

ラット性腺刺激ホルモン分泌の中樞性調節機構

船橋 利也, 貴邑富久子

横浜市立大学大学院医学研究科神経内分泌学部門

はじめに

生殖生理機能を調節する性腺刺激ホルモン, すなわち黄体形成ホルモン (Luteinizing Hormone: LH) および卵胞刺激ホルモン (Follicle Stimulating Hormone: FSH) の分泌は, 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (Gonadotropin-Releasing Hormone: GnRH) ニューロンから分泌されるGnRHにより支配されている。GnRHニューロンの細胞体は視床下部に存在し, 軸索を正中隆起部の下垂体門脈毛細血管に送る。下垂体門脈中に分泌されたGnRHは下垂体前葉へ運ばれ, 性腺刺激ホルモン産生細胞に作用し, LHおよびFSHの分泌を促す。これら性腺刺激ホルモンは血流により末梢の性腺へ運ばれ, 精巣もしくは卵巣に作用し, それぞれ, アンドロジェンもしくはエストロジェンおよびプロゲステロンの分泌を促す。これらの性腺ステロイドホルモンは視床下部および下垂体前葉にフィードバック作用を及ぼして, 自身の分泌や, 排卵を調節する。このように視床下部-下垂体前葉-性腺系のそれぞれから分泌されるホルモンが, 相互作用を示すことにより, 生殖生理機能は調節されている (図1)。

GnRHパルスジェネレーターとGnRHサージジェネレーターによる性周期の調節

雌性動物のLH分泌は, 周期的な性周期を繰り返している場合, 下垂体前葉から2つの様式をもって行われる。1つは基礎分泌 (パルス状分泌), もう1つは排卵性分泌 (サージ状分泌) で, それぞれきわめて異なった分泌様式を示す (図1)。前述したように性腺刺激ホルモン分泌を支配するのは視床下部からのGnRH分泌であり, したがって, パルス状LH分泌はパルス状GnRH分泌により, サージ状LH分泌はサージ状GnRH分泌により,

それぞれ引き起こされる。視床下部からのGnRHのパルス状分泌およびサージ状分泌に関する神経機構は, それぞれGnRHパルスジェネレーターおよびGnRHサージジェネレーターと定義される。これまでのわれわれの研究から, 少なくともラットにおいては, GnRHパルスジェネレーターとGnRHサージジェネレーターは, それぞれ独立した神経回路であり, 各ジェネレーターを構成するGnRHニューロンやその分布も互いに異なると推察される [1]。

正常な性周期を回帰している雌性動物の場合, 卵胞期には, 視床下部のGnRHパルスジェネレーターの活動によりLHがパルス状に分泌される。これにより卵胞が発育し, 顆粒細胞から分泌されるエストロジェンは, 卵胞の発育を促すと同時に, 子宮内膜を増殖期へと導き, さらに視床下部および下垂体前葉へネガティブフィードバック作用を及ぼし, LH分泌を低レベルに, つまりパルス状LH分泌の頻度を一定レベルに抑える。やがて卵胞が十分に発育し, 分泌されるエストロジェンの視床下部-下垂体前葉への作用が時間的量的にある閾値を超えると, エストロジェンはGnRHサージジェネレーターの活動亢進を引き起こして, GnRHがサージ状に分泌され, 引き続いてサージ状LH分泌が起こり排卵が惹起される。LH分泌に対するこのようなエストロジェン作用はポジティブフィードバック作用と呼ばれる。排卵後, 顆粒細胞は黄体を形成し, 卵巣は黄体期へと移行する。この時期も再びGnRHパルスジェネレーターの活動によりパルス状のLH分泌が起こり, 黄体が維持されるが, 卵胞期と比較するとパルス間隔は長く, 振幅も大きい。黄体から分泌されるプロゲステロンおよびエストロジェンが, ネガティブフィードバック作用を及ぼすためとされている。両ホルモンは子宮内膜を妊娠準備状態である分泌期へと導く。

