

【背景】

哺乳類の生殖機能は、加齢に伴い低下することが知られているが、そのメカニズムは不明である。生殖機能は、視床下部-下垂体-性腺軸により制御されており、その中でも視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) およびそれによって制御される脳下垂体からの黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌が、性腺での性ステロイドホルモン合成および卵胞発育、黄体・精子形成に強く関与している。加齢に伴いヒト及びラットにおいて、GnRH/LH パルス分泌が低下することが知られているが、そのメカニズムは不明であった。

近年、視床下部弓状核に存在する Kisspeptin ニューロンが GnRH の強力な分泌促進物質であり、Neurokinin B (NKB) と Dynorphin A という 2 つの神経ペプチドを共発現していることが明らかとなった。また、弓状核の Kisspeptin ニューロンは自己分泌、傍分泌的に NKB と Dynorphin により Kisspeptin をパルス状に分泌することで、GnRH/LH をパルス状に発生させるパルスジェネレーターとして働いていると考えられている。そこで本研究では、加齢に伴うパルス状 LH 分泌の低下の原因としてパルスジェネレーターに着目し、加齢に伴う LH パルスの変化と弓状核 Kisspeptin、NKB、Dynorphin ニューロンの発現変化について明らかにすることを目的とした。

【方法】

2~3 ヶ月齢 (Young)、12~13 ヶ月齢 (Young-Middle)、19-22 ヶ月齢 (Late-Middle)、24~26 ヶ月齢 (Old) の雌雄ウイスターラットを使用した。雌の Young と Young-Middle は正常な性周期を膣細胞診で確認した。内因性の性ステロイドホルモンの影響を除くため、全ての動物を性腺除去し、2 週間後実験に使用した。右心房内留置カテーテルより 6 分間隔 3 時間の連続採血を行い、血中 LH 濃度をラジオイムノアッセイ法により測定した。採血後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、剖出した脳の 50 μ m 凍結切片を作成した。弓状核の *Kiss1* (Kisspeptin 遺伝子)、*Tac3* (NKB 遺伝子)、*Pdyn* (ダイノルフィン遺伝子) の *in situ* hybridization および Kisspeptin、NKB、Dynorphin A、GnRH の特異的抗体を用いた免疫組織化学を行い、陽性細胞数を計測、統計解析した。これに加え、下垂体の GnRH への反応性の変化を検証するため、連続採血中に GnRH アゴニストを静脈内投与し血中 LH 濃度の変化を調べた。

【結果】

雌では、LH パルス分泌は Young-Middle 以降、有意に低下した。弓状核の遺伝子発現は Young-Middle 以降に *Tac3* と *Pdyn* 発現細胞が有意に減少し、Late-Middle 以降に *Kiss1* 発現細胞が有意に減少した。*Tac3* は *Kiss1* と *Pdyn* に比べ老齢期でも高い割合でその発現が維

持されていた。Kisspeptin、NKB、Dynorphin A 免疫陽性細胞数は Young-Middle 以降、有意に低下した。雄では Late-Middle 以降、LH パルス分泌が有意に低下した。弓状核の遺伝子発現は Young-Middle 以降に *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 発現細胞数が有意に低下し、*Kiss1* および *Tac3* は *Pdyn* に比べ老齢期でも高い割合でその発現が維持されていた。Kisspeptin、NKB、Dynorphin A 免疫陽性細胞数は Late-Middle 以降、有意に低下した。雌雄共に、GnRH 免疫陽性細胞数に有意差は認められなかった。全ての群において GnRH アゴニスト投与により血中 LH 濃度は有意に増加したが、雌雄共にその濃度は若齢と比べて Young-Middle 以降では有意に低下していた。雌雄共に、Kisspeptin、NKB、Dynorphin A 免疫陽性細胞数が低下した群では LH 分泌量が低下していた。

【考察】

これらの結果から、弓状核 Kisspeptin、NKB、Dynorphin ニューロンの 3 つの神経ペプチドは加齢による発現低下に差がみられたことから、それぞれ独立して発現調節されており、これらの神経ペプチドの発現変化の違いおよび下垂体レベルでの GnRH への反応性の変化が、加齢に伴う LH パルス分泌低下の原因となる可能性が示唆された。これらの研究成果は加齢による生殖機能不全および更年期障害のメカニズム解明につながると期待される。