

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26861327

研究課題名(和文)生殖制御ホルモンの中枢性制御機構の解明

研究課題名(英文)Central control mechanism of reproductive regulatory hormones

研究代表者

折出 亜希(Oride, Aki)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：00423278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：下垂体前葉から産生されるゴナドトロピン(Luteinizing hormone (LH)とFollicle-stimulating hormone (FSH))は、主として視床下部から分泌されるゴナドトロピン放出促進因子(GnRH)により制御されている。近年、キスペプチンによるGnRH分泌促進作用が明らかになり、それらに關与するその他の様々な生理活性物質の存在も報告されている。GnRH産生ニューロンのモデル細胞としてGT1-7細胞を用い、キスペプチンあるいは、視床下部に存在しGnRH分泌に關与していると考えられているその他の因子のGnRH産生への直接作用について検討を行った。

研究成果の概要(英文)：GnRH neurons certainly play a pivotal role in the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis. gonadotropins(luteinizing hormone (LH) , follicle-stimulating hormone (FSH)) are primarily controlled by GnRH, which is released from the hypothalamus. Recently, it is now recognized that kisspeptin acts upstream of GnRH and can stimulate gonadotropin release from the pituitary gland by stimulating GnRH release. Nevertheless, the detailed mechanisms underlying the regulation of homogeneous populations of GnRH neurons are still largely unknown. In this study, we describe in vitro studies using a GnRH-producing cell model, GT1-7 cells, which have been used to examine how GnRH-producing cells respond to hypothalamic factors and how they are involved in GnRH synthesis.

GnRH and kisspeptin are expressed not only in hypothalamic neurons but also in a number of peripheral organs. In this study, we examined how these peptides are regulated within the placenta.

研究分野：生殖内分泌

キーワード：GnRH 視床下部 キスペプチン

1. 研究開始当初の背景

視床下部-下垂体-卵巣系は女性生殖内分泌の枢軸である。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、下垂体前葉からゴナドトロピン (Luteinizing hormone (LH)、Follicle-stimulating hormone (FSH)) が分泌され、ゴナドトロピンによって卵巣から性ステロイドホルモンが分泌する。この視床下部-下垂体-卵巣間のネットワークが正常に働くことが、女性における卵巣発育及び排卵にとって不可欠である。

LH、FSH は視床下部から分泌される GnRH によって制御されていることは明らかであるが、GnRH 分泌がどのように制御されているのかについては不明な点が多い。視床下部には様々な生理活性物質が存在するが、ゴナドトロピンの分泌に関わる物質の候補としては Pituitary Adenylate Cyclase-activation Polypeptide (PACAP)、キスペプチン、ゴナドトロピン放出抑制ホルモン (GnIH)、GABA などがある。これらの物質は単独あるいは互いに協調しながら GnRH 分泌を制御すると思われるが、これらの物質と GnRH 分泌及びゴナドトロピン発現における作用の詳細に関しては不明な点が多い。

2. 研究の目的

GnRH 産生ニューロン株である GT1-7 細胞を用い、GnRH 産生制御について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

GT1-7 細胞を、視床下部において GnRH ニューロンが影響を受けると考えられている神経伝達物質で刺激を行い、GT1-7 細胞の細胞内情報伝達系や GnRH 産生への作用について検討を行った。

4. 研究成果

キスペプチン受容体 (Kiss1R) に変異のある患者では低ゴナドトロピン性性腺機能低下症になること、またモデル動物を用いた研究から、キスペプチンは Kiss1R に作用し、GnRH ニューロンから GnRH を分泌させ、ゴナドトロピンの産生分泌を制御していることはほぼ間違いないと考えられている。GnRH 産生ニューロンのモデル細胞株である GT1-7 細胞にも Kiss1R が発現している。そこで GnRH 産生ニューロンのモデル細胞株である GT1-7 細胞をキスペプチンで刺激すると、SRE 及び