GnRHパルスジェネレーターの神経回路

GnRHニューロンはエストロジェン受容体をもたないので, エストロジェンがGnRHニューロンに直接作用することはない, とこれまで考えられてきた。すなわち,

連絡先: 船橋利也, 横浜市立大学大学院医学研究科神経内分泌学部門, 〒236-0004 横浜市金沢区福浦3-9
TEL: 045-787-2579
FAX: 045-787-2578
E-mail: toshiya@med.yokohama-cu.ac.jp

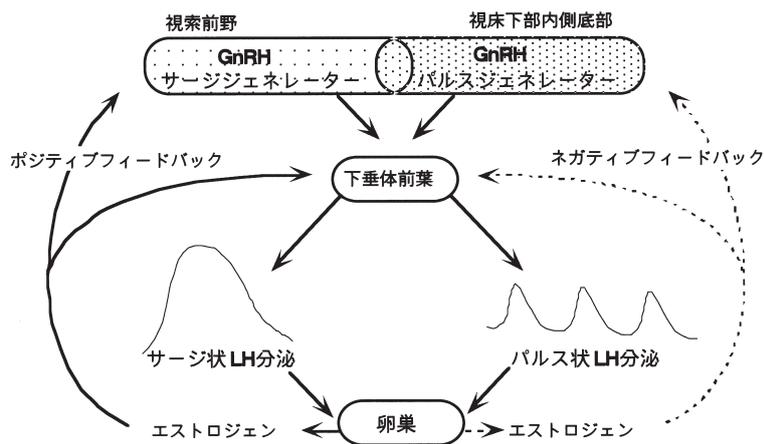


図1 視床下部-下垂体前葉-卵巣系の模式図

視索前野領域のGnRHサージジェネレーターは、エストロジェンのポジティブフィードバック作用を受けてサージ状にGnRHを分泌し、その結果、サージ状のLH分泌が惹起される。視床下部内側底部領域のGnRHパルスジェネレーターは、エストロジェンのネガティブフィードバック作用を受けてパルス状にGnRHを分泌し、それにより、パルス状のLH分泌が駆動される。

放射性物質で標識したエストロジェンの脳内取り込みを詳細に観察した結果、GnRHニューロンにはエストロジェンの取り込みが全く認められなかったのである [2]。しかし、近年、GnRHニューロンに少なくともエストロゲン受容体βが発現していることが明らかにされた [3]。しかし、その生理的な役割は不明であり、現時点では、エストロゲンが間接的に、すなわち、他のニューロンを介してGnRHニューロンの活動に影響を及ぼすと考えた方が、エストロジェンのネガティブフィードバック作用やポジティブフィードバック作用の機序をうまく説明できると思われる。

GnRHパルスジェネレーターに関する研究は、GnRHパルスジェネレーターの電気活動記録法の確立により格段に進歩した。この電気活動とは、パルス状LH分泌に先だって視床下部内側底部の弓状核—正中隆起部から記録される、多ニューロン発射活動 (multi-unit activity; MUA) の高まり (MUAバースト、あるいはボレー) である [4-6]。卵巣摘除ラットにエストロジェンを投与すると、MUAのバースト間隔およびLHのパルス間隔は延長し、LHのパルス振幅は減弱する [7]。したがって、エストロジェンのネガティブフィードバック作用の本体は、視床下部のGnRHパルスジェネレーターに対するMUAバースト間隔の延長であり、同時に下垂体前葉に対しては、GnRHに対する反応性の低下を引き起こす。おそらくは、エストロゲンはオピオイドニューロンを介してGnRHパルスジェネレーターの活動を抑制すると推察される。その理由は、オピオイド受容体拮抗剤のナロキソンを投与すると、エストロジェンのネガティブ

