

その他 (総説)

# エネルギー代謝・栄養やストレスと 生殖機能調節系の密接な神経・神経内分泌連関

## Close Neuronal and Neuroendocrine Linkage between Energy Metabolism, Nutrition, Stress and Reproductive Regulatory Systems

小澤 一史

OZAWA Hitoshi

### 抄 録

新しく発見された生理活性神経ペプチドであるキスペプチン (kisspeptin) を上位の統合中枢として視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) - 下垂体の性腺刺激ホルモン (卵胞刺激ホルモン FSH/ 黄体形成ホルモン LH) - 性腺からの性ステロイドホルモンという視床下部 - 下垂体 - 性腺軸 (HPG axis) の仕組みを全面的に見直すことが生殖内分泌学の中で進んでいる。新しい概念の HPG 軸を考える時に、旧来から概念的にいわれてきたエネルギー代謝・栄養は生殖機能に大きく関わる、ストレスは生殖機能に影響を与えるという課題を、科学の目として正確に理論展開し説明出来るようになってきたことを中心に概説する。

キーワード ■ キスペプチン (kisspeptin), 視床下部 - 下垂体 - 性腺 (HPG) 軸, 生殖機能調節系, 栄養・エネルギー代謝, ストレス応答系

### 1. はじめに

生殖機能制御に関する神経内分泌学的システムは、間脳 (視床下部 hypothalamus) - 下垂体 (pituitary) - 性腺 (gonad) 軸 (HPG axis) とそのフィードバック機構によって制御されると理解されてきた。視床下部からは性腺刺激ホルモン (ゴナドトロピン) 放出ホルモン (gonadotropin releasing hormone ; GnRH) が下垂体門脈系に分泌され、下垂体の毛細血管

から前葉の性腺刺激ホルモン（黄体形成ホルモン luteinizing hormone ; LH, 卵胞刺激ホルモン follicle stimulating hormone ; FSH）の分泌を促進, LH/FSH は性腺（精巣, 卵巣）に働きかけて性ステロイドホルモン（アンドロゲン androgen, エストロゲン estrogen）分泌を誘導する. 末梢からの性ホルモンは血流により, 脳にフィードバックしてこれらの性ステロイドホルモン受容体を発現する神経細胞に制御をかけると理解されている. ところがフィードバックを受けるべき視床下部の GnRH ニューロンにはアンドロゲン受容体やエストロゲン受容体は発見されておらず, このフィードバック機構の本質は長い間のブラックボックスとして未知の世界であった.

2003年に Nicola de Roux らが, 家族性の低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism) の患者において, G-protein coupled receptor (GPCR) の1つであり, 当時はまだそのリガンドが明らかとなっていなかったオーファン受容体の1つである GPR54 遺伝子における異常 (155 のヌクレオチドの欠損) があることを発見し, GPR54 が HPG 軸を活性化させるために極めて重要な因子である可能性を報告した<sup>1)</sup>. 同じく 2003年に Seminara らの研究グループはマウスにおいて同様の GPR54 の point mutation を行った遺伝子改変マウスを用いて観察したところ, de Roux らの報告と同様に, マウスにおいても低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の病態が発現し, 思春期発現が生じず, 生殖機能障害を示すことを報告, GPR54 が広く脊椎動物において生殖制御機構に重要な役割をしめしていることを明らかにした<sup>2)</sup>. その後, GPR54 に対するリガンドが何であるかについて注目され, GPR54 のリガンドとして新たな生理活性神経ペプチドであるキスペプチン (kisspeptin) が発見され<sup>3,4)</sup>, 以来キスペプチンに関する研究は爆発的になされてきた. その結果, キスペプチンニューロンには性ステロイドホルモン受容体が発現していること, キスペプチンニューロンの軸索が GnRH ニューロンに投射していること, GnRH ニューロンには GPR54 受容体が発現していることなどが明らかとなり, 先に述べた HPG 軸のフィードバックループが新たな観点から再構築が確認され, フィードバックシステムにおける“ブラックボックス”の解明に向けて様々なことが明らかとなってきている. そしてこのキスペプチン-GnRH-LH/FSH-gonad の仕組みによって「思春期」発動の仕組み, その後の生殖機能調節の仕組みが明らかになってきた<sup>5)</sup>. この新しい生殖機能調節系の確立は, これまでに何となくという感じでは理解されていた, いくつかの環境因子と生殖系の関連性に関する「概念的」な理解を, より科学的, 理論的に理解する道を拓げつつある. (図1)

例えば, これまでも「栄養障害」と「生殖機能障害」との間に何らかの直接的または間接的な関連性があるということは共通認識にはなっていたが, 「何らかの直接的または間接的な関連性」が具体的にどのようなものであるかは明らかではなかった. 大きなストレスがかかると生殖機能に影響を与えることも, 全体的な概念としては納得されていたが, その具体的な神経科学的回路については, あやふやな状況で, 明確な説明ができなかったのである.

