

## 動物の繁殖機能を司る中枢神経機構 —性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) パルスジェネレーター—



大蔵 聡

(生命農学研究科 生命技術科学専攻 動物生産科学第1研究分野)

### はじめに

家畜を含む動物の繁殖は、動物の体内で起こる生理的な現象（卵胞発育や排卵など）と行動（性行動や母性行動など）が、適切な時に同調して発現することによってはじめて完成する。これらの同調した発現が可能になるのは、繁殖に関わる生理的現象と行動が、神経系や内分泌系などの生体内の情報伝達系によって精密に制御されているからである。近年、畜産の現場では、国内外を問わずウシの繁殖効率の低下が大きな課題となっている。例えば、乳用牛では、育種改良によって産乳量が飛躍的に高められた結果、大量の乳生産に伴う

エネルギー不足が分娩後の卵巣機能の回復を遅らせ、発情行動の不明瞭化や受胎率の低下を招き、ひいては分娩間隔を延長させていることが指摘されている<sup>1)</sup>。畜産物生産性の低下に直結する繁殖効率の低下を克服するためには、繁殖を制御する神経・内分泌メカニズムを詳細に解明することが必要となる。

### 繁殖機能の神経内分泌学的制御メカニズム

動物の繁殖機能は、視床下部－下垂体－性腺軸とよばれる調節系によって精密にコントロールされている(図1)。視床下部に存在する神経細胞で産生されて下垂体門脈血中に放出される性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は、下垂体前葉に運ばれて性腺刺激ホルモン (GTH) の分泌を調節する。下垂体前葉から分泌される性腺刺激ホルモンには黄体形成ホルモン (LH) と卵胞刺激ホルモン (FSH) のふたつがあり、メスでは卵巣における卵胞の発育、排卵、黄体形成と性ステロイドホルモンの合成と分泌を、オスでは精巣における精子形成や性ステロイドホルモンの合成と分泌を調節する。一方、性腺から分泌される性ステロイドホルモンは、視床下部や下垂体に作用し、GnRH や性腺刺激ホルモンの分泌を調節する (フィードバック作用)。このように繁殖機能調節系である視床下部－下垂体－性腺軸では、神経ペプチドである GnRH が最上位の調節因子として重要な役割を果たしている。

