamamoto, K., Fujii, N., Inoue, N., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Maeda, K.-I., Matsuda, F., Morita, Y., Matsuyama, S. and Ohkura, S.	4. 巻 66
2. 論文標題 Peripheral administration of SB223412, a selective neurokinin-3 receptor antagonist, suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion by acting on the gonadotropin-releasing hormone pulse generator in estrogen-treated ovariectomized female goats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 351-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2019-145	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 -

1. 著者名 Oshimo, Y., Munetomo, A., Magata, F., Suetomi, Y., Sonoda, S., Takeuchi, Y., Tsukamura, H., Ohkura, S. and Matsuda, F.	4. 巻 67
2. 論文標題 Estrogen increases KISS1 expression in newly generated immortalized KISS1-expressing cell line derived from goat preoptic area	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 15-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2020-053	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 -

1. 著者名 Sasaki T., Ito D., Sonoda T., Morita Y., Wakabayashi Y., Yamamura T., Okamura H., Oishi S., Noguchi T., Fujii N., Uenoyama Y., Tsukamura H., Maeda K.I., Matsuda F., Ohkura S.	4. 巻 68
2. 論文標題 Peripheral administration of μ -opioid receptor antagonist stimulates gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in ovariectomized, estrogen-treated female goats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Domestic Animal Endocrinology	6. 最初と最後の頁 83 ~ 91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.domaniend.2018.12.011	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 -

1. 著者名 Nakamura Sho, Wakabayashi Yoshihiro, Yamamura Takashi, Ohkura Satoshi, Matsuyama Shuichi	4. 巻 97
2. 論文標題 A neurokinin 3 receptor-selective agonist accelerates pulsatile luteinizing hormone secretion in lactating cattle†	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 81 ~ 90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/iox068	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 -

1. 著者名 Fabre-Nys Claude, Cognie Juliette, Dufourny Laurence, Ghenim Meriem, Martinet Stephanie, Lasserre Olivier, Lomet Didier, Millar Robert P, Ohkura Satoshi, Suetomi Yuta	4. 巻 158
2. 論文標題 The two populations of kisspeptin neurons are involved in the ram-induced LH pulsatile secretion and LH surge in anestrus ewes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 3914 ~ 3928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2017-00429	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 Hassaneen, A.S.A., Naniwa, Y., Suetomi, Y., Matsuyama, S., Kimura, K., Ieda, N., Inoue, N., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Maeda, K.-I., Matsuda, F. and Ohkura, S.	4. 巻 62
2. 論文標題 Immunohistochemical characterization of the arcuate kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) and preoptic kisspeptin neuronal populations in the hypothalamus during the estrous cycle in heifers.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 471-477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2016-075	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 -

1. 著者名 Uenoyama, Y., Tomikawa, J., Inoue, N., Goto, T., Minabe, S., Ieda, N., Nakamura, S., Watanabe, Y., Ikegami, K., Matsuda, F., Ohkura, S., Maeda, K.-I. and Tsukamura, H.	4. 巻 103
2. 論文標題 Molecular and epigenetic mechanism regulating hypothalamic Kiss1 gene expression in mammals.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 640-649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000445207	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 -

〔学会発表〕 計25件(うち招待講演 4件/うち国際学会 9件)