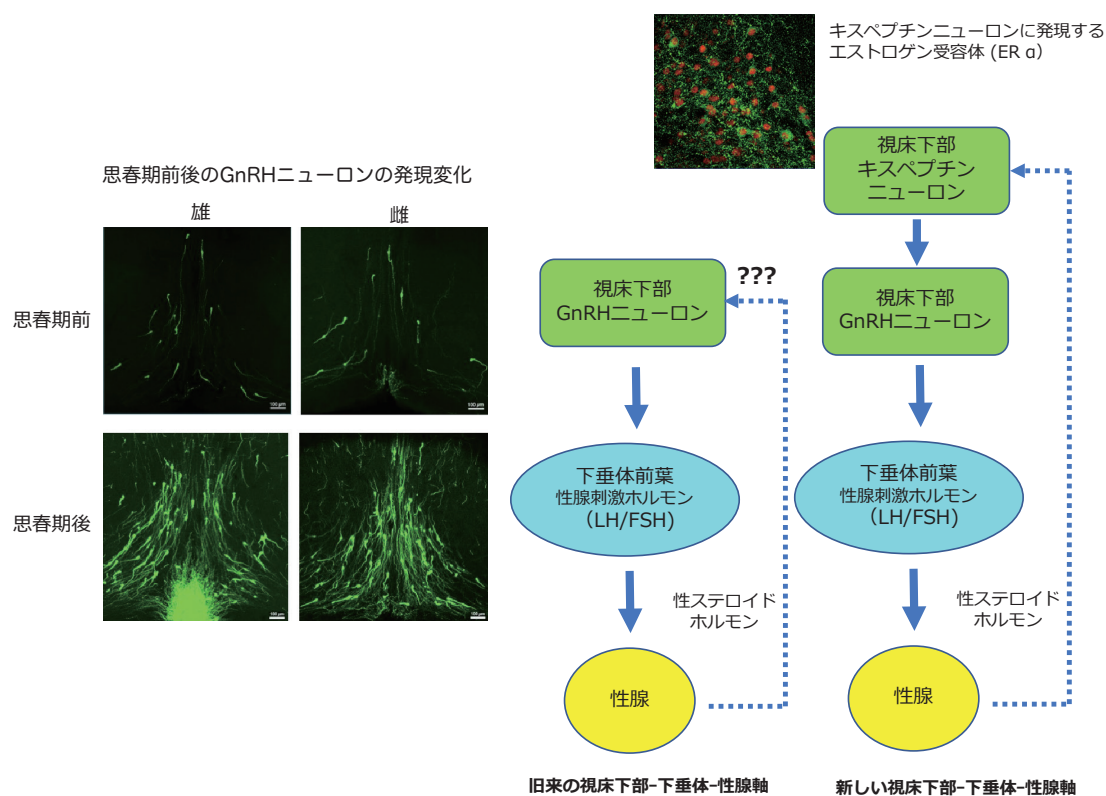


図 1

この 20 年間の間に、これらの「あやふやな状況」を明確にすること進み、ブラックボックスによって閉ざされていた多くの疑問が解決され、あるいは解決されようとしている。これらの状況について、本総説では概説する。

## 2. キスペプチンの発現と分布様式

キスペプチンの発現・分布様式については様々な動物を用いて研究が展開され、実験動物としてよく用いられるラットやマウスなどの齧歯類を用いた報告が多々ある<sup>6,7,8)</sup>。我々も主にラットを用いて研究を展開してきた<sup>9,10,11)</sup>。

ラット、マウスなどの齧歯類においては、視床下部の前腹側室周囲核 (anteroventral periventricular nucleus ; AVPV)、弓状核 (arcuate nucleus ; ARC) の 2 箇所が主たる分布領域として知られる。ある一定の作用〔役割〕を有する神経核の多くは、通常は脳内のどこか 1 ヶ所に固まるのが通常であるが、キスペプチンを発現する神経細胞は別々の 2 ヶ所に分布する、特異的な性質を有している。

AVPV のキスペプチンニューロンはエストロゲン濃度が高まった際に発現が増加することからエストロゲンの正のフィードバックを受けていると言える。一方、ARC のキスペプチンニューロンは、キスペプチンに加えて neurokininB (NKB), dynorphin (Dny) を共発現し