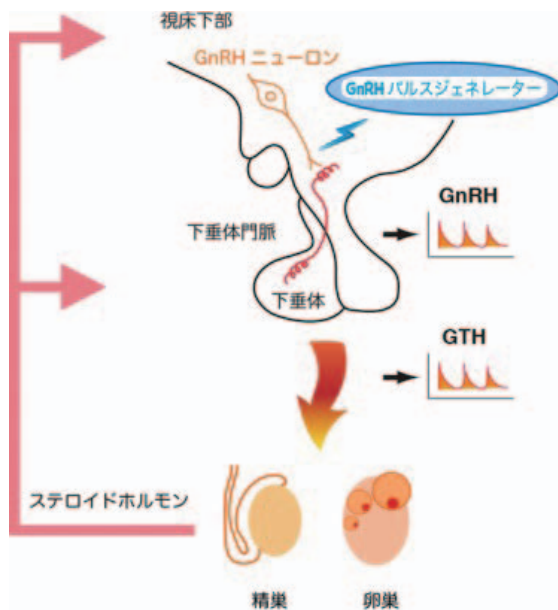


図1 視床下部－下垂体－性腺軸の模式図  
GnRH, 性腺刺激ホルモン放出ホルモン; GTH, 性腺刺激ホルモン。

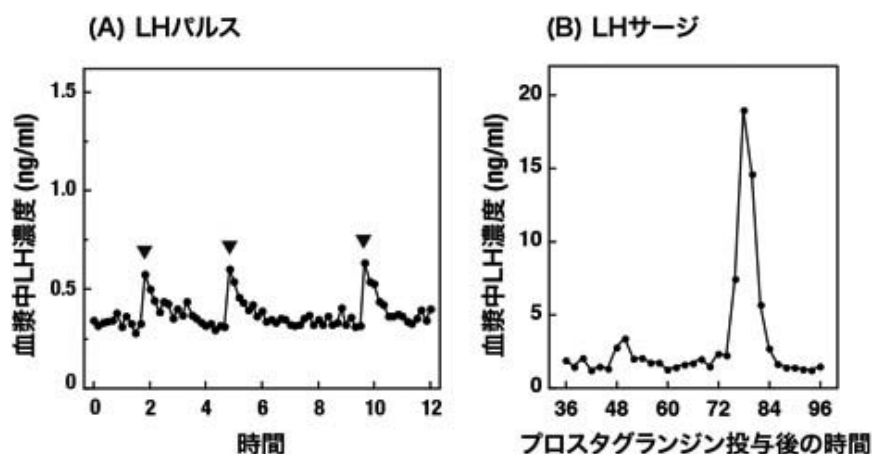


図2 ウシ（黒毛和種）における LH パルスと LH サージ  
 (A) 黄体期のウシにおいて、10分間隔、12時間の連続採血をしたときの LH パルス。図中の ▼印は LH パルスのピークを示す。(B) プロスタグランジン投与による発情同期化をしたときの内因性 LH サージ。LH、黄体形成ホルモン。

雌性動物における GnRH の分泌様式には、卵胞発育を制御するパルス状の分泌と、排卵を制御するサージ状の分泌がある。いずれの GnRH 分泌様式も、視床下部に存在する中枢神経機構によって制御されており、下垂体門脈血中の GnRH 分泌動態を反映して、性腺刺激ホルモン分泌はパルス状およびサージ状の分泌動態を呈する。図2は、われわれが研究対象として用いているウシ（黒毛和種）におけるパルス状およびサージ状の LH 分泌動態を示す。パルス状の LH 分泌は基底レベルの分泌であり、動物種によっても異なるが、一般に卵胞期では高頻度（ウシでは1時間に1回程度のパルス）、黄体期では低頻度（ウシでは4～8時間に1回のパルス）となる。一方、サージ状の LH 分泌は卵胞期の終わりにみられる一過性の大量放出であり、LH サージのピーク濃度はパルス状 LH 分泌の数十倍の血中濃度に達する。

ふたつの GnRH 分泌様式のうち、一定の間隔で下垂体門脈血中濃度が変動するパルス状の GnRH 分泌は、下垂体前葉の性腺刺激ホルモン分泌細胞の GnRH に対する反応性を保ち、ひいては動物の繁殖機能を適切に維持するために重要である。視床下部を破壊することによって内因性の GnRH パルスを消失させたアカゲザルを用いた実験<sup>2)</sup>では、GnRH を持続的に投与することによって GnRH 濃度を高値に維持すると、下垂体前葉からの LH 分泌がかえって抑制されてしまうことがわ

かっている。このことは、パルス状の GnRH 分泌は視床下部－下垂体－性腺軸の機能を正常に維持するために必要であり、GnRH パルス頻度の多寡が性腺刺激ホルモンのパルス状分泌、ひいては繁殖機能を調節するために重要であることを示している。

#### GnRH パルスジェネレーター

動物の繁殖機能を正常に維持するために必須であるパルス状の GnRH 分泌は、視床下部に存在する中枢神経機構「GnRH パルスジェネレーター」によって制御されると考えられている<sup>3)</sup>。GnRH パルスジェネレーターは、視床下部において散在する多数の GnRH ニューロンの同調した発火を誘起して、下垂体門脈血中に GnRH をパルス状に分泌させる機構であり、動物の繁殖を制御する中枢として位置づけられる。動物の繁殖に影響をおよぼすさまざまな環境因子由来の情報は、体のさまざまな部位の感覚器で受容された後に脳に入力し、最終的に GnRH パルスジェネレーターに伝達される。その結果、GnRH パルスジェネレーターの活動が変化し、繁殖機能が制御される。すなわち、GnRH パルスジェネレーターは、動物の繁殖機能制御を一義的にコントロールするマスターレギュレーターであると言える。

