

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15194

研究課題名（和文）更年期における生殖中枢の変容とホットフラッシュの神経メカニズム

研究課題名（英文）Changing activities of neurons controlling reproduction in menopausal transition and neural mechanism underlying hot flush

研究代表者

後藤 哲平（Goto, Teppei）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員

研究者番号：20772049

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：更年期の女性において、生殖機能の老化に伴うエストロジェンの急激な減少が自律機能に変調をきたし、更年期障害の原因になると考えられる。本研究は、更年期の生殖中枢キスペプチンニューロンのパルス活動変容とホットフラッシュが更年期に顕在化する仕組みを神経回路レベルで解明することを目指していた。「生殖適齢期から中年の閉経後においてほとんどパルス頻度が変化しない一方で、パルス活動の強度が低下する」ことを発見し、原著論文として公表することができた。また、卵巣老化を模倣した卵巣除去モデルマウスにおいて、尻尾皮膚体温の急激な上昇が数分間維持されるホットフラッシュ症状を示すことを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

閉経より寿命が長い動物自体が珍しく、ホットフラッシュを含む更年期障害の動物モデルの欠如が、ホットフラッシュに限らず更年期障害の神経回路的な発症機序の理解を妨げてきた。本研究によって、モデル動物であるマウスにおいてもホットフラッシュ症状が観察され、ホットフラッシュモデルとしての有用性を示せた。ホットフラッシュを導く神経回路に生殖中枢キスペプチンニューロンのパルス活動が関与する可能性は低く、別のニューロンに着目したアプローチが必要である。

研究成果の概要（英文）：In perimenopausal women, the estrogen decline with ovarian aging likely triggers menopausal symptoms induced by changing the function of autonomic function. The current study aimed to elucidate the dynamics of the pulsatile activity of kisspeptin neurons as the reproductive center during reproductive aging and the neural circuit mechanism inducing hot flashes in perimenopause. During the transition to reproductive senescence, the frequency of kisspeptin pulses remains mostly unchanged, whereas the intensities tend to decline. The results were published as the original article. We also found that ovariectomized mice show hot flash-like symptoms, in which a rapid rise in tail skin temperature is maintained for several minutes.

研究分野：神経内分泌

キーワード：更年期 老化 生殖中枢 イメージング

1. 研究開始当初の背景

視床下部は体温調節や血圧などの自律機能に加えて、生殖機能や摂食行動などの本能機能を担う。生殖機能の老化に伴い、女性は閉経を迎え、その周辺 10 年を更年期と呼ぶ。更年期に差し掛かると女性ホルモンのエストロジェンが急激に減少し、大半の女性は何らかの更年期障害を発症する。更年期障害は自律神経性の症状であるホットフラッシュ(火照り、のぼせ、発汗)、動悸、息切れ、頭痛など、自律神経のアンバランスに随伴する精神症状である不眠、憂うつ、イライラの 2 つに大別できる。このように、更年期において、生殖機能の老化にともなうエストロジェンの急激な減少と自律神経の変調は密接に関連している。

ヒトを含む哺乳類の生殖機能は視床下部のキスペプチンニューロンが生殖中枢となり、性腺刺激ホルモン放出ホルモンやその下流の性腺刺激ホルモン (LH, FSH) によってコントロールされる (Pinalla L *et al.*, *Physiol. Rev.*, 2012)。視床下部弓状核に存在するキスペプチンニューロンの活動は卵巣内の卵胞発育に必要なパルス状 LH 分泌と一対一に対応し (Clarkson J *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2017)、その遺伝子発現は卵巣由来のエストロジェンから負のフィードバック調節を受ける (Goto T *et al.*, *Mol Endocrinol.*, 2015)。ヒトの LH パルス間隔は、生殖適齢期の女性では 120-140 分であるのに対し、閉経し血中エストロジェンが低下した女性では 50-60 分である (Liang S *et al.*, *Nat Commun.*, 2019)。弓状核キスペプチンニューロンの軸索は視床下部内の体温調節中枢、体液恒常性維持中枢、睡眠・覚醒の脳領域やストレス恒常性中枢に投射していることが報告されており (Yeo SH *et al.*, *Endocrinology*, 2011)、自律神経を上位で制御していると推定される。そこで、更年期においてエストロジェンの急激な減少によって負のフィードバック調節が減弱・解除により生殖中枢キスペプチンニューロンの活動が亢進され、この過活動が神経回路の下流に位置する自律機能の破綻をもたらす、という仮説が考えられる (図 1)。