フィードバック作用により抑制されたGnRHパルスジェネレーターの電気活動が速やかに回復するという知見による [7]。

ラットのGnRHパルスジェネレーターは、視床下部内側底部領域に存在すると考えられる [1,8]。実際われわれは、パルスジェネレーターを担当するGnRHニューロンの細胞体は、視床下部内側底部領域の中でも脳底に近い視床下部外側野に散在性に存在することを明らかにしている [9]。

それでは、GnRHニューロンのみでパルス状GnRH分泌は起こるのであろうか。GnRHニューロンが鼻板より発生、分化する [10] ことを利用して、脳内へ移動して他のニューロンと神経回路を形成する前に、鼻板を培養してGnRHがパルス状に分泌されるか否か検討した。その結果、サルを用いたTerasawaらの報告 [11] と同様に、ラットにおいても、GnRHはパルス状に分泌され、そのパルス間隔は、in vivoのものと同じ [12]。この結果は、GnRHニューロンのみでもパルス状分泌が駆動されることを推測させる。また、GnRHニューロンの不死化細胞株であるGT1-7細胞も、パルス状にGnRHを分泌することが知られている [13]。興味深いことに、GT1-7細胞の電気活動は同期しており、間欠的なバースト状である [14]。しかし、GT1-7細胞のパルス状GnRH分泌のパルス間隔が約30分であるのに対して、電気活動のバースト間隔は約10秒ときわめて短く、このバースト活動がパルス状GnRH分泌といかなる関係にあるのかは、全く不明である。しかし、GT1-7細胞がギャップ結合を介して同期した活動を行っているということは

[14], 視床下部のGnRHニューロンも同期した活動を行っていることを想像させる。

GnRHサージジェネレーターの神経回路

ラットにおいて、排卵を惹起するためのサージ状LH分泌を引き起こすのはサージ状GnRH分泌である [15]。一時期、サルを用いた研究から、エストロジェンのポジティブフィードバックの作用の本体は下垂体前葉に対するものであり、GnRHパルスジェネレーターの活動のみで性周期は維持されていると主張された [16]。しかし、直接にGnRHを測定したその後の研究から、サルにおいてもラットと同様に、サージ状LH分泌に先行するサージ状GnRH分泌の存在が明らかにされた [17]。さらに、エストロジェンのポジティブフィードバック作用によってサージ状LH分泌が起こっている間、GnRHパルスジェネレーターの電気活動は抑制されていることが示された [18-20]。したがって、サルでもサージ状LH分泌を支配するGnRHサージジェネレーターが存在すると考えた方が自然であろう。

ラットにおいては、サージ状LH分泌のときにサージジェネレーターが存在する視索前野のGnRHニューロンにFosが発現することから [21], GnRHニューロンの活動がサージ状GnRH分泌のために上昇していると推測され、エストロジェンのポジティブフィードバック作用は、GnRHサージジェネレーターの活動上昇を惹起することにあると考えられる。前述したようにGnRHニューロンはエストロジェン受容体をもたないと考えると、エストロジェン作用を受けるニューロンを同定する必要がある。われわれは、それはGABAニューロンであると考えている。GABAニューロンはエストロジェン受容体もち [22], 発情前期のラットの視索前野にGABAを投与するとサージ状LH分泌が抑制され [23], 視索前野内へのGABA放出が、サージ状LH分泌に先行して減少すること [24], 発情前期の日の正午から13時までの間、GABA_A受容体拮抗剤のピククリンを投与すると、サージ状LH分泌が早まり [25], それと一致して視索前野領域のGnRHニューロンにFosが発現すること [26], などの観察はGnRHサージジェネレーター活動にGABAニューロンが深く関わっていることを示している。したがって、①GABAニューロンがGnRHニューロンを抑制すること、②GABAニューロンの抑制作用はエストロジェンにより強まること、③この抑制の解除（脱抑制）が起こること、がサージ状GnRH分泌を引き起こす機序とわれわれは考えている。それでは、いかなる機序によりこの

