

ほ乳類の生殖機能を制御するエストロジェンのフィードバック作用を仲介する脳内メカニズム

上野山賀久, 東村 博子

名古屋大学大学院生命農学研究科生殖科学研究分野

はじめに

ほ乳類の生殖機能は、視床下部-下垂体-性腺軸 (HPG 軸) により制御される。HPG 軸において、性腺から分泌される性ステロイドホルモンの中枢へのフィードバック作用は重要な役割を果たす。視床下部に存在する生殖中枢は、末梢血中の性ステロイドホルモン濃度により、卵胞発育や精子形成の状態をモニターし、それに応じて、下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌を巧みに調節する。性ステロイドホルモンのフィードバック作用についての報告は、古くは1930年代の Carl Moore と Dorothy Prince による下垂体と性腺の機能に関する研究にさかのぼる。Moore と Prince は、下垂体の性腺刺激ホルモンが性腺機能を刺激する一方で、性腺からの性ステロイドホルモンが下垂体機能を抑制する働きがあることを見出し、下垂体と性腺との間にはホルモンを介した相互作用があると報告した [1]。今日、雌におけるこの作用は、卵巣に由来するエストロジェンが、視床下部における性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のパルス状分泌を抑制することによると理解されている。興味深いことに、GnRH ニューロンには、エストロジェンのフィードバック作用を仲介すると考えられるエストロゲン受容体 α (ER α) の発現が認められず、エストロジェンのフィードバック作用を仲介するメカニズムは長い間大きな謎として残されてきた。

今世紀に入り、アメリカとフランスのふたつの研究グループが独立して、低性腺刺激ホルモン性性腺機能低下症の原因遺伝子として、G タンパク質共役受容体 GPR54 の機能喪失性の変異を発見した [2, 3]。この発見を契機として、GPR54 の内因性リガンドであるキスペプチン (発見当初はメタスチンと名付けられた [4]) に関する研究が精力的に進められ、エストロジェンのフィー

ドバック作用を仲介する脳内メカニズムが明らかとなりつつある。本稿では最近の知見を交え、視索前野 (齧歯類においては前腹側室周囲核 (AVPV)) および視床下部弓状核に局在する 2 群のキスペプチンニューロンが、エストロジェンのフィードバック作用を仲介することを、その分子メカニズムを含め概説する。

エストロジェンのフィードバック作用と 2 群のキスペプチンニューロン

GnRH/性腺刺激ホルモンが卵胞発育やステロイド合成を刺激すると、分泌されたエストロジェンは負のフィードバック作用により、GnRH/性腺刺激ホルモンの分泌を抑制する。その意義は、卵胞の発育状態に合わせて過不足のない性腺刺激ホルモン分泌を維持することである。こうして、末梢血中の性腺刺激ホルモン濃度が適正に保たれ、卵胞が正常に成長する。卵胞が十分に成熟すると、エストロジェン分泌が増加し、血中のエストロジェン濃度が急激に上昇する。すると、エストロジェンは一転して、正のフィードバック作用により、GnRH/性腺刺激ホルモンの大量放出 (サージ) を誘起し、排卵を促す。このように、エストロジェンは、正と負のフィードバック作用により、GnRH/性腺刺激ホルモンの分泌を促進したり、抑制したりする。では、その作用部位はどこにあるのだろうか。

エストロジェンの正のフィードバック作用は、1969年にヒツジにおいて実験的に証明された [5]。1980年代のはじめ頃には、齧歯類を用いた脳領域の電気刺激や破壊、エストロジェンの局所投与などの実験結果から、エストロジェンの作用部位は、視索前野、もしくはその近傍の神経核である AVPV に位置すると考えられるようになった [6-8]。雌の齧歯類では、AVPV に多数のキスペプチンニューロンが認められ、また同ニューロンは ER α を発現する [9, 10]。さらに、AVPV における Kiss I 発現は、エストロジェンにより増加する [9, 10]。キスペプチンが強力に性腺刺激ホルモン分泌を刺激することと考え合わせ、われわれは AVPV キスペプチンニュー

