

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16800

研究課題名(和文)末梢組織におけるキスペプチンの作用機序に関する研究

研究課題名(英文)Role of kisspeptin in peripheral tissues

研究代表者

原 友美 (HARA, TOMOMI)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：60793502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：プロラクチン産生GH3細胞に存在するキスペプチン受容体(Kiss1R)はキスペプチンに反応せず、Kiss1Rを細胞に過剰発現させた場合あるいはE2(エストラジオール)存在下で培養した場合にキスペプチンはプロラクチンの転写活性を増加させた。キスペプチンはプロラクチン産生因子の一つである。GH3細胞はE2により Kiss1R発現が増加し、E2レベルが制御に関与すると思われた。下垂体ゴナドトロピン産生LbetaT2細胞内のKiss-1およびKiss1R発現は抗ミュラー管ホルモン(AMH)により減少した。AMHはキスペプチン刺激によるゴナドトロピン発現を抑制的に制御している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖内分泌領域においてキスペプチンニューロンが発見され、中枢においてはキスペプチンはGnRHの制御因子である。一方でキスペプチン、GnRHは末梢においても存在するが、その機能の多くは不明である。本研究では、下垂体前葉においてキスペプチンがプロラクチン産生やゴナドトロピン産生制御に関与することが確認され、キスペプチンが生殖機能の制御に広く関与する一端が明らかになった。キスペプチン、GnRHをはじめとするホルモンの作用関係を明らかにすることにより、未だ全容が明らかでない月経周期の制御機構解明や不妊や妊娠合併症の治療につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The kisspeptin receptor (Kiss1R) present in prolactin-producing GH3 cells, but it does not respond to kisspeptin, and kisspeptin stimulated prolactin promoter when Kiss1R is overexpressed in GH3 cells or when GH3 cells cultured in the presence of E2 (estradiol). Kisspeptin is one of the prolactin-producing factors. In GH3 cells, E2 increased Kiss1R expression, suggesting that E2 levels are involved in regulation. The expression of Kiss-1 and Kiss1R in pituitary gonadotropin-producing LbetaT2 cells was decreased by anti-Mullerian hormone (AMH). AMH may suppress gonadotropin expression stimulated by kisspeptin.

研究分野：産婦人科学

キーワード：キスペプチン ゴナドトロピン GnRH

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 視床下部-下垂体-性腺軸による生殖機能制御とキスペプチン

女性の生殖内分泌機能は視床下部-下垂体-性腺軸(HPG axis)という調整ユニットにより内分泌的に制御されている。HPG axis 機能開始は思春期の発来及び初経発来をもたらす、HPG axis の正常な機能維持が生殖可能年齢の女性における月経周期の確立と妊孕性の獲得に不可欠である。視床下部から分泌されるゴナドトロピン放出因子(GnRH)が下垂体前葉に作用し、下垂体前葉からのゴナドトロピン(LH, FSH) 分泌を促進、ゴナドトロピンは卵巣から性ステロイドホルモンを分泌させるという従来の HPG axis の概念は 2003 年にキスペプチンによる GnRH 制御が明らかになって以降大きく変化した。視床下部に存在するキスペプチン及び GnRH は HPG axis の中枢として生殖機能を制御する役割を持つ。一方、これらの神経ペプチドは末梢組織にも存在する。

#### (2) キスペプチンは下垂体前葉にも存在する

下垂体門脈中にも視床下部ペプチドは放出されるが、キスペプチンとその受容体は下垂体前葉細胞にも存在するとされる(J Neuroendocrinol 20, 2008)。我々の教室ではキスペプチンがゴナドトロピン産生に促進的に作用する事を明らかにしているが、局所で産生されるキスペプチンが下垂体前葉内で下垂体ホルモン分泌に影響を持つ可能性があると考えている。

#### (3) キスペプチン、GnRH は末梢組織においても存在する

また、GnRH とその受容体は卵巣、精巣、前立腺や乳腺など視床下部外に存在していると報告されている(J Neuroendocrinol 21, 2009)。GnRH 及び GnRH 受容体(GnRHR)はヒト胎盤、特に 1st trimester の妊娠期の栄養膜細胞層に多く存在する事から、子宮筋層内への絨毛浸潤に関与しているのではないかと推測されている他、絨毛性ゴナドトロピン(hCG)の生合成にも関与しているのではないかと考えられている。一方キスペプチンは当初は癌転移抑制因子メタスタチンとして胎盤から発見されているように胎盤組織に多く存在し、その他膵臓や小腸、睪丸にも存在するとされる(Nature 411, 2001)。キスペプチン受容体(Kiss1R)も同様に広く末梢組織に存在し、妊婦における末梢血中のキスペプチン濃度は非妊娠時より高値であることも知られている。ヒト胎盤においてキスペプチンは栄養膜合体層に多く存在している。母体側の子宮脱落膜にキスペプチンは存在せず、現時点で胎盤に存在するキスペプチンは絨毛外栄養膜合体細胞の子宮筋層への浸潤を抑制する機能があるのではないかと考えられているが、その詳細は依然不明である。