われわれがウシなどの反芻家畜のモデル動物として用いているシバヤギでは、GnRH パルスジェ

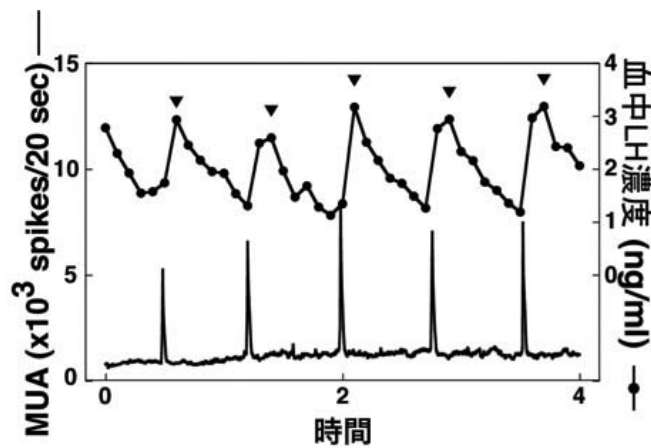


図3 シバヤギ視床下部内側基底部における多ニューロン発火活動と末梢血中のパルス状 LH 分泌  
 図中の▼印は LH パルスのピークを示す。それぞれの多ニューロン発火活動の一過性上昇  
 (MUA ボレー) は LH パルスと一対一に対応する。LH, 黄体形成ホルモン; MUA, 多ニュー  
 ロン発火活動。

ネレーターの活動をリアルタイムに直接モニターできる多ニューロン発火活動 (MUA) 記録システムが確立されている<sup>4)</sup>。MUA 記録システムは、脳内特定部位に留置した電極周囲の多くの神経細胞に由来する活動電位をまとめて記録する手法であり、GnRH パルスの形成に必要な多数のニューロンの同期した発火活動の解析に適した電気生理学的手法である。脳定位固定装置を用いて、シバヤギの視床下部内側基底部に留置した記録用電極から MUA を記録すると、一定の間隔で規則正しく発火頻度が上昇する特徴的な神経活動 (MUA ボレー) が確認できる (図3)。各々の MUA ボレーは末梢血中の LH パルスと一対一に対応していることから、この MUA ボレーは GnRH パルスジェネレーターの活動を反映したものと考えられる。

GnRH パルスジェネレーターの活動状態の指標としては、MUA ボレーの間隔 (または頻度) を用いる。たとえば、MUA ボレー間隔の延長が観察されれば、そのとき GnRH パルスジェネレーターの活動は抑制されていることになる。この手法を用いて、繁殖制御中枢である GnRH パルスジェネレーターの活動を、非拘束下のシバヤギを用いてリアルタイムかつ連続的にモニターすることが可能である。

### KNDy ニューロンの発見と GnRH パルスジェネレーター

GnRH パルスジェネレーターの概念は1980年代にはすでに提唱されていたが<sup>3)</sup>、その詳細なメカニズムは長らく不明のままであった。近年、視床下部弓状核に存在する神経ペプチドであるキスペプチン (Kisspeptin) が GnRH 分泌制御に重要な役割を果たすことが明らかになってきた<sup>5,6)</sup>。また、キスペプチンを産生するキスペプチンニューロンには、他にふたつの神経ペプチドであるニューロキニン B (Neurokinin B) およびダイノルフィン A (Dynorphin A) が共存していることが明らかとなり<sup>7)</sup>、このニューロンはそれら3つのペプチドの頭文字をとって「KNDy (キャンディ) ニューロン」とよばれるようになった<sup>8)</sup>。キスペプチンは強力な GnRH 分泌促進作用をもち、動物の繁殖促進に必須のペプチドである。また、ニューロキニン B は、その遺伝子欠損がヒトやげっ歯類において性成熟の発来を阻害すること、オピオイドペプチドであるダイノルフィン A は性腺刺激ホルモン分泌を抑制することが知られている。これらのペプチドがひとつの神経細胞に共存している意味は何なのか? その解答が得られたのは、シバヤギを用いた MUA による GnRH パルスジェネレーター活動の観察であった。MUA 記録用電極を KNDy ニューロンが密集して存在する視床下部弓状核に留置したところ、LH パルスと同期し

