

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09261

研究課題名(和文)生殖機能を司る中枢性ネットワーク機構の解明

研究課題名(英文)Study of central network function that controls reproductive function

研究代表者

折出 亜希 (Oride, Aki)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・講師

研究者番号：00423278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：摂食抑制作用を示すグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)とレプチンのゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH)、キスペプチン発現に対する作用を視床下部ニューロンのモデル細胞を用いて調べた。GLP-1、レプチンはモデル細胞のキスペプチン発現を増加させたが、GLP-1はGnRH発現作用は有しなかった。副腎皮質ホルモン放出ホルモン (CRH)はストレスに關与するホルモンである。次に視床下部弓状核 (ARC)キスペプチンニューロンのモデル細胞を用いて、キスペプチン発現に対するCRHの作用を調べた。ARCモデル細胞のCRH発現はエストロジオール刺激で増加し、CRHはこの細胞でキスペプチンの発現を減少させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

女性の生殖機能は視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) および、さらに上位から作用しているキスペプチンにより制御されている。視床下部は生殖のみならず、摂食行動やストレス反応の中枢でもある。視床下部ニューロンのモデル細胞を用いた本研究によりGLP-1、レプチン、CRHなどの摂食やストレスに關連するホルモンがキスペプチン、GnRHの発現に關与していることが明らかとなった。これらの成果は、臨床的に遭遇する肥満ややせ、ストレスによる月経異常の病因解明につながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The effects of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and leptin, which has an anorexigenic effect, on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and kisspeptin expression were investigated using model cells of hypothalamic neurons. GLP-1 and leptin increased kisspeptin (Kiss-1) mRNA expression in model cells, but GLP-1 did not have a GnRH mRNA expression effect. Corticotropin-releasing hormone (CRH) is the hormone involved in stress. Next, we investigated the effect of CRH on Kiss-1 mRNA expression using cell models of Kiss-1 neurons in hypothalamic arcuate nucleus (ARC). Stimulation of these cells with CRH significantly decreased Kiss-1 mRNA expression. CRH decreased Kiss-1 mRNA expression in these cells.

研究分野：生殖内分泌

キーワード：キスペプチン GnRH

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

女性の生殖機能は性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) が視床下部から律動的に分泌されることにより制御されている。近年この GnRH 分泌をさらに上位から支配するキスペプチンニューロンの存在が明らかになった。動物実験等ではキスペプチンが GnRH を活性化し、ゴナドトロピン分泌を制御していることは間違いないと思われる。しかし GnRH 産生ニューロンのモデル細胞である GT1-7 細胞を用いた実験では、キスペプチン刺激により GnRH 受容体発現は増加したが、キスペプチン発現は増加しなかった。キスペプチンが直接 GnRH ニューロンへ作用し GnRH を制御しているかについては不明である。

臨床の間では体重減少やストレス、過度のスポーツにより月経異常を生じる患者によく遭遇する。このことよりキスペプチンだけが GnRH を制御しているのではなく、摂食代謝やストレスに関わる因子も GnRH 制御に関与していると考えられる。しかしその詳細なメカニズムについてはまだ明らかにされていない。

2. 研究の目的

摂食/代謝に関与するグルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)、レプチンやストレスに関連する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)がキスペプチンニューロンあるいは GnRH ニューロンにどのように作用するのか検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

ラット及びマウス視床下部細胞株、ラット視床下部初代培養細胞を用いて研究を行なった。GLP-1、レプチン、CRHその他視床下部に存在する生理活性物質に対するキスペプチン及びGnRHの発現および分泌について、RT-PCR法を用いて検討した。またGnRH、キスペプチンについて細胞内情報伝達経路、それらの受容体発現についてwestern blotting法やレポーターアッセイを用い検討した。

