

論文内容の要旨

Absence of sex differences in diabetes-induced suppression of
KNDy neurons in rats

糖尿病により抑制された生殖機能制御中枢の雌雄差に関する組織学的解析

日本医科大学大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野

大学院生 大塚 真衣

Journal of Endocrinology 2024 Vol. 263, Issue 3 掲載

【背景】

神経ペプチドである kisspeptin、neurokinin B、dynorphin A を共発現する視床下部弓状核 (ARC) の KNDy ニューロンは、性腺刺激ホルモン放出ホルモン/黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌に関わり、さらに性ステロイドホルモンの負のフィードバック作用部位として考えられている。糖尿病の合併症である生殖機能障害は、視床下部-下垂体-性腺 (HPG) 軸の障害が原因の一つと考えられており、齧歯類を用いた実験により、糖尿病モデル動物の KNDy ニューロンが雌雄ともに抑制されることが明らかとなっている。しかし、糖尿病による KNDy ニューロンの抑制に雌雄差が認められるかは明らかとなっていない。本研究では、糖尿病ラットの KNDy ニューロンの mRNA 発現の雌雄差について組織学的に解析した。

【方法】

8-9 週齢の成熟した雌雄の Wistar-Imamichi 系ラットに、糖尿病モデルを作製するため膵島 β 細胞を破壊する streptozotocin (STZ) を体重あたり 60 mg/kg または 70 mg/kg の濃度で静脈内投与し、糖尿病群を 2 群作製した。対照群は溶媒を投与した。一部のラットは内因性の性ホルモンの影響を除去するため、STZ を投与した 5 週間後に性腺を摘出した。STZ を投与した 7 週間後に全ての動物を 4% パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定し、脳、血液、および性腺を採取した。雌ラットは発情休止期にサンプルを採取した。脳の凍結切片を作製し、弓状核の各神経ペプチドをコードする遺伝子である *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* の mRNA 発現を *in situ* hybridization 法により検出し、細胞体の数を計測した。血漿中のグルコース、ケトン体 (3-ヒドロキシ酪酸)、LH、テストステロン (TS)、エストラジオール (E2) の濃度を測定した。性腺はパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン液で染色した。STZ 投与の影響に性差が認められるか検討するため、二元配置分散分析 (Two-way ANOVA、STZ 投与×性別) を行い、有意差が認められた場合には Bonferroni 検定を行った。すべての実験は日本医科大学動物実験委員会の承認のもと行った。

【結果】

糖尿病ラットは、雌雄ともに体重が減少し、血糖値とケトン体濃度が上昇した。糖尿病の雌ラットについては不規則な性周期が観察された。性腺を摘出していないラットでは雌雄ともに *Kiss1* および *Pdyn* mRNA の発現細胞数が STZ 投与量依存的に減少したが、その減少に雌雄差は認められなかった。*Tac3* 発現細胞数と LH 濃度、性ホルモン濃度については、糖尿病による変化に雌雄差が認められた。*Tac3* 発現細胞数は糖尿病により雌のみ有意に減少した。LH と性ホルモン濃度については、雄のみ糖尿病により有意に低下した。性腺の形態学的解析により、糖尿病の精巣と精巣上体で異常な構造が認められたが、卵巣では糖尿病による異常は認められなかった。性腺除去による性ホルモン非存在下では、*Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 発現細胞数および LH 濃度は糖尿病により雌雄ともに有意に減少したが、その減少に雌雄差は認められなかった。

【考察】

性ホルモン非存在下の結果から、糖尿病により視床下部の KNDy ニューロンが雌雄ともに抑制され、その結果血中の LH 濃度が低下したと考えられるが、糖尿病による KNDy ニューロンの抑制に雌雄差はないことが明らかとなった。

性腺を摘出していない状態では、雄では糖尿病による *Kiss1* と *Pdyn* 発現の抑制が血中の LH と TS 濃度を低下させ、精巣および精巣上体の組織学的異常を引き起こされたと考えられる。*Tac3* 発現は糖尿病と対象群で有意差は認められなかったが、糖尿病群では TS 濃度の低下により視床下部への負のフィードバック作用が失われたことで、*Tac3* 発現が刺激された可能性がある。雌では糖尿病により KNDy ニューロンが抑制されたが、LH および E2 の濃度と卵巣の組織形態に糖尿病群と対象群で有意な変化は認められなかった。しかし、糖尿病群では E2 濃度は対照群と比較して低い傾向にあり、不規則な発情周期を示したことから、雌でも糖尿病が下垂体や性腺に影響を及ぼす可能性があると考えられる。血液、脳および性腺は発情休止期に採取したが、発情休止期は血中 LH 濃度が低く、新しい黄体も観察されないため、対象群と糖尿病群の間で顕著な差が表れにくい可能性がある。したがって、他の性周期における比較など、より詳細な分析が必要と思われる。

【結論】

HPG 軸の上位中枢である KNDy ニューロンは雌雄ともに糖尿病により抑制されるが、その生殖機能制御中枢の抑制に性別は関与しない可能性が示唆された。