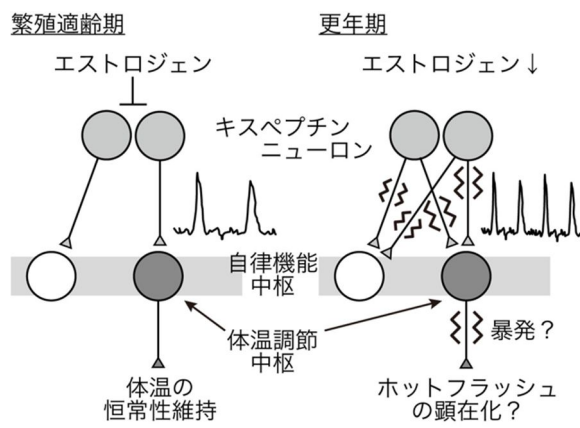


図 1. 本研究の概念図。キスペプチンニューロンは自律機能の上流に位置し、更年期に活動が亢進すると体温調節中枢への回路通してホットフラッシュを顕在化させると考えられる。

2. 研究の目的

更年期のキスペプチンニューロンの活動変容とホットフラッシュが更年期に顕在化する仕組みを神経回路レベルで解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 視床下部弓状核キスペプチンニューロンに組換え酵素 Cre を発現する生殖適齢期マウス (Kiss1-Cre マウス) に対して、AAV ベクターを導入してキスペプチンニューロン特異的に Ca²⁺インディケーターGCaMP 発現させ、GCaMP 蛍光検出用光ファイバーを留置した。そのマウスから自由行動下でキスペプチンニューロンの Ca²⁺イメージングを明暗期それぞれ 6 時間、インターバル 6 時間で 7 日間行い、キスペプチンパルスの頻度、強度を定量した。この時、膣垢像の細胞診断により性周期ステージの判別を同時に行った。

(2)(1)と同様に、生殖適齢期のマウスから自由行動下でキスペプチンニューロンの Ca²⁺イメージングを明暗期それぞれ 6 時間、インターバル 6 時間で 7 日間行い、イメージングの前後 25 日間あたりの性周期回帰数を算出した。この一連の実験を 6, 9, 12, 15, 18 ヶ月 (±1) 齢時に行い、キスペプチンパルスの頻度、強度の経時的变化を調査した。

(3) 閉経より寿命が長い動物自体が珍しく、ホットフラッシュを含む更年期障害の動物モデルの欠如が、ホットフラッシュに限らず更年期障害の神経回路的な発症機序の理解を妨げてきた。このような中、外科的な卵巣摘出がホットフラッシュを引き起こすという医学的知見 (Tylor M *et al.*, *J Reprod Med.*, 2001) に基づき、卵巣除去マウスのホットフラッシュモデルとしての有用性を検討する目的で尻尾皮膚温度を計測した。

(4) 視床下部弓状核キスペプチンニューロンのホットフラッシュにおける必要性を検討するため、薬理遺伝学や光遺伝学を用いたキスペプチンニューロンの人為的操作が尻尾皮膚温度に与える影響を調査した。

4. 研究成果

(1) 生殖適齢期マウスの回帰する性周期の各ステージにおいて、キスペプチンニューロンのパルス活動頻度がダイナミックに変動することがわかった。また、独自に開発したパルスフォーム

解析によって、回帰する性周期の各ステージに応じてパルスフォームが変化することを明らかにした。パルス頻度は、発情前期の暗期に最小となり、発情休止期の暗期が最大であった。一回のパルス活動における強度については、発情期や発情間期が発情前期に比べて1.5倍であった。(2)9ヶ月齢以上の中年マウスは25日間あたりの性周期回帰数に基づき、周期的(3回)、不規則(1-2回)、閉経後(0回)に分類した。生殖適齢期から中年の閉経後まで記録すると、7日間のパルス頻度は変わらないが、パルス活動強度が閉経後時点で低下していた(図2)。