ており、最近ではこれらを合わせて KNDy ニューロンと称されることが多くなっている<sup>12)</sup>。ARC の KNDy ニューロンは AVPV のキスペプチンニューロンとは反対にエストロゲンが増加すると発現が減少することから、エストロゲンによって負のフィードバックの受けていると考えることが出来る。このことは生殖制御を考える上で非常に重要な意味を有し、エストロゲンが上昇し、GnRH/LH/FSH のサージ状分泌が誘導される場合にはこの AVPV のキスペプチン分泌が大切であり、エストロゲンが上昇し GnRH/LH/FSH のパルス状分泌が抑制される場合には ARC の KNDy ニューロンのキスペプチン分泌が重要であることを意味する。従って齧歯類における AVPV と ARC の 2 ヶ所におけるキスペプチンニューロンの分布は、GnRH, LH/FSH のサージ状分泌とパルス状分泌という重要な生殖イベントを介する上でそれぞれが重要な役目を有することを意味し、まさにブラックボックスの解明に値する制御機構と言える。(図 2)

一方、ヒトやサルといった霊長類でもキスペプチンの発現は認められている。興味深いことに、齧歯類とは異なり、キスペプチン神経細胞体は、いわゆる AVPV を含む領域での発現は認められず、もっぱら ARC に集中する。また、GnRH ニューロンの細胞体近接にはキスペプチン免疫陽性線維はほとんど認められず、下垂体門脈の存在する正中隆起 (ME) に投射する GnRH ニューロン軸索終末とキスペプチンニューロン軸索の近接が報告されている<sup>13)</sup>。

