

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

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

Neurosci Lett. 2025;846:138081.掲載

DOI: 10.1016/j.neulet.2024.138081

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等に強く関与する。また、視床下部の Galanin-like peptide (GALP) は中枢性の抗肥満作用を有する。GALP 投与によって GnRH/LH 分泌は促進されるが、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であり、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とされ、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報告されている。申請者らは、ZF ラットにおいて、GALP による LH 分泌がキスペプチンニューロンを介するか等を組織化学的手法により検討した。

10 週齢の雌の ZF ラットの卵巣を除去し、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 チューブを皮下に留置し、さらに GALP 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、その翌日に GALP もしくは溶媒 (対照群) を第 3 脳室に投与し、10 分毎に採血して血漿 LH 濃度を測定した。投与 1 時間もしくは 3 時間後に、4%パラホルムアルデヒド溶液で脳を灌流固定して凍結切片を作製した。In situ hybridization (ISH) 法により弓状核の Kiss1 (キスペプチンをコードする遺伝子) の発現細胞数を計測し、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。

結果として、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 投与によって血漿 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%と低く、両群間に有意差を認めなかった。視索前野の GnRH-ir 細胞数は両群間に有意差を認めなかった。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を認めなかった。

結果から、GALP は、弓状核のキスペプチンニューロンを介さずに 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。以上より、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た。

第二次審査では、GALP 投与によるパルス状 LH 分泌の回復の可能性、両側卵巣摘出等を行った意義、GALP 投与による将来的な不妊治療への期待、投与された GALP が視床下部に届くまでの経路等について質疑があり、いずれも的確に回答した。

申請者らの論文は、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ことから、学位論文として価値あるものと認定した。