連絡先：上野山賀久, 名古屋大学大学院生命農学研究科生殖科学研究分野

〒464-8601 名古屋市千種区不老町

TEL : 052-789-5870

FAX : 052-789-4072

E-mail : uenoyama@nagoya-u.jp

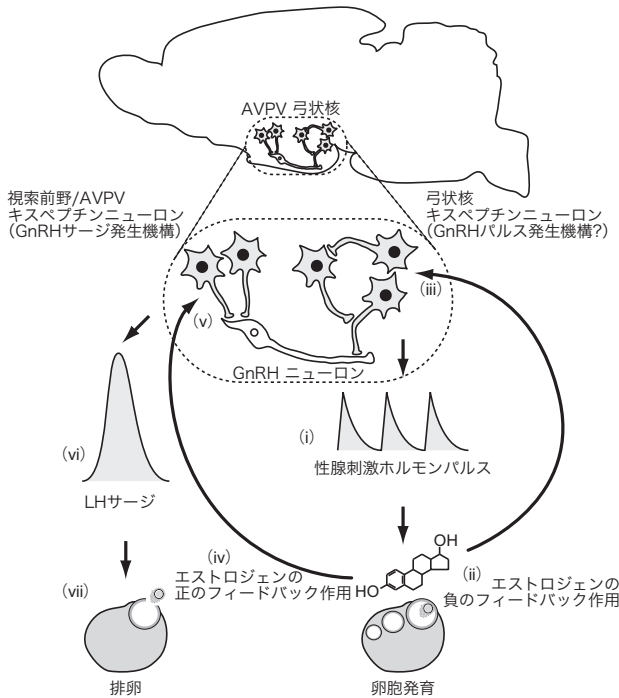


図1 エストロジェンの正と負のフィードバック作用を仲介する脳内メカニズム (仮説)
 (i) GnRH/性腺刺激ホルモンのパルス状分泌は卵胞発育とステロイドホルモン合成を刺激する。(ii) 卵胞から分泌されたエストロジェンの負のフィードバック作用は、(iii) 弓状核キスペプチンニューロンを標的とする。キスペプチンニューロンは、GnRHのパルス状分泌を介して、末梢血中の性腺刺激ホルモン濃度を適正に保ち、卵胞は成長する。卵胞が十分に発育すると、(iv) エストロジェン正のフィードバック作用により、(v) 視索前野/AVPVキスペプチンニューロンにおける *Kiss1* 発現と同ニューロン活動が活性化され、(vi) GnRH/LH サージが誘起され、(vii) 排卵に至る。

ロンがエストロジェンの正のフィードバックを仲介するニューロンに違いないと確信した。その後、著者らは、齧歯類に加え、ブタ、ヤギ、ニホンザル、スンスなどの様々な動物種において、視索前野/AVPVキスペプチンニューロンにおいて、エストロジェンが *Kiss1* 遺伝子発現を増加させるとともに、神経活性化マーカーである *c-Fos* 発現を促すことを明らかにしてきた [10-14]。これらの結果は、視索前野/AVPVキスペプチンニューロンが種を越えて、エストロジェンの正のフィードバック作用を仲介する GnRH サージ発生機構であることを示している (図1)。

AVPVにおける *Kiss1* 発現とは反対に、齧歯類において、弓状核キスペプチンニューロンにおける *Kiss1* の発現は、エストロジェンにより抑制される [9, 10]。この結果から、著者らは、弓状核キスペプチンニューロンがエストロジェンの負のフィードバック作用の標的細胞であり、GnRHのパルス状分泌を制御する中枢であろうと推察した。ヤギにおいて弓状核キスペプチンニューロン

の近傍に電極を留置して多ニューロン発火活動 (MUA) を記録すると、LHパルスと同期した MUA の一過性の上昇 (MUA ボレー) が観察され [15]、エストロジェンやプロゲステロン投与によって MUA ボレー頻度が減少する [16]。さらに、弓状核キスペプチンニューロンに関する形態学的、生理学的な実験結果から得られたいくつかの状況証拠より、弓状核キスペプチンニューロンが GnRH パルス発生機構の本体であり、エストロジェンの負のフィードバックを仲介するとの仮説が有力である [15-17]。このように、弓状核キスペプチンニューロンは、エストロジェンの負のフィードバック作用を仲介し、GnRHパルスの調節を介して、卵胞の発育状態に合わせた性腺刺激ホルモンの持続的な分泌を調節すると考えられる (図1)。

Kiss1 遺伝子発現の分子メカニズム

2群のキスペプチンニューロンにおいて、エストロジェンによる *Kiss1* 発現はどのようなメカニズムにより、AVPVでは促進的に、弓状核では抑制的に制御されるのだろうか。著者らは、両脳領域における *Kiss1* プロモーター領域のヒストン修飾に着目した [18]。エストロジェンが AVPV において *Kiss1* プロモーター領域のヒストンアセチル化修飾を増加させるのに対し、弓状核における同領域のヒストンアセチル化修飾はエストロジェンにより減少した。つまり、両神経核において *Kiss1* の発現は、*Kiss1* プロモーター領域のヒストンアセチル化修飾を伴うことが明らかとなった。さらに、遺伝子改変マウスを用いた *in vivo* GFP レポーターアッセイにより、図2Aのように、*Kiss1* 遺伝子座の5'上流領域と3'下流領域に、それぞれ弓状核と AVPV における *Kiss1* 発現を制御するエンハンサーが存在することも明らかとなった [18, 19]。