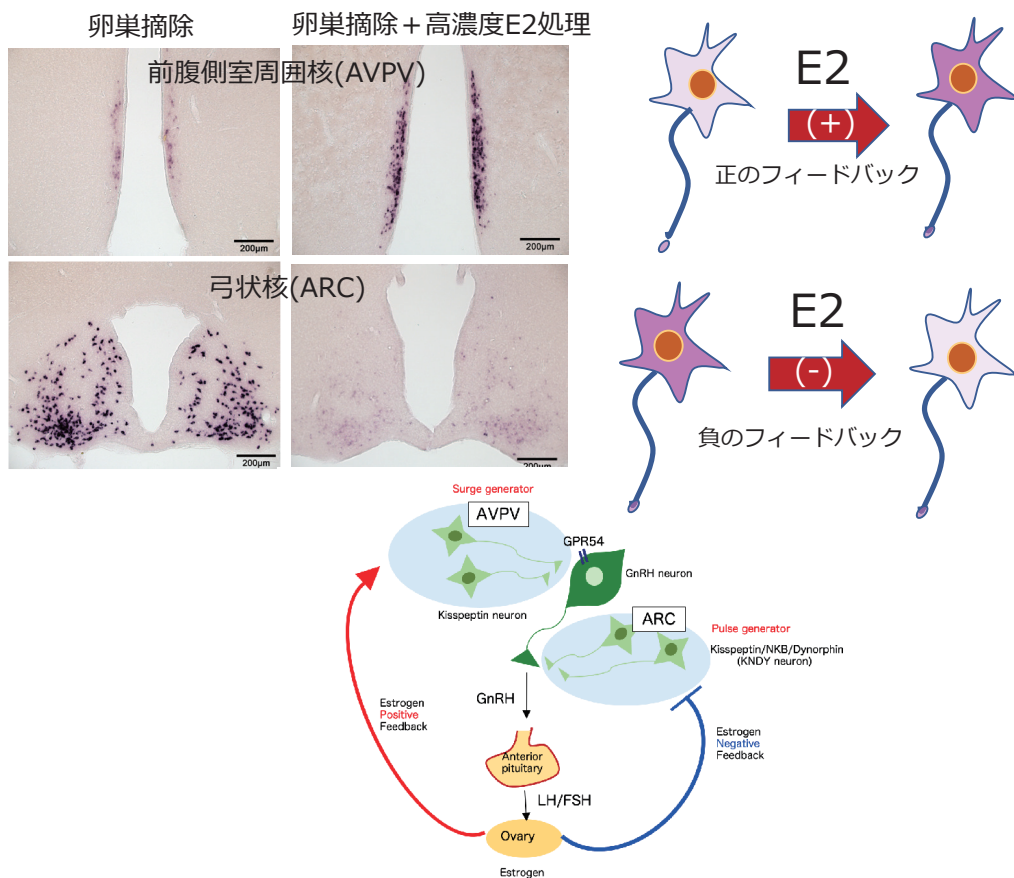


図 2 視床下部の 2 ヶ所に存在するキスペプチンニューロンと性ホルモン [エストロゲン] による異なったフィードバック制御

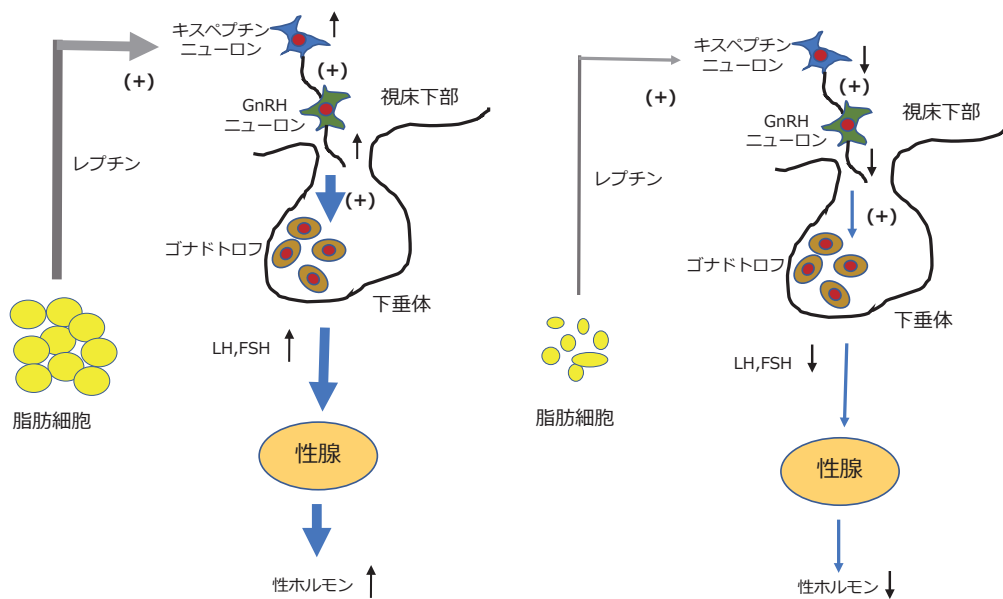
### 3. キスペプチンの生理機能

キスペプチンの生理作用の主軸は、GnRHニューロンを刺激し、HPG軸を活性化することにある。GnRHニューロン近傍にはキスペプチンニューロンの投射線維が観察され、GnRHニューロンには kisspeptin 受容体の発現が認められること、*in vitro*系における実験で、キスペプチンがGnRHニューロンの脱分極、発火頻度を高めるなどの生理学的結果から、キスペプチンとGnRHニューロンの密接な関連性がほぼ間違いないと認識されるに至っている<sup>14)</sup>。この基盤的作用を土台に、さらに以下の機能に関わっていることが認識されている。

**思春期誘導：**HPG軸が活性化され、性腺の成熟、性ステロイドホルモン分泌が誘導され、思春期発動となる。ヒトやラット、マウスではキスペプチンやキスペプチン受容体の欠落が生じると正常な思春期を迎えることが出来なくなる。また、多くの動物種においても思春期と関連してキスペプチンとキスペプチン受容体の発現が顕著に高まり、その結果GnRH-LH/FSH-性腺という従来の生殖機能調節系の活性化が誘導される。従って、キスペプチンは思春期を迎えるにあたっての「門」の役割を果たしていると言える。我々はラットのAVPVのキスペプチンニューロンとARCのキスペプチンニューロンの生後発生について免疫組織化学法を用いて解析したところ、AVPVのキスペプチンニューロンは生後3週目、ちょうど離乳の頃から発現し、生後34~35日頃の思春期前後には成熟動物とほぼ同様の発現頻度を示すようになることを明らかにした。一方、ARCのキスペプチンニューロン(KNDyニューロン)では生直後(恐らくは胎生の後期)より、既に発現が認められていることが判った<sup>10)</sup>。いずれも明らかな雌有意の発現である。AVPVのキスペプチンニューロンの発現の挙動は、思春期発現、特に雌の思春期における排卵現象と関連し、AVPVニューロンがGnRHやLH/FSHのサージ状分泌と関連することと併せて、論理的な動きであると解釈することが出来る。加えて、GnRHニューロンにおいて、思春期前後にはキスペプチンニューロンの投射が増えることも観察され、報告されている。また、思春期前後にはキスペプチン受容体の視床下部領域における発現の増加も報告されており<sup>15)</sup>、これらのことからキスペプチンニューロンの思春期前後における活性化は、GnRHニューロン以下のHPG軸の活性化を誘導し、その結果、生殖系の成熟が進み、思春期誘導に繋がるものと考えることが出来る。

