

科学研究費助成事業(基盤研究(S))公表用資料 [研究進捗評価用]

平成22年度採択分
平成25年4月5日現在

生殖制御における新規脳内分子機構の解明

Demonstration of Novel Brain Molecular Mechanisms Regulating Reproduction

筒井 和義 (TSUTSUI KAZUYOSHI)

早稲田大学・教育総合科学学術院・教授



研究の概要

生殖は子孫を残すため最も重要な生命活動の一つである。動物の生殖を制御する脳内分子機構の新しい理解には、まず重要な新規脳ホルモンを同定し、その生理作用、作用機構、発現制御機構を解明する必要がある。我々は生殖を制御する新規脳ホルモンである生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン(GnIH)を脊椎動物から発見した。本研究では、新規脳ホルモンである GnIH に着目して「生殖制御における新規脳内分子機構」を解明する。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：視床下部ホルモン、脳下垂体ホルモン、発現制御、シグナル伝達、生殖

1. 研究開始当初の背景

生殖制御の脳機構は古典的脳ホルモンである生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の働きにより説明がなされてきたが、我々が発見した新規脳ホルモンである生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン(GnIH)により、それまでの定説が覆された。GnIH の発見は関連分野に多くのインパクトを与え、神経内分泌学に新しい研究領域が萌芽した。今後は、GnIH に着目した「生殖制御における新規脳内分子機構」を明らかにする必要がある。GnIH はヒトを含めた全ての脊椎動物に存在することから、ヒト生殖機能異常の分子基盤を得ることが可能になった。GnIH は無脊椎動物にも存在する可能性があり、生物学的観点から動物界における GnIH の起源と分子進化を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

GnIH による「生殖制御における新規脳内分子機構」を解明するために、(1) GnIH 生殖抑制作用の分子機構、(2) GnIH 発現の分子制御機構、(3) 生殖腺における GnIH の局所作用機構、(4) GnIH による生殖行動の発現制御機構、(5) GnIH 作用の生理的意義、(6) GnIH によるヒト生殖機能異常の分子機構、(7) 動物界における GnIH と GnIH 受容体の起源と分子進化などを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) GnIH の標的細胞である生殖腺刺激ホルモン産生細胞(細胞株 L β T2)と GnRH ニューロン(細胞株 GT1-7)における GnIH のシ

グナルカスケードを解析する。(2) 松果体と網膜で作られるメラトニン、生殖制御鍵遺伝子 *DIO2* が合成する活性型甲状腺ホルモン (T_3)、ストレスホルモンであるグルココルチコイドによる GnIH 発現の分子制御機構を解析する。(3) 性ステロイド合成と配偶子形成に着目して生殖腺に発現する GnIH の局所作用を解析する。(4) 生殖行動を制御するニューロンを同定して GnIH による生殖行動の発現制御機構を解析する。(5) GnIH 遺伝子をノックダウン、ノックアウトして GnIH 作用の生理的意義を解析する。(6) ヒト生殖機能異常には GnIH と GnIH 受容体が関与することを明らかにするために、ヒト生殖異常症の DNA 検体を集積して GnIH 遺伝子と GnIH 受容体遺伝子の変異解析を行う。(7) 原索動物や無脊椎動物から GnIH と GnIH 受容体を同定して、遺伝子のシンテニー解析を行う。

4. これまでの成果

(1) GnIH は生殖腺刺激ホルモン産生細胞において cAMP 合成を低下させ、ERK のリン酸化を阻害して生殖腺刺激ホルモンの合成を抑制するという新しい分子制御機構を発見した。(2) メラトニンとグルココルチコイドが GnIH の発現を高め、 T_3 が GnIH の発現を低下させるなど GnIH の発現制御機構に関する重要な新知見を得た。(3) GnIH は卵巣顆粒膜細胞において cAMP を低下させてプロゲステロン合成を減少させるという GnIH の新しい生殖抑制作用機構を発見した。(4) GnIH はエストロゲン合成を変動させて生殖

行動を制御するという新しい脳内分子制御機構を発見した。(5) GnIH 遺伝子のノックダウンにより、GnIH の生殖抑制作用を証明した。さらに、GnIH は動物の覚醒を抑えるという新しい生理作用を発見した。(6) 生殖機能異常症患者の DNA 検体を集積し、次世代シーケンサーにより GnIH 遺伝子と GnIH 受容体遺伝子の変異解析を進めた。(7) GnIH は全ての脊椎動物に加えて原索動物にも存在することを明らかにし、動物界における GnIH の起源と分子進化という生物学的に重要な知見を得た。本研究より、古典的な理解とは遙かにかけ離れた「生殖制御における新規脳内分子機構」の理解が進展した。

