

# 研究室紹介

名古屋大学

## 生命農学研究科 動物生殖科学研究室

教授・副総長 東村 博子



名古屋大学生命農学研究科前のラボメンバーと

私たちの研究室の今と歴史、そして目指すもの

私たちの動物生殖科学研究室は、教授の筆者と上野山賀久准教授、井上直子講師、博士研究員1名、事務補佐員1名、博士後期課程学生5名、博士前期課程学生8名、学部生3名によって構成されています。近年は、ほ乳類の生殖中枢であるキスペプチンニューロンに焦点をあてて世界をリードする研究を展開しており、研究成果が家畜の生産性の向上や生殖医療に貢献するための知見となることを目指して、日々研究に取り組んでいます。

わが研究室の歴史は古く、昭和27年（1952年）に名古屋大学農学部の畜産学第3講座、家畜繁殖学講座として発足し、本年（2022年）で70周年を迎えました。平成5年（1993年）には、農学部の改組により研究室名が動物生殖制御学講座となり、さらに平成10年（1998年）の大学院重点化により動物生殖制御学研究分野、平成17年（2005年）の大学院改組により生殖科学研究分野となりました。また、現在の名称「動物生殖科学研究室」になったのは、平成30年（2018年）の大学院改組によるものです。研究室名は何度も変わりましたが、私たちの研究室では、農学畜産学の重要な分野である「繁殖学」の研究や教育を通じて、その重要性を後進に伝え、発足当時の伝統を守りながらも、最先端の知見や科学技術を取り入れつつ研究を進めています。

生殖内分泌分野における「謎」に挑む

筆者が研究室に入室した1980年代後半において、生殖内分泌分野の中で大きな謎がありました。その1つはGnRHパルスジェネレータの本体は何か？ という謎です。GnRHニューロンそのものに内在するのか、あるいはGnRHニューロン以外の他のニューロン群がGnRHをパルス状に分泌させるのかは長いあいだ不明でした。視床下部性の低ゴナドトロピン性腺機能低下を示すモデル動物に、GnRHを生理的頻度でパルス状に投与するとゴナドトロピン分泌を刺激できる一方で、GnRHを恒常的に投与するとゴナドトロピン分泌は抑制されます。そのため、生殖機能の維持に必要なGnRHパルスジェネレータの解明がとても重要な課題でした。

私たちは、先代教授の故前多敬一郎先生とともにGnRHパルスジェネレータ本体の同定という大きな課題に取り組みました。前多先生は、キスペプチンが発見されるはるか前から、パルスジェネレータはGnRHニューロンそのものではなく、他のニューロン群であるという仮説を提唱してきました。前多先生の先見の明については、参考著書『死してこそ成し遂げる』に詳細が述べられています。その後の約30年にわたる研究成果として、

以下に示すように、私たちは GnRH パルスジェネレータが視床下部弓状核のキスペプチンニューロンであることを証明するに至りました。

#### GnRH パルスジェネレータを探せ！

—キスペプチン研究を契機とした大きな進展—

2001年に発見されたキスペプチンは、*Kiss1* 遺伝子にコードされるペプチドです。私たちは、2003年に井上金治先生（埼玉大学）や大瀧徹也博士ら（武田薬品工業）とキスペプチンについての共同研究を開始しましたが、ちょうどその頃キスペプチン研究が大きな展開を見せました。キスペプチン受容体（GRP54）遺伝子の突然変異によって性成熟しないヒトの症例が、アメリカとフランスから相次いで報告されたのです。

その後、キスペプチンがさまざまな種のは乳類でゴナドトロピン分泌を強力に刺激することが報告され、GnRH ニューロンに GPR54 遺伝子が発現していることも明らかになりました。私たちは *Kiss1* KO ラットを作製し、LH パルスとサージが消失し、卵巣が萎縮することを確かめました。また、*Kiss1* を発現する神経核が視床下部の前方（前腹側室周囲核や視索前野）と後方（弓状核）に局在していることが分かりました。そのうち弓状核に局在するキスペプチンニューロンには、促進性のニューロキニン B（NKB）と抑制性のダイノルフィン A（Dyn）が共存することが明らかとなり、それらの頭文字をとって KNDy ニューロンとも呼ばれるようになりました。KNDy ニューロンには、NKB と Dyn の受容体が発現していることも重要な知見です。