図2Bにエストロジェンによる AVPV における *Kiss1* 遺伝子発現の予想される分子メカニズムを示した。発情前期やエストロジェン存在下において、エストロジェン-ER α 複合体が *Kiss1* プロモーターに結合すると、ヒストンアセチル化酵素により *Kiss1* プロモーター領域がヒストンアセチル化され、*Kiss1* プロモーター領域と *Kiss1* 遺伝子座の3'下流領域間にクロマチンループが形成されるという一連のエピジェネティックな変化が起こる。このような分子メカニズムを介して、エストロジェンは AVPV における *Kiss1* 発現を増加させると考えられる。一方、図2Cに示すように、弓状核では、発情休止期やエストロジェン非存在下において、*Kiss1* プロモーター

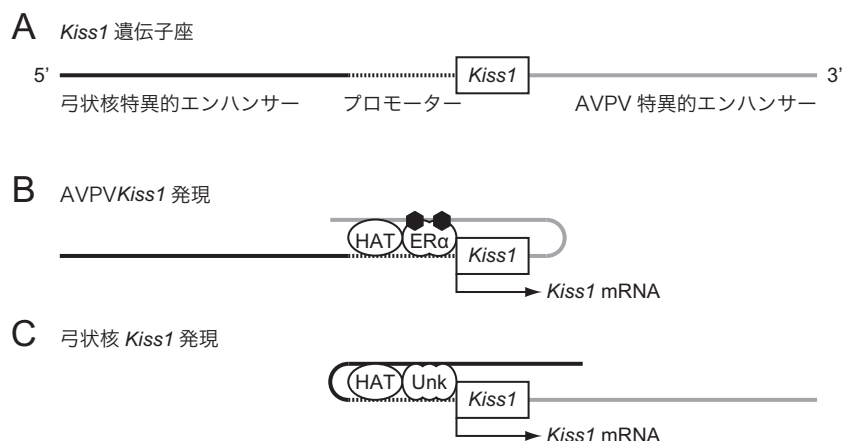


図2 Kiss1発現制御の分子メカニズム (仮説)

- (A) 弓状核および AVPV のキスペプチンニューロンの *Kiss1* 遺伝子座における脳領域特異的エンハンサーは、それぞれプロモーター領域の 5' および 3' 側に存在すると考えられる。
- (B) AVPV キスペプチンニューロンにおける *Kiss1* 発現は、エストロジェンに応答し、ヒストンアセチル化やプロモーターと AVPV 特異的エンハンサー間のクロマチンループ形成を介して増加する。
- (C) 弓状核キスペプチンニューロンでは、エストロジェン非存在下において、ヒストンアセチル化やプロモーターと弓状核特異的エンハンサー間のクロマチンループ形成を介して、*Kiss1* が発現する。エストロジェンの負のフィードバック作用の分子メカニズムはいまだ明らかではない。
- ER α , エストロジェン受容体 α , HAT, ヒストンアセチル化酵素, Unk, 未知の転写因子。

領域がヒストンアセチル化され、*Kiss1* プロモーター領域と *Kiss1* 遺伝子座の 5' 上流領域間にクロマチンループが形成され、*Kiss1* が発現するようである。弓状核では、エストロジェンは、*Kiss1* プロモーター領域ヒストンのアセチル化修飾を減少させるが、その分子メカニズムはまだ不明な点が多くあり、今後の研究を通じて明らかにしたいと考えている。

おわりに

21世紀にあらたに発見された神経ペプチドにより、HPG 軸におけるエストロジェンのフィードバック作用メカニズムについての理解は大きく進展した。とりわけ、視索前野/AVPV キスペプチンニューロンがエストロジェンの正のフィードバック作用を仲介して排卵を引き起す LH サージを誘起することが、多くの種で認められるようになった。一方、エストロジェンの負のフィードバック作用については、弓状核キスペプチンニューロンが標的細胞のひとつであることはまず間違いないが、その分子メカニズムの解明には、今後の研究の発展が必要である。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP26252046 の助成を受けたものです。

引用文献

1. Moore CR, Price D (1932) Gonad hormone functions, and the reciprocal influence between gonads and hypophysis with its bearing on the problem of sex hormone antagonism. *Am J Anat* 50, 13-71.
2. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Jr., Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF, Jr., Aparicio SA, Colledge WH (2003) The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 349, 1614-1627.
3. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E (2003) Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 10972-10976.
4. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M (2001) Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 411, 613-617.