CRE 活性が上昇したことより、キスペプチンは GT1-7 細胞の細胞内情報伝達系を活性化させることがわかった。PACAP 及び PACAP の受容体である PAC1 受容体は特に視床下部に多く存在し、GnRH ニューロンの存在部位とオーバーラップする部位に存在することから、PACAP が GnRH 分泌に関与していることが示唆される。そこで PACAP で GT1-7 細胞を刺激すると、キスペプチンと同様に GT1-7 細胞の細胞内情報伝達系を活性化させた。しかしキスペプチン、PACAP とともに GnRH mRNA 発現は増加させなかった。GABA_A 受容体アゴニストは GT1-7 細胞の細胞内情報伝達系及び GnRH 発現に変化をもたらさなかった。一方 GABA_A サブユニット特異的作動薬である DS1 は SRE 及び CRE 活性を共に増加させ、GnRH mRNA 発現を著明に抑制した。

GnRH 制御因子とされるキスペプチンは GnRH 分泌を促進すると思われるが、GT1-7 細胞においてキスペプチンによる GnRH 発現は認められなかった。一方、抑制性の神経伝達物質とされる GABA は GABA_A 受容体のサブユニットを介して GnRH 発現を抑制的に支配している可能性が考えられた。

キスペプチンは中枢のみならず末梢組織にも広く発現していることが知られている。そこでキスペプチンの末梢組織への作用についても検討を行った。妊娠 18 週ラット胎盤初代培養細胞をエストラジオール E と共に培養すると GnRH、キスペプチンの発現はコントロールに比べて有意に増加した。胎盤細胞における GnRH 発現はキスペプチン刺激により増加しなかったが、GnRH 刺激で有意に増加した。一方、胎盤細胞におけるキスペプチン発現は GnRH 刺激で増加したが、キスペプチンはキスペプチン発現を増加させなかった。E2、キスペプチン、GnRH 刺激で胎盤細胞における hCG mRNA 発現が有意に増加した。胎盤においてキスペプチン、GnRH は E2 の影響下にあり、相互に作用し mhCG 産生など胎盤機能の維持に関与していると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 20 件)

1. Oride A, Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Hara T, Tumurbaatar T, Kyo S: GLP-1 Increases Kiss-1 mRNA expression in kisspeptin-expressing neuronal cells. *Biology of Reproduction*, 97; 240-248, 2017