た MUA ボレーがほぼ確実に記録できること<sup>9)</sup>, また, MUA ボレーの発生がニューロキニン B の投与により強く促進され, ダイノルフィン A の投与により抑制されること<sup>10)</sup>が明らかになった。これらの結果は, 密なネットワークを形成している KNDy ニューロン群の活動が, 内包するペプチド (ニューロキニン B およびダイノルフィン A) により制御されること, そして, KNDy ニューロン群の同期した発火活動が発生したとき (MUA ボレー発生時) にキスペプチンが放出され, GnRH パルスを発生させることを示唆するものであった。

このようにして, 数十年にわたってブラックボックスとされてきた GnRH パルスジェネレーターのメカニズムが, KNDy ニューロンの発見により明らかにされつつある。

#### おわりに

繁殖生理学分野では, KNDy ニューロンが GnRH パルスジェネレーター本体を構成する神経メカニズムであることが有力視されるようになった。しかしながら, その詳細なメカニズムの解明はまだ緒に就いたばかりである。実のところ, シバヤギの MUA 記録システムを用いた研究成果についても状況証拠を示したに過ぎない。例えば, MUA 記録ができるのは記録用電極を KNDy ニューロン近傍に留置したときであるのは間違いないが, 記録しているニューロン群を同定できたわけではない。また, キスペプチン, ニューロキニン B およびダイノルフィン A が脳内でどのように分泌され, その動態がどのようにパルス (MUA ボレー) 発生につながるのかなど, 今後解明すべき点が多い。今後も, われわれが有するシバヤギの MUA 記録システムのアドバンテージを活かして, GnRH パルスジェネレーターのメカニズムの完全理解をめざしたいと考えている。

#### 謝辞

本稿で紹介した研究は, 生命農学研究科動物生産科学第 1 研究分野および生殖科学研究分野の教員および学生のみなさんの協力により実施してき

たものです。ここに感謝の意を表します。また, ラジオイムノアッセイ法による血中のホルモン濃度測定は名古屋大学アイソトープ総合センターにおいて実施しており, 同センタースタッフのみなさまのサポートと快適な研究環境の維持に関わること尽力に感謝いたします。

#### 引用文献

- 1) Stevenson, J.S., Britt, J.H. (1979) Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 48, 570-577.
- 2) Knobil, E. (1980) The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog. Horm. Res.* 36, 53-88.
- 3) Lincoln, D.W., Fraser, H.M., Lincoln, G.A., Martin, G.B., McNeilly, A.S. (1985) Hypothalamic pulse generators. *Recent Prog. Horm. Res.* 41, 369-419.
- 4) Nishihara, M., Takeuchi, Y., Tanaka, T., Mori, Y. (1999) Electrophysiological correlates of pulsatile and surge gonadotrophin secretion. *Rev. Reprod.* 4, 110-116.
- 5) Popa, S.M., Clifton, D.K., Steiner, R.A. (2008) The role of kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annu. Rev. Physiol.* 70, 213-238.
- 6) Maeda, K.-I., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Wakabayashi, Y., Oka, Y., Tsukamura, H., Okamura, H. (2010) Neurobiological mechanisms underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. *Brain Res.* 1364, 103-115.
- 7) Goodman, R.L., Lehman, M.N., Smith, J.T., Coolen, L.M., de Oliveira, C.V.R., Jafarza-dehshirazi, M.R., Pereira, A., Iqbal, J., Caraty, A., Ciofi, P., Clarke, I.J. (2007) Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology* 148, 5752-5760.

- 8) Lehman, M.N., Coolen, L.M., Goodman, R.L. (2010) Minireview: kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cells of the arcuate nucleus: a central node in the control of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 151, 3479–3489.
- 9) Ohkura, S., Takase, K., Matsuyama, S., Mogi, K., Ichimaru, T., Wakabayashi, Y., Uenoyama, Y., Mori, Y., Steiner, R.A., Tsukamura, H., Maeda, K.-I., Okamura, H. (2009) Gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *J. Neuroendocrinol.* 21, 813–821.
- 10) Wakabayashi, Y., Nakada, T., Murata, K., Ohkura, S., Mogi, K., Navarro, V.M., Clifton, D.K., Mori, Y., Tsukamura, H., Maeda, K.-I., Steiner, R.A., Okamura, H. (2010) Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J. Neurosci.* 30, 3124–3132.