抑制が解除されるのであろうか。脱抑制の始まる時刻は、ラットでは発情前期の日の午後2時と推測されるので [27], 生物時計である視交叉上核からの情報が脱抑制開始の時刻を知らせている可能性が高い。われわれは、視交叉上核と視索前野を共培養した実験から、arginine-vasopressin (AVP) ニューロンが時刻情報を伝えると考えている [28]。また、エストロジェンが視索前野のAVP受容体1aの発現を惹起することにより [29], GnRHサージジェネレーターがAVPニューロンからの時刻情報を受け取り可能となると推測している。実際、発情前期のラットの脳室内にAVP受容体の拮抗剤を投与すると、サージ状LH分泌が抑制される [30]。さらにごく最近、視索前野のGABAニューロンがAVP受容体1a受容体を発現し、それがエストロジェンにより調節されていることが明らかにされた [31]。

以上の研究成果から、われわれは、少なくともラットにおいては、視索前野のGnRHニューロンおよびGABAニューロン、そして視交叉上核のAVPニューロンが、GnRHサージジェネレーターを構成すると考えている。エストロジェンのポジティブフィードバック作用の本体は、GABAニューロンに対するものであろうと推察している。

引用文献

1. Kimura F, Funabashi T (1998) Two subgroups of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons control gonadotropin secretion in rats. *News Physiol Sci* 13, 225-231.
2. Shivers BD, Harlan RE, Morrell JI, Pfaff DW (1983) Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LHRH-immunoreactive neurones. *Nature* 304, 345-347.
3. Herbison AE, Pape JR (2001) New evidence for estrogen receptors in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Front Neuroendocrinol* 22, 292-308.
4. Kawakami M, Uemura T, Hayashi R (1982) Electrophysiological correlates of pulsatile gonadotropin release in rats. *Neuroendocrinology* 35, 63-67.
5. Wilson RC, Kesner JS, Kaufman J-M, Uemura T, Akema T, Knobil E (1984) Central electrophysiologic correlates of pulsatile luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey. *Neuroendocrinology* 39, 256-260.
6. Kimura F, Nishihara M, Hiruma H, Funabashi T (1991) Naloxone increases the frequency of the electrical activity of luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator in long-term ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 53, 97-102.
7. Kato A, Hiruma H, Kimura F (1994) Acute estradiol modulation of electrical activity of the LHRH pulse generator in the ovariectomized rat: Restoration by naloxone. *Neuroendocrinology* 59, 426-431.
8. Gorski RA (1971) Gonadal hormones and the perinatal de-