その後の共同研究により、ヤギの KNDy ニューロンの活動が LH パルスと同期し、NKB がパルス頻度を上昇させ、Dyn が頻度を抑制することを示しました。このように、KNDy ニューロンが GnRH パルスジェネレータ本体である状況証拠は揃いましたが、決定的な証拠を示すには至りませんでした。そこで私たちは、*Kiss1* KO ラットを用いてその弓状核に *Kiss1* を強制発現させることにしました。その結果、弓状核の NKB 遺伝子発現細胞の 2 割以上で *Kiss1* をレスキューした場合にのみ、LH パルスや卵巣発育を回復させることができました。重要なことは、弓状核内に *Kiss1* を導入しても NKB 細胞群に *Kiss1* 発現をレスキューできなかった場合は LH パルスが回復しなかったことです。これらの成果により、KNDy ニューロンが、GnRH パルスジェネレータであることを証明することができました。この報告には、世界中から大きな反響がありました。

#### エストロジェンの正と負のフィードバックの謎

生殖内分泌分野におけるもう 1 つの謎は、エストロジェンの正と負のフィードバックがどのようなメカニズムによるのかということでした。GnRH/LH パルスはエストロジェンによって抑制される一方で、卵巣が十分に発育して血中エストロジェンが増加すると、エストロジェンは一転して GnRH の大量放出を促進し LH サージを引き起こします。GnRH ニューロンにはエストロジェン受容体  $\alpha$ （ER $\alpha$ ）の発現が認められないため、エストロジェンの作用部位は長い間の謎でした。多くの種において、視床下部前方の前腹側室周囲核/視索前野および後方の弓状核のキスペプチンニューロンの殆どに ER $\alpha$  が発現していることが確かめられました。また視床下部前方のキスペプチンニューロンではエストロジェンが *Kiss1* 発現を刺激し、一方弓状核では *Kiss1* 発現を抑制したのです。これらの事から、視床下部前方と後方に位置するキスペプチンニューロンは、それぞれエストロジェンの正と負のフィードバック作用部位であるとの認識で一致するに至りました。私たちは、げっ歯類モデルを用いて、エストロジェンが *Kiss1* プロモータ領域のヒストンアセチル化を、前腹側室周囲核では促進し、弓状核では抑制することや、不死化神経細胞株を用いた *in vitro* 実験によりヒストンアセチル化が *Kiss1* 発現を増加させることを明らかにしました。このように、キスペプチン研究を介して、エストロジェンによる正負のフィードバックを制御するメカニズムも徐々に明らかになっています。

#### 終わりに

私たちは、ラットやマウスなどのモデル動物に加えて、共同研究等によりウシ、ブタ、ヤギなどの家畜やサルをも対象として研究を進め、どの種においてもキスペプチンニューロンがモデル動物と相同の神経核に分布していることを明らかにしました。これらの知見から、キスペプチンニューロンがほ乳類の種を超えて GnRH 分泌を刺激することで、卵巣発育や排卵を制御することを提唱しています。これらの知見を活かし、キスペプチンの発現や放出をコントロールできる新しい繁殖刺激法の開発を通じて、家畜の繁殖効率の向上や生殖医療への貢献を目指しています。

#### 引用文献

- ・Tsukamura H (2021) Kobayashi Award 2019 : The neuroendocrine regulation of the mammalian reproduction. Gen Comp Endocrinol 315, 113755.

- 
- Nagae M, Uenoyama Y, Okamoto S, Tsuchida H, Ikegami K, Goto T, Majarune S, Nakamura S, Sanbo M, Hirabayashi M, Kobayashi K, Inoue N, Tsukamura H (2021) Direct evidence that KNDy neurons maintain gonadotropin pulses and folliculogenesis as the GnRH pulse generator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118 : e2009156118.
  - Tomikawa J, Uenoyama Y, Ozawa M, Fukanuma 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 K, Tsukamura H (2012) Epigenetic regulation of Kiss1 gene expression mediating estrogen-positive feedback action in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 109, E1294-301.

- 前多敬一郎, 他 (2020) 死してこそ成し遂げる—食料問題を追い続けた獣医学研究者が語り, 遺し, 託したこと, 東村博子編, 平凡社 東京.