2. Kanasaki H, Mijiddorj T, Oride A, Sukhbaatar U, Hara T, Kyo S: Pulsatile kisspeptin effectively stimulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-producing neurons. *Gynecological Endocrinology*, 33; 721-727, 2017
 3. Kanasaki H, Tumurbaatar T, Oride A, Hara T, Kyo S: The GABA_A Receptor Agonist Muscimol increases kiss-1 gene expression in hypothalamic cell models. *Reproductive Medicine and Biology*, 16; 286-391, 2017
 4. Kanasaki H, Oride A, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Kyo S. How is GnRH regulated in GnRH-producing neurons? Studies using GT1-7 cells as a GnRH-producing cell model. *General and Comparative Endocrinology* 247; 138-142, 2017
 5. Mijiddorj T, Kanasaki H, Oride A, Hara T, Sukhbaatar U, Tumurbaatar T, Kyo S. Interaction between kisspeptin and adenylate cyclase-activating polypeptide 1 on the expression of pituitary gonadotropin subunits: a study using mouse pituitary LβT2 cells. *Biology of Reproduction* 96;1043-1051, 2017
 6. Mijiddorj T, Kanasaki H, Oride A, Sukhbaatar U, Hara T, Kyo S. Mutual regulation by GnRH and kisspeptin of their receptor expression and its impact on the gene expression of gonadotropin subunits. *General and Comparative Endocrinology* 246; 382-389, 2017
 7. Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Oride A, Hara T, Kyo S. Pulsatile kisspeptin effectively stimulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-producing neurons. *Gynecological Endocrinology* 33; 721-727, 2017
 8. Sukhbaatar U, Kanasaki H, Mijiddorj T, Oride A, Hara T, Yamada T, Kyo S. Expression of GnRH and kisspeptin in primary cultures of fetal rat brain. *Reproductive Science* 24;227-233, 2017
 10. Mijiddorj T, Kanasaki H, Sukhbaatar U, Oride A, Ishihara T, Kyo S. Retinoic acid and retinaldehyde dehydrogenase are not involved in the specific induction of the follicle-stimulating hormone β subunit by trichostatin A, a selective inhibitor of histone deacetylase. *General and Comparative Endocrinology* 242; 59-65, 2017
 11. Kanasaki H, Oride A, Hara T, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Kyo S. Interactions between two different G protein-coupled receptors in reproductive hormone-producing cells: The role of PACAP and its receptor PAC1R. *International journal of molecular sciences* 26;17(10), 2016
 12. Oride A, Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Yamada T, Kyo S. Expression and regulation of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in rat placental cells. *Reproductive Sciences* 23; 1080-1086, 2016
 13. Kanasaki H, Oride A, Mijiddorj T, Kyo S. Role of thyrotropin-releasing hormone in prolactin-producing cell models. *Neuropeptides* 54;73-77, 2016
 14. Oride A, Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Ishihara T, Kyo S. Regulation of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone expression in rat placenta: study using primary cultures of rat placental cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* 13;13:90, 2015
 15. Kanasaki H, Oride A, Kyo S. Role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in modulating hypothalamus-pituitary neuroendocrine functions in mouse cell models. *Journal of Neuroendocrinology* 27;1-7, 2015
 16. Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Oride A, Ishihara T, Yamagami I, Kyo S. Trichostatin A reduces GnRH mRNA expression with a concomitant increase in retinaldehyde dehydrogenase in GnRH-producing neurons. *Molecular and cellular Endocrinology* 15;413:113-119, 2015
 17. Mijiddorj T, Kanasaki H, Sukhbaatar U, Oride A, Kyo S. DS1, a delta subunit-containing GABA(A) receptor agonist, increases gonadotropin subunit gene expression in mouse pituitary gonadotrophs. *Biology of Reproduction* 92;45, 2015
 18. Sukhbaatar U, Mijiddorj T, Oride A, Kanasaki H. Stimulation of δ subunit-containing GABAA receptor by DS1 increases GnRH receptor expression but reduces GnRH mRNA expression in GnRH-producing GT1-7 cells. *Endocrine* 49:222-230, 2015
 19. Oride A, Kanasaki H, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Miyazaki K. TrichostatinA specifically stimulates gonadotropin FSHβ gene expression in gonadotroph LβT2 cells. *Endocrine Journal* 61;335-342, 2014
 20. Sukhbaatar U, Kanasaki H, Mijiddorj T, Oride A, Miyazaki K. Expression of gonadotropin-inhibitory hormone receptors in mouse pituitary gonadotroph LβT2 cells and hypothalamic gonadotropin-releasing hormone-producing GT1-7 cells. *Endocrine Journal* 61;25-34,2014
- [学会発表](計 2件)
1. Oride A, Kanasaki H, Tumurbaatar T, Hara T, Okada H, Kyo S. Possible Role of Neurotensin and CRH in the Feedback Regulation by Estradiol: A Study Using Hypothalamic ARC and AVPV Cell Models. The Endocrine society's annual meeting, 2018, Cicago
 2. Oride A, Kanasaki H, Hara T, Kyo S. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) increases kisspeptin mRNA expression in hypothalamic neurons. The Endocrine society's annual meeting, 2017, Orlando
- [図書](計 件)
- [産業財産権]

出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

折出 亜希 (Oride, Aki)
島根大学・医学部・講師
研究者番号：00423278

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()