

論文審査の結果の要旨

Expression of hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A neurons attenuates in female Zucker fatty rats

Zucker fatty 雌ラットにおける視床下部キスペプチン、ニューロキニン B、ダイノルフィン A の発現に関する組織細胞化学的解析

日本医科大学大学院医学研究科 女性生殖発達病態学分野
大学院生 中尾 仁彦
Neuroscience Letters 第 665 巻 135-139 頁 2018 年掲載

生殖機能と栄養状態は密接に関連しており、肥満女性では月経周期異常や不妊症を呈することが知られている。申請者らは、肥満による生殖機能異常に視床下部の KNDy ニューロンが関わっているのではないかと仮説を立てた。肥満モデルラットのひとつとして知られレプチン受容体異常を有する Zucker fatty (ZF) ラットを用いて、視床下部弓状核 (ARC) 及び前腹側室周囲核 (AVPV) の KNDy ニューロンの発現状況を明らかにすることにより仮説の検証を試みた。

【方法】7 週齢の ZF 雌ラットおよび対照群として lean 雌ラットを使用した。内因性エストロゲン濃度差の影響を排除するため 10 週齢で卵巣を摘除し、E₂ チューブを皮下に埋め込むことによりエストロゲン濃度の安定化をはかった。1 週間後、採血を行い、脳を浸漬固定し 50µm 凍結切片を作成した。ARC の *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* (それぞれキスペプチン、ニューロキニン B (NKB)、ダイノルフィン A (DynA) をコードする遺伝子) と AVPV の *Kiss1* は *in situ* hybridization 法で、キスペプチン、NKB、DynA、GnRH などのペプチドは免疫組織化学法で可視化し細胞数を算定した。

【結果】発情周期は lean ラットではおよそ 4 日周期の正常周期が見られたが、ZF ラットでは発情休止期が有意に長く 5 日以上の不整な周期を示した。卵巣摘除・E₂ チューブにより E₂ 濃度を一定にした後でも、ZF ラットでは lean ラットと比べ、血漿 LH 濃度が有意に低下していた。ARC の KNDy mRNA (*Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn*) およびペプチド (キスペプチン、NKB、DynA) の発現は、ZF ラットで有意に減少していた。しかし、AVPV の *Kiss1* の発現細胞数に両群で有意差は見られず、キスペプチン免疫陽性細胞は両群共にほとんど検出されなかった。視索前野の GnRH 免疫陽性細胞数は両群で有意差を認めなかった。

【考察】ARC KNDy ニューロンの mRNA とペプチドがともに減少していることから、レプチン受容体異常による肥満において、KNDy ニューロンは転写の段階から抑制を受けていることが示唆された。また、AVPV の *Kiss1* と視索前野の GnRH に有意差が見られなかったことから、レプチン受容体異常でもポジティブフィードバック機構は維持されており、高濃度のエストロゲンにより LH サージを誘起することが可能であると考えられた。このことから、レプチン受容体異常の個体では、ARC の KNDy ニューロンが抑制されて GnRH および LH パルスが減弱し、結果的に発情周期の異常および妊孕性の低下がもたらされていると考えられた。二次審査では、1) レプチン受容体異常個体における性周期の表現型と LH レベルの表現型に乖離がある理由、2) ヒト症例との対比、3) 自然発症 *ob/ob* マウスと ZF ラットのモデル動物としての比較、4) ARC KNDy ニューロンの発現低下を来す真の原因、などについて質疑応答がなされ、それぞれの確かな回答を得た。

本論文は、レプチン受容体異常を呈する肥満における生殖機能異常に、視床下部の KNDy ニューロンが関与していることを初めて示したものであり、学位論文として十分価値のあるものと認定した。