5. Goding JR, Catt KJ, Brown JM, Kaltenbach CC, Cumming IA, Mole BJ (1969) Radioimmunoassay for ovine luteinizing hormone. Secretion of luteinizing hormone during estrus and following estrogen administration in sheep. *Endocrinology* 85, 133-142.
6. Goodman RL (1978) The site of the positive feedback action of estradiol in the rat. *Endocrinology* 102, 151-159.
7. Terasawa E, Wiegand SJ, Bridson WE (1980) A role for medial preoptic nucleus on afternoon of proestrus in female rats. *Am J Physiol* 238, E533-539.
8. Wiegand SJ, Terasawa E (1982) Discrete lesions reveal functional heterogeneity of suprachiasmatic structures in regulation of gonadotropin secretion in the female rat. *Neuroendocrinology* 34, 395-404.
9. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA (2005) Regulation of *Kiss 1* gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 146, 3686-3692.
10. Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, Matsui H, Kinoshita M, Takase K, Sugiura H, Ohtaki T, Matsumoto H, Uenoyama Y, Tsukamura H, Inoue K, Maeda KI (2007) Involvement of anteroventral periventricular metastin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on luteinizing hormone release in female rats. *J Reprod Dev* 53, 367-378.
11. Tomikawa J, Homma T, Tajima S, Shibata T, Inamoto Y, Takase K, Inoue N, Ohkura S, Uenoyama Y, Maeda KI, Tsukamura H (2010) Molecular characterization and estrogen regulation of hypothalamic *KISS 1* gene in the pig. *Biol Reprod* 82, 313-319.
12. Inoue N, Sasagawa K, Ikai K, Sasaki Y, Tomikawa J, Oishi S, Fujii N, Uenoyama Y, Ohmori Y, Yamamoto N, Hondo E, Maeda KI, Tsukamura H (2011) Kisspeptin neurons mediate reflex ovulation in the musk shrew (*Suncus murinus*). *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 17527-17532.
13. Watanabe Y, Uenoyama Y, Suzuki J, Takase K, Suetomi Y, Ohkura S, Inoue N, Maeda KI, Tsukamura H (2014) Oestrogen-induced activation of preoptic kisspeptin neurons may be involved in the luteinizing hormone surge in male and female Japanese monkeys. *J Neuroendocrinol* 26, 909-917.
14. Matsuda F, Nakatsukasa K, Suetomi Y, Naniwa Y, Ito D, Inoue N, Wakabayashi Y, Okamura H, Maeda KI, Uenoyama Y, Tsukamura H, Ohkura S (2014) The LH surge-generating system is functional in male goats as in females: involvement of kisspeptin neurones in the medial preoptic area. *J Neuroendocrinol* 27, 57-65.
15. Ohkura S, Takase K, Matsuyama S, Mogi K, Ichimaru T, Wakabayashi Y, Uenoyama Y, Mori Y, Steiner RA, Tsukamura H, Maeda KI, Okamura H (2009) Gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *J Neuroendocrinol* 21, 813-821.
16. Okamura H, Tsukamura H, Ohkura S, Uenoyama Y, Wakabayashi Y, Maeda KI (2013) Kisspeptin and GnRH pulse generation. *Adv Exp Med Biol* 784, 297-323.
17. Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, Ohkura S, Mogi K, Navarro VM, Clifton DK, Mori Y, Tsukamura H, Maeda K, Steiner RA, Okamura H (2010) Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci* 30, 3124-3132.
18. Tomikawa J, Uenoyama Y, Ozawa M, Fukunuma T, Takase K, Goto T, Abe H, Ieda N, Minabe S, Deura C, Inoue N, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Tanaka S, Imamura T, Okamura H, Maeda KI, Tsukamura H (2012) Epigenetic regulation of *Kiss 1* gene expression mediating estrogen-positive feedback action in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 109, E1294-1301.
19. Goto T, Tomikawa J, Ikegami K, Minabe S, Abe H, Fukunuma T, Imamura T, Takase K, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Maeda KI, Tsukamura H, Uenoyama Y (2015) Identification of hypothalamic arcuate nucleus-specific enhancer region of *Kiss1* gene in mice. *Mol Endocrinol* 29, 121-129.