1. 発表者名 北川悠梨, 佐々木拓弥, 森島 愛, 館林亮輝, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 東村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 GnRHパルス発生中枢制御機構におけるカルシトニン受容体の役割
3. 学会等名 第37回内分泌代謝学サマーセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大蔵 聡
2. 発表標題 生殖内分泌の基礎 - GnRH分泌制御の神経内分泌メカニズム -
3. 学会等名 第1回日本生殖発生毒性フォーラム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ohkura, S.
2. 発表標題 Neuroendocrine control of reproductive functions in domestic ruminants
3. 学会等名 The 2nd International Conference on Mathematics and Natural Sciences (IConMNS) 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川悠梨, 佐々木拓弥, 森島 愛, 館林亮輝, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 パルス状GnRH分泌制御機構におけるカルシトニン受容体の役割
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木拓弥, 森島 愛, 中西真莉菜, 鈴村玲香, 館林亮輝, 北川悠梨, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 シバヤギのパルス状GnRH分泌制御メカニズムにおけるセロトニンの役割
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大下雪奈, 棟朝亜理紗, 末富祐太, 真方文絵, 束村博子, 大蔵 聡, 松田二子
2. 発表標題 ヤギ視索前野由来キスペプチンニューロン不死化細胞株の樹立
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田二子, 大蔵 聡
2. 発表標題 家畜における繁殖の神経内分泌学 - 基礎的知見と臨床応用の可能性 -
3. 学会等名 (公社)日本畜産学会主催日本家畜臨床学会共催公開シンポジウム「畜産研究の成果を獣医臨床フィールドへ」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴村玲香, 森田康広, 松山秀一, 佐々木拓弥, 北川悠梨, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 シバヤギにおけるGnRHパルス発生中枢の制御に関わるセロトニン受容体サブタイプの検討
3. 学会等名 第113回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松田二子, 末富祐太, 舘林亮輝, 園田修平, 棟朝亜理紗, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 武内ゆかり, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 雌ヤギ由来KNDyニューロンおよびGnRHニューロン不死化細胞株の樹立
3. 学会等名 第25回日本生殖内分泌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森島 愛, 佐々木拓弥, 舘林亮輝, 北川悠梨, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 シバヤギのGnRH パルス発生メカニズムにおけるセロトニンの役割
3. 学会等名 日本下垂体研究会第33回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北川悠梨, 佐々木拓弥, 森島 愛, 館林亮輝, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 大蔵 聡
2. 発表標題 シバヤギにおけるパルス状GnRH 分泌調節メカニズムに対するアミリンの作用
3. 学会等名 日本下垂体研究会第33回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木拓弥, 園田朋也, 大石真也, 藤井信孝, 森田康広, 松山秀一, 井上直子, 上野山賀久, 束村博子, 前多敬一郎, 松田二子, 大蔵 聡
2. 発表標題 ニューロキニンB受容体拮抗剤の経口投与はパルス状LH分泌を抑制する
3. 学会等名 第111回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大蔵 聡
2. 発表標題 私が出会った生殖神経内分泌学 - 農学分野における基礎研究の意義 -
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kitagawa, Y., Sasaki, T., Morishima, A., Tatebayashi, R., Morita, Y., Matsuyama, S., Inoue, N., Uenoyama, Y., Tsukamura, H., Ohkura, S.
2. 発表標題 The role of calcitonin receptor signaling in the regulation of GnRH pulse generator activity in goats
3. 学会等名 日本畜産学会第125回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe, M., Sasaki, T., Tatebayashi, R., Suetomi, Y. and Ohkura, S.
2. 発表標題 Microimplants of estradiol in the medial preoptic area induce a surge-like secretion of luteinizing hormone in male Shiba goats.
3. 学会等名 The 4th World Congress on Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tatebayashi, R., Sakuma, T., Yamamoto, T., Ohkura, S. and Matsuda, F.
2. 発表標題 TALEN-mediated Cre recombinase knockin in KISS1 locus of goat embryonic fibroblasts.
3. 学会等名 The 4th World Congress on Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakamura, S., Wakabayashi, Y., Yamamura, T., Ohkura, S. and Matsuyama, S.
2. 発表標題 A neurokinin 3 receptor-selective agonist, senktide, stimulates pulsatile luteinizing hormone secretion in lactating cattle.
3. 学会等名 The 4th World Congress on Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamamura, T, Ohkura, S. and Wakabayashi, Y.
2. 発表標題 Neurokinin B/neurokinin-3 receptor signaling is involved in the regulation of GnRH pulse generation in male goats.
3. 学会等名 The 4th World Congress on Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ozaki, R., Uenoyama, Y., Suetomi, Y., Matsuyama, S., Kimura, K., Ieda, N., Inoue, N., Tsukamura, H., Ohkura, S. and Matsuda, F.
2. 発表標題 Establishment of immortalized GnRH neuronal cell lines derived from the cattle brain.
3. 学会等名 The 4th World Congress on Reproductive Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tatebayashi, R., Suetomi, Y., Kobayashi, K., Ohkura, S. and Matsuda, F.
2. 発表標題 Introduction of DREADD in goat arcuate nucleus using adeno-associated virus.
3. 学会等名 Society for Neuroscience 47th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村 翔・若林嘉浩・山村 崇・大蔵 聡・松山秀一
2. 発表標題 泌乳期ウシにおけるニューロキニンB受容体作動薬が黄体形成ホルモンのパルス状分泌に及ぼす影響.
3. 学会等名 日本下垂体研究会第32回学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Suetomi, Y., Tatebayashi, R., Tsukamura, H., Ohkura, S. and Matsuda, F.
2. 発表標題 Establishment of a neuronal cell line derived from KNDy neuron in a goat
3. 学会等名 The 49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 末富祐太・館林亮輝・束村博子・大蔵 聡・松田二子
2. 発表標題 シバヤギKNDyニューロン不死化細胞株の樹立
3. 学会等名 第109回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tatebayashi, R., Sakuma, T., Yamamoto, T., Ohkura, S. and Matsuda, F.
2. 発表標題 Modification of KISS1 gene in goat embryonic fibroblasts using TALEN.
3. 学会等名 International Symposium on Pituitary Gland and Its Related Systems (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今岡麻子・末富祐太・佐々木拓弥・大蔵 聡
2. 発表標題 シバヤギにおける発情に伴う行動量の増加とLHサージの時間的關係
3. 学会等名 日本畜産学会第122回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 大蔵 聡	4. 発行年 2020年
2. 出版社 インターズー	5. 総ページ数 351
3. 書名 視床下部および下垂体ホルモン（「繁殖生物学 改訂版」）	

1. 著者名 Goodman, R.L., Ohkura, S., Okamura, H., Coolen, L.M., Lehman, M.N.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Wiley-Blackwell	5. 総ページ数 536
3. 書名 The GnRH Neuron and its Control (Wiley-INF Masterclass in Neuroendocrinology Series)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学大学院生命農学研究科 動物生産科学研究室 https://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~laps/
--

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
研究協力者	松山 秀一 (Matsuyama Shuichi)		
研究協力者	森田 康広 (Morita Yasuhiro)		
研究協力者	佐々木 拓弥 (Sasaki Takuya)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	館林 亮輝 (Tatebayashi Ryoki)		
研究協力者	渡辺 みなみ (Watanabe Minami)		
研究協力者	今岡 麻子 (Imaoka Asako)		
研究協力者	北川 悠梨 (Kitagawa Yuri)		
研究協力者	森島 愛 (Morishima Ai)		
連携研究者	松田 二子 (Matsuda Fuko) (10608855)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関

フランス	フランス国立農業研究所			
------	-------------	--	--	--