

論 文 内 容 の 要 旨

**Effect of galanin-like peptide on hypothalamic kisspeptin expression  
in female Zucker fatty rats**

Zucker fatty ラットにおけるガラニン様ペプチド投与による

視床下部キスペプチンニューロンの組織化学的解析

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 坂田 明子

Neuroscience letters (2025.1.18) 掲載

## 【背景】

哺乳類の生殖は、個体の栄養状態に強く影響を受け、視床下部-下垂体-性腺 (HPG) 軸をはじめとする内分泌系の様々なメカニズムにより制御されている。視床下部弓状核のキスペプチンニューロンは、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) を介して黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌を制御し、性腺における性ステロイドホルモンの合成および卵胞発育、黄体形成に強く関与する。視床下部の Galanin-like peptide (GALP) は、1999 年にブタの視床下部で発見された神経ペプチドで、摂食調節作用に加え、中枢性の抗肥満作用を有する。また、GALP 投与により GnRH/LH 分泌は促進するが、その放出にキスペプチンニューロンが関与するかは未だ明らかとなっていない。

レプチン受容体遺伝子異常をもつ Zucker fatty (ZF) ラットは、肥満モデルラットのひとつとして知られており、パルス状 LH 分泌が抑制されていることから不妊を呈する。先行研究より ZF ラットでは、視床下部における GALP およびキスペプチンの発現が低く、GALP 投与により LH 分泌が誘導されることが明らかとなっている。本研究では、「GALP の脳室内投与は、ZF ラットの減弱したキスペプチンニューロンの発現を回復させる」という仮説を立て、組織化学的手法により検討した。

## 【方法】

7 週齢の雌の ZF ラットを購入し、膣細胞診により性周期を確認した。内因性の性ステロイドホルモンの影響を除去するため 10 週齢で卵巣除去し、発情休止期の血漿エストラジオール (E2) 濃度になるように E2 シリコンチューブを皮下に留置した。同時に、脳内投与のためのガイドカニューレを第 3 脳室に留置した。6 日後に採血のためのシリコンカニューレを頸静脈から右心房に挿入した。翌日、GALP もしくは溶媒を第 3 脳室に投与後、無麻酔無拘束下で 10 分毎に採血し、ラジオイムノアッセイ法で血漿 LH 濃度を測定した。投与 1 時間後もしくは 3 時間後に、4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定した。採取した脳は浸漬固定し、凍結切片を作製した。In situ hybridization (ISH) 法により弓状核の *Kiss1* (kisspeptin をコードする遺伝子) の発現細胞数を計測した。また、蛍光二重 ISH 法により *Fos* mRNA を発現する *Kiss1* 細胞の割合を計測した。二重免疫組織化学法により、視索前野の GnRH 免疫陽性 (ir) 細胞数および c-Fos を発現する GnRH-ir 細胞の割合を計測した。

## 【結果】

発情周期に関しては、すべての ZF ラットにおいて発情休止期が延長し、不規則な性周期を示した。第 3 脳室への GALP 投与により血漿 LH 濃度は有意に上昇した。しかし、弓状核の *Kiss1* の発現は弱く、*Kiss1* 細胞数は両群間に有意な差を認めなかった。また、両群ともに *Fos* を発現する *Kiss1* 細胞の割合は 1-2%と少なく、両群間に有意差は認めなかった。視索前野の GnRH-ir 細胞数は両群間に有意差は認めなかった。一方、c-Fos を発現する GnRH-ir 細胞の割合は、GALP 投与 1 時間後に有意に増加したが、GALP 投与 3 時間後では対照群

と比較して有意差は認めなかった。

#### 【考察】

LH 分泌が低下している ZF ラットに GALP を投与すると、血中の LH 濃度は上昇したが、弓状核における *Kiss1* 細胞数および *Fos* を発現する *Kiss1* 細胞の割合への影響は認められなかった。つまり、「GALP の脳室内投与は、ZF ラットの減弱したキスペプチンニューロンの発現を回復させる」という仮説は否定された。一方、GALP 投与により c-Fos を発現する GnRH-ir 細胞の割合が増加したことから、GALP は、弓状核のキスペプチンニューロンを介さず、直接または間接的に GnRH ニューロンを活性化して LH 分泌を促進する可能性が示唆された。

先行研究から、弓状核の GALP ニューロンの 85% がレプチン受容体を発現し、レプチン投与は GALP の発現を増加させることが示されている。また、弓状核のキスペプチンニューロンと関与する摂食調節作用を有するニューロンが、レプチン受容体を発現していることがわかっている。以上のことから、ZF ラットの不妊は、レプチンシグナル伝達が消失することにより、GALP ニューロンとキスペプチンニューロンのシグナルがそれぞれ減弱し、その結果、GnRH ニューロンの活性低下、LH パルス分泌低下が引き起こされると考えられた。

GALP ニューロンとキスペプチンニューロンの直接的な関係性は低い。レプチン抵抗性を伴う肥満における生殖機能障害は、GALP 経路とキスペプチン経路の両方の機能低下によって引き起こされる可能性が考えられる。我々の発見は、栄養状態に応答して生殖機能を制御する神経ネットワークの理解を深めることに貢献すると考えられた。