### 2. 研究の目的

女性の正常な月経周期の発来及び生殖機能は視床下部-下垂体-性腺軸(Hypothalamic Pituitary Gonadal axis : HPG axis)による制御を受けている。視床下部の Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)が、下垂体からの性腺刺激ホルモン Luteinizing hormone (LH)と Follicle-stimulating hormone (FSH)の放出を制御することで卵巣における卵胞発育、性ステロイド合成を促すが、2003 年には GnRH ニューロンを支配するキスペプチンニューロンの存在が明らかになり、HPGaxis の解明が進んでいる。HPG axis の主役となるキスペプチン、GnRH は末梢組織にも存在する。中枢以外に存在する生殖関連ペプチドの役割について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

プロラクチン産生 GH3 細胞を用いて、キスペプチンがプロラクチン産生に与える影響について調べた。キスペプチン受容体蛋白発現をウェスタンブロット法で、Kiss1 受容体の遺伝子発現については定量 PCR で測定した。プロラクチンのプロモーター活性を Dual-luciferase reporter gene assay で測定した。

下垂体ゴナドトロピン産生 LbetaT2 細胞を用いて、AMH がゴナドトロピン産生に与える影響について調べた。AMH 刺激によるゴナドトロピンサブユニット発現を定量 PCR で測定した。LbetaT2 細胞に発現するキスペプチン遺伝子(Kiss-1)及びキスペプチン受容体(Kiss1R)と AMH との関係及びゴナドトロピン産生への関与について併せて検討した。

### 4. 研究成果

プロラクチン産生 GH3 細胞に存在するキスペプチン受容体(Kiss1R)はキスペプチンに反応せず、Kiss1R を細胞に過剰発現させた場合あるいは E2 (エストラジオール)存在下で培養した場合にキスペプチンはプロラクチンの転写活性を増加させた。キスペプチンはプロラクチン産生因子の一つである。GH3 細胞は E2 により Kiss1R 発現が増加し、E2 レベルが制御に関与すると思われた。下垂体ゴナドトロピン産生 LbetaT2 細胞内の Kiss-1 および Kiss1R 発現は抗ミューラー管ホルモン (AMH) により減少した。AMH はキスペプチン刺激によるゴナドトロピン発現を抑

制的に制御している可能性がある。胎盤組織、胎盤細胞におけるキスペプチン及び GnRH の検討は計画途中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 88.Oride A, Kanasaki H, Tumurbaatar T, Tumurgan Z, Okada H, Hara T, Kyo S	4. 巻 27
2. 論文標題 Effects of the Fertility Drugs Clomiphene Citrate and Letrozole on Kiss-1 Expression in Hypothalamic Kiss-1-Expressing Cell Models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reprod Sci	6. 最初と最後の頁 806-814
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s43032-020-00154-1	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 Biol Reprod	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 Kanasaki H, Tumurbaatar T, Oride A, Tumurgan Z, Okada H, Hara T, Tsutsui K, Kyo S.	4. 巻 270
2. 論文標題 Effect of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) in the Regulation of Hypothalamic Kisspeptin Expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gen Comp Endocrinol	6. 最初と最後の頁 60-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1933719118813456.	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 Hara Tomomi, Kanasaki Haruhiko, Tumurbaatar Tuvshintugs, Oride Aki, Okada Hiroe, Kyo Satoru	4. 巻 63
2. 論文標題 Role of kisspeptin and Kiss1R in the regulation of prolactin gene expression in rat somatolactotroph GH3 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrine	6. 最初と最後の頁 101 ~ 111
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12020-018-1759-1	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tumurbaatar Tuvshintugs、金崎春彦、Tumurgan Zolzaya、折出亜希、原 友美、岡田裕枝、京 哲
2. 発表標題 抗ミューラー管ホルモンの下垂体ゴナドトロピン産生細胞に対する作用について
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tumurgan Zolzaya、金崎春彦、Tumurbaatar Tuvshintugs、折出亜希、原 友美、岡田裕枝、京 哲
2. 発表標題 ラット胎児脳初代培養細胞を用いた脳内アクチビン、インヒビン、フォリスタチン制御に関する検討
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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