- velopment of neuroendocrine function. *Front Neuroendocrinol* 2, 237-290.
9. Funabashi T, Jinnai K, Kimura F (1997) Fos expression by naloxone in LHRH neurons of the mediobasal hypothalamus: Effects of pentobarbital sodium in the proestrous rat. *J Neuroendocrinol* 9, 87-92.
 10. Schwanzel-Fukuda M, Pfaff DW (1989) Origin of luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Nature* 338, 161-165.
 11. Terasawa E, Keen KL, Mogi K, Claude P (1999) Pulsatile release of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in cultured LHRH neurons derived from the embryonic olfactory placode of the rhesus monkey. *Endocrinology* 140, 1432-1441.
 12. Funabashi T, Daikoku S, Shinohara K, Kimura F (2000) Pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion is an inherent function of GnRH neurons, as revealed by the culture of medial olfactory placode obtained from embryonic rats. *Neuroendocrinology* 71, 138-144.
 13. Wetsel WC, Valenca MM, Merchenthaler I, Liposits Z, Lopez FJ, Weiner RL, Mellon PL, Negro-Vilar A (1992) Intrinsic pulsatile secretory activity of immortalized luteinizing hormone-releasing hormone-secreting neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 89, 4149-4153.
 14. Funabashi T, Suyama K, Uemura T, Hirose M, Hirahara F, Kimura F (2001) Immortalized gonadotropin-releasing hormone neurons (GT1-7 cells) exhibit synchronous bursts of action potentials. *Neuroendocrinology* 73, 157-165.
 15. Sarkar DK, Chiappa SA, Fink G, Sherwood NM (1976) Gonadotropin-releasing hormone surge in pro-oestrous rats. *Nature* 264, 461-463.
 16. Knobil E (1980) The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res* 36, 53-88.
 17. Levine JE, Norman RL, Gliessman PM, Oyama TT, Bangsberg DR, Spies HG (1985) In vivo gonadotropin-releasing hormone release and serum luteinizing hormone measurements in ovariectomized, estrogen-treated rhesus macaques. *Endocrinology* 117, 711-721.
 18. Kessner JS, Wilson RC, Kaufman JM, Hotchkiss J, Chen Y, Yamamoto H, Pardo RR, Knobil E (1987) Unexpected responses of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone "pulse generator" to physiological estradiol inputs in the absence of the ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 84, 8745-8749.
 19. Nishihara M, Sano A, Kimura F (1994) Cessation of the electrical activity of gonadotropin-releasing hormone pulse generator during the steroid-induced surge of luteinizing hormone in the rat. *Neuroendocrinology* 59, 513-519.
 20. Kimura F, Jinnai K, Sano A (1995) LHRH pulse generator is stimulated by naloxone in the pentobarbital-blocked proestrous rat. *J Neuroendocrinol* 7, 917-922.
 21. Lee W-S, Smith MS, Hoffman GE (1990) Luteinizing hormone-releasing hormone neurons express Fos protein during the proestrous surge of luteinizing hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 5163-5167.
 22. Flügge G, Oertel WH, Wuttke W (1986) Evidence for estrogen-receptive GABAergic neurons in the preoptic/anterior hypothalamic area of the rat brain. *Neuroendocrinology* 43, 1-5.
 23. Herbison AE, Dyer RG (1991) Effect on luteinizing hormone secretion of GABA receptor modulation in the medial preoptic area at the time of proestrous luteinizing hormone surge. *Neuroendocrinology* 53, 317-320.
 24. Mitsushima D, Tin-Tin-Win-Shwe, Funabashi T, Shinohara K, Kimura F (2002) GABA release in the medial preoptic area of cyclic female rats. *Neuroscience* 113, 109-114.
 25. Kimura F, Jinnai K (1994) Bicuculline infusions advance the timing of luteinizing hormone surge in proestrous rats: Comparisons with naloxone effects. *Horm Behav* 28, 424-430.
 26. Funabashi T, Jinnai K, Kimura F (1997) Bicuculline infusion advances the timing of Fos expression in LHRH neurons in the preoptic area of proestrous rats. *Neuro Report* 8, 771-774.
 27. Everett JW, Sawyer CH (1950) A 24-hour periodicity in the "LH release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology* 47, 198-218.
 28. Funabashi T, Shinohara K, Mitsushima D, Kimura F (2000) Gonadotropin-releasing hormone exhibits circadian rhythm in phase with arginine-vasopressin in co-cultures of the female rat preoptic area and suprachiasmatic nucleus. *J Neuroendocrinol* 12, 421-528.
 29. Funabashi T, Shinohara K, Mitsushima D, Kimura F (2000) Estrogen increases arginine-vasopressin V1a receptor mRNA in the preoptic area of young but not of middle-aged female rats. *Neurosci Lett* 285, 205-208.
 30. Funabashi T, Aiba S, Sano A, Shinohara K, Kimura F (1999) Intracerebroventricular injection of arginine-vasopressin V1 receptor antagonist attenuates the surge of luteinizing hormone and prolactin secretion in proestrous rats. *Neurosci Lett* 260, 37-40.
 31. Kalamatianos T, Kallo I, Goubillon M-L, Coen CW (2004) Cellular expression of V1a vasopressin receptor mRNA in the female rat preoptic area: Effects of oestrogen. *J Neuroendocrinol* 16, 525-533.