4 . 研究成果

エネルギーバランスは女性の生殖機能と密接に関係している。GLP-1 は食事をとると小腸から分泌され、視床下部に作用し摂食抑制作用を示すことが知られている。視床下部不死化細胞 rHypoE8 及び GT1-7, ラット胎児脳初代培養細胞をモデル細胞とし、GLP-1 によるキスペプチン発現の変化を RT-PCR 法で測定した。rHypoE8 細胞、GT1-7 細胞、ラット胎児脳初代培養細胞には GLP-1 の受容体が存在した。またこれらの細胞にはキスペプチン及び GnRH の発現があることを確認した。GLP-1 は3つの細胞全てにおいてキスペプチン発現を増加させた。rHypoE8 細胞における検討で GLP-1 は cAMP/PKA 経路を活性化させた。摂食抑制因子として知られているレプチンも GLP-1 と同様に rHypoE8 細胞においてキスペプチン発現を増加させた。GLP-1 は GnRH 発現作用を有しなかった。これらのことより GLP-1 は視床下部キスペプチンの発現を介して、生殖機能に影響を与えている可能性が考えられた。

ストレス下で副腎皮質から産生されるコルチゾールは視床下部から分泌される CRH によって制御されている。マウス視床下部弓状核 (ARC) キスペプチンニューロンはエストラジオール(E2)のネガティブフィードバックに関与していることが明らかとなっ

ている。また CRH もネガティブフィードバックへの関与が示唆されていることより、ARC 領域由来のキスペプチン発現ニューロンである mHypoA-55 細胞を用いて E2 によるネガティブフィードバック機構について検討した。mHypoA-55 細胞にはキスペプチン、CRH が発現していた。CRH は E2 により発現が増加し、CRH 刺激は mHypoA-55 細胞のキスペプチン発現を有意に減少させた。mHypoA-55 細胞にはゴナドトロピン放出抑制ホルモンである RFRP-3 も発現しており RFRP-3 発現はメラトニン及び E2 刺激で上昇した。RFRP-3、メラトニン刺激は mHypoA-55 細胞内の CRH 発現を増加させた。CRH は E2 あるいは RFRP-3 の影響を受けネガティブフィードバック機構に関与している可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kanasaki H, Tumurbaatar T, Tumurgan Z, Oride A, Okada H, Kyo S	4. 巻 18
2. 論文標題 Effect of relaxin-3 on Kiss-1, gonadotropin-releasing hormone, and gonadotropin subunit gene expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 397-404
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12298. eCollection 2019 Oct.	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 Tumurgan Z, Kanasaki H, Tumurbaatar T, Oride A, Okada H, Hara T, Kyo S.	4. 巻 101
2. 論文標題 Role of activin, follistatin, and inhibin in the regulation of Kiss-1 gene expression in hypothalamic cell models.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 405-415
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/biolre/ioz094.	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 Oride A, Kanasaki H, Kyo S	4. 巻 17
2. 論文標題 Role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in modulating hypothalamic-pituitary system.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 234-241
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12094	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 折出亜希、金崎春彦、Tuvshintugs Tumurbaatar、Tumurgan Zolzaya、原 友美、京 哲
2. 発表標題 アクチビン及びインヒビンの視床下部キスペプチンニューロンに対する直接作用について
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 折出亜希、金崎春彦、原友美、岡田裕枝、京哲
2. 発表標題 選択的静脈サンプリングが有用であった卵巢ライディッヒ細胞腫の1例
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 折出亜希、金崎春彦、Tuvshintugs Tumurbaatar、原友美、岡田裕枝、京哲
2. 発表標題 下垂体ゴナドトロピン産生における視床下部キスペプチンとGnRH、PACAPの相互作用について
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 折出亜希、金崎春彦、Tuvshintugs Tumurbaatar、原友美、岡田裕枝、京哲
2. 発表標題 Neurotensin及びCRHのエストラジオールによるフィードバック機構への関与について
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
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
研究 分担 者	金崎 春彦	島根大学・学術研究院医学・看護学系・准教授	
	(Kanasaki Haruhiko)		
	(10325053)	(15201)	

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
---------	---------