5. 今後の計画

(1) 生殖機能を促進する kisspeptin のニューロンにも GnIH 受容体が発現していることを明らかにしたので、GnRH ニューロン (細胞株 GT1-7) に加えて kisspeptin ニューロン (細胞株 rHypoE22) における GnIH シグナルカスケードを解析する。(2) GnIH ニューロンにおけるメラトニン、グルココルチコイド、 T_3 のシグナルカスケードを解析する。時計遺伝子 *Cry* が GnIH 発現を制御することを *Cry* ノックアウトマウスで解析する。(3) 生殖細胞における GnIH の局所作用を細胞分化誘導因子や細胞増殖因子に着目して解析する。(4) GnIH がエストロゲン合成を変動させて生殖行動の発現を制御することを明らかにしたので、GnIH によるエストロゲン合成酵素の発現制御機構を解析する。(5) GnIH 遺伝子のノックアウトマウスを作製したので、このマウスを用い、GnIH 作用の生理的意義と GnIH の覚醒制御などの新しい生理作用を解析する。(6) 生殖機能異常症患者の DNA 検体数が揃ったので、次世代シーケンサーを用い本格的に GnIH 遺伝子と GnIH 受容体遺伝子の変異解析を行い、ヒト生殖機能異常症の新しい分子基盤を得る。(7) GnIH を原索動物から同定したので、棘皮動物や軟体動物から GnIH を同定する。一方、原索動物と棘皮動物から GnIH 受容体を同定したので、軟体動物などの無脊椎動物から GnIH 受容体を同定する。同定した GnIH と GnIH 受容体の遺伝子のシンテニー解析を行い、GnIH と GnIH 受容体の起源と分子進化を明らかにする。本研究により、GnIH による「生殖制御における新規脳内分子機構」の解明が期待される。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) [発表論文]

F. Maekawa (筆頭), K. Tsutsui (7 番目) et al. (著者 19 名) A genetically female brain is required for a regular reproductive cycle in chicken brain chimeras. *Nat. Commun.*, 4, Article number 1372, 2013

T. Osugi (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 8 名) Evolutionary origin of the structure and function of gonadotropin-inhibitory

hormone: Insights from lampreys.

Endocrinology, 153, 2362-2374, 2012

Y. L. Son (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 5 名) Gonadotropin-inhibitory hormone inhibits GnRH-induced gonadotropin subunit gene transcriptions by inhibiting AC/cAMP/PKA-dependent ERK pathway in LβT2 cells. *Endocrinology*, 153, 2332-2343, 2012

T. Ubuka (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 7 名) Identification, expression, and physiological functions of Siberian hamster gonadotropin-inhibitory hormone.

Endocrinology, 153, 373-385, 2012

S. Haraguchi (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 5 名) Possible role of pineal allopregnanolone in Purkinje cell survival. *PNAS*, 109, 21110-21115, 2012

H. Oishi (筆頭), T. Osugi (4 番目), K. Tsutsui (5 番目) et al. (著者 8 名) The human gonadotropin-inhibitory hormone ortholog RFamide-related peptide-3 suppresses gonadotropin-induced progesterone production in human granulosa cells.

Endocrinology, 153, 3435-3445, 2012

T. Osugi (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 4 名) Characterization of novel RFamide peptides in the central nervous system of the brown hagfish: isolation, localization, and functional analysis. *Endocrinology*, 152, 4252-4264, 2011

M. Hatori (筆頭), K. Tsutsui (10 番目) et al. (著者 11 名) Light-dependent and circadian clock-regulated activation of sterol regulatory element-binding protein, X-box-binding protein 1, and heat shock factor pathways. *PNAS*, 108, 4864-4869, 2011

V. S. Chowdhury (筆頭), K. Tsutsui (最終) et al. (著者 6 名) Melatonin stimulates the release of gonadotropin-inhibitory hormone by the avian hypothalamus. *Endocrinology*, 151, 271-280, 2010

M. Doi (筆頭), K. Tsutsui (13 番目) et al. (著者 15 名) Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient *Cry*-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nat. Med.*, 16, 67-74, 2010

K. Tsutsui (筆頭), T. Osugi (4 番目) et al. (著者 6 名) Review: Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) and its control of central and peripheral reproductive function.

Front. Neuroendocrinol., 31, 284-295, 2010
他 156 編

[受賞] Bargmann-Scharrer Award, *International Congress of Comparative Endocrinology*, 2013 他 1 件

ホームページ等

<http://www.f.waseda.jp/k-tsutsui/index.html>