(1)(2)の結果を原著論文として報告した。

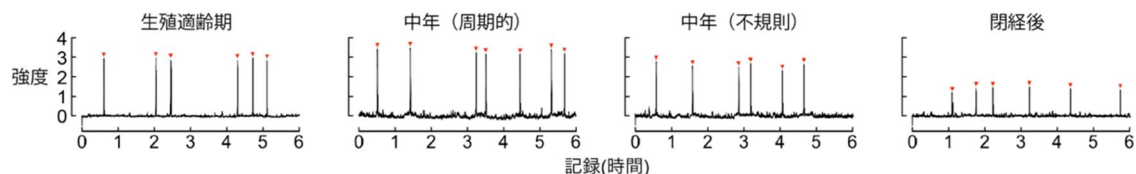


図2. 1年間にわたるフォトメトリー記録の代表例。個々のマウスにおいて生殖適齢期から閉経に至るまでのキスペプチン神経細胞のパルス状活動を1年かけて追跡した。ここでは特定の一匹の代表例を示す。6時間当たりのパルス状活動の数は生殖適齢期から閉経期まで変化しなかったが、活動強度(ピークの高さ)は不規則~閉経にかけて低下した。

(3) 卵巣除去後、尻尾皮膚体温の急激な上昇が数分間維持されるホットフラッシュ症状をマウスが示すことを発見した。

(4) 視床下部弓状核キスペプチンニューロンの薬理遺伝学による人為的活性化は、20分程度持続した尻尾皮膚温度の上昇を誘発した。一方、光遺伝学を用いたキスペプチンニューロンのパルス活動様の人為的操作は尻尾皮膚温度に影響を与えなかった。弓状核キスペプチンニューロンの実験的細胞脱落を行っても、コントロールと比較してホットフラッシュの発生頻度に影響はなかった。

(3)(4)から卵巣除去がホットフラッシュモデルとして機能することが示唆できたが、ホットフラッシュの顕在化における生殖中枢キスペプチンニューロンの必要性を支持する強い証拠は得られなかった。

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 2件）

1. 著者名 Nakamura Sho, Watanabe Youki, Goto Teppei, Ikegami Kana, Inoue Naoko, Uenoyama Yoshihisa, Tsukamura Hiroko	4. 巻 64
2. 論文標題 Kisspeptin neurons as a key player bridging the endocrine system and sexual behavior in mammals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 100952 ~ 100952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yfrne.2021.100952	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 Ikegami Kana, Watanabe Youki, Nakamura Sho, Goto Teppei, Inoue Naoko, Uenoyama Yoshihisa, Tsukamura Hiroko	4. 巻 64
2. 論文標題 Cellular and molecular mechanisms regulating the KNDy neuronal activities to generate and modulate GnRH pulse in mammals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 100968 ~ 100968
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yfrne.2021.100968	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 Goto Teppei, Hagihara Mitsue, Miyamichi Kazunari	4. 巻 12
2. 論文標題 Dynamics of pulsatile activities of arcuate kisspeptin neurons in aging female mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e82533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/elife.82533	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 YAMADA Koki, NAGAE Mayuko, MANO Tetsuya, TSUCHIDA Hitomi, HAZIM Safiullah, GOTO Teppei, SANBO Makoto, HIRABAYASHI Masumi, INOUE Naoko, UENOYAMA Yoshihisa, TSUKAMURA Hiroko	4. 巻 69
2. 論文標題 Sex difference in developmental changes in visualized <i>Kiss1</i> neurons in newly generated <i>Kiss1-Cre</i> rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 227 ~ 238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2023-019	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤 哲平
2. 発表標題 給餌状態と性成熟をつなぐ視床下部神経回路
3. 学会等名 日本獣医学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤 哲平、宮道 和成
2. 発表標題 閉経過程における キスペプチンニューロンのパルス活動動態
3. 学会等名 第116回日本繁殖生物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Teppei Goto, Kazunari Miyamichi
2. 発表標題 A Neural Basis of Malnutrition-mediated Pubertal Failure in Female Mice
3. 学会等名 MBSJ2023
4. 発表年 2023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
---------	---------