**代謝エネルギー調節との連動：**レプチン(leptin)は脂肪細胞由来のホルモンで、摂食制御に関わることが知られているが、さらに生殖機能にも深い関係を持つ可能性が示唆されてきた。例えば、飢餓状態や過度なダイエットの結果、生殖機能障害(卵巣機能障害)が生じ、正常な月経発来が停止したり、生殖器の発育不全が生じたりすることが知られている。しかし、その詳細な機序に関しては十分に説明しきれない状態が長く続いた。Smith J, Steiner Rらの研究

グループは2006年に、GnRHニューロンの上流に位置し、GnRH分泌制御に直接関与することが判りつつあったキスペプチンニューロンにレプチン受容体が発現し、レプチンが直接この受容体を介してキスペプチンニューロンにおけるキスペプチン遺伝子の発現を制御しているのではという仮説の下、野生型のマウス、レプチンの発現が欠損する *ob/ob* マウス、*ob/ob* マウスにレプチンを補充したマウスの3群におけるキスペプチン遺伝子の発現を詳細に解析して報告した<sup>16)</sup>。この結果、*ob/ob* マウスでは野生型の（正常な）マウスに比べて、有意にキスペプチン遺伝子の発現が低下していることを見出した。In situ hybridization 法によるレプチン受容体 mRNA とキスペプチン mRNA 受容体の二重検出の結果、弓状核のキスペプチン発現ニューロンのほぼ40%でレプチン受容体の発現が低下していることが明らかとなり、レプチンの補充でレプチン受容体 mRNA の発現が回復を示すことが報告された。これらの結果は、キスペプチンニューロンではレプチン受容体が発現し、レプチンの直接的制御を受けることを示唆したものである。そして、低栄養など、レプチン欠乏状態がキスペプチン発現の低下を引き起こし、引いては生殖機能障害の一因となることを示唆する興味深い重要な知見を示した。また、キスペプチンニューロンには摂食制御ニューロンである NPY ニューロンや POMC ニューロンとの線維連絡も報告されており、適切なエネルギー状態においてキスペプチンニューロンの活性が高まり、例えば絶食やダイエット等によるエネルギー枯渇（飢餓）状態や激しい運動によって BMI が低下しすぎた状態になるとキスペプチンニューロン活性が低下し、その結果として従来の GnRH-LH/FSH-性腺の HPG 軸活性が低下して生殖機能障害を起こす可能性が考えられる。（図3）



適切な栄養, エネルギー代謝状態

不十分な栄養, エネルギー代謝状態

図3 栄養, エネルギー代謝と生殖機能調節系

一方、女性の肥満は、月経不順や不妊症など、生殖機能に悪影響を及ぼすことが知られている<sup>17)</sup>。肥満女性の血清レプチンレベルは、正常体重の被験者よりも高いと報告されている。げっ歯類では、レプチン受容体遺伝子の常染色体潜性特異的変異を有する Zucker fatty ラット (ZF ラット) が肥満モデルとして知られている。ZF ラットは高レプチン血症を示すにもかかわらず受容体変異のためにシグナル伝達が失われるため、過食と極度の肥満を示すが、ヘテロ接合体または野生型の Zucker lean ラット (ZL ラット) はこのような表現型を示さない。また、ZF ラットは不妊症と黄体形成ホルモン (LH) 分泌の抑制を示すが、LH サージ分泌はエストロゲンやプロゲステロンによって誘導される。

そこで、我々は、この特異的な肥満を示す ZF ラットの視床下部におけるキスペプチン発現、キスペプチンニューロンの観察を行ったところ、ZF ラットでは LH パルス発生に関与する ARC の KNDy ニューロンのキスペプチン、NKB、DynA の遺伝子 (mRNA) とタンパク質レベルが共に有意に低下していることを見出し、KNDy ニューロンの神経ペプチドの発現低下が LH パルスの減衰に関与していることを明らかにした<sup>18)</sup>。これはレプチンシグナル伝達の欠如と関係している可能性があり、これまでの研究で、レプチン活性の減衰を示す食餌制限ラットやレプチン欠乏症マウスでキスペプチンの発現が減少することと整合性の合う結果であると言えた。さらに、ZF ラットでは NKB と DynA の発現も低下していることから、レプチンは KNDy ニューロンの活性維持に関与しているようである。

ストレス応答シグナル：HPG 軸の有意な機能変化は、急性ストレスや免疫・炎症チャレンジの条件下でも観察され、これらはしばしばゴナドトロピン分泌の一過性の抑制と関連している。このような状況下で、視床下部の Kiss1 システムの変化により、このような状況の影響が伝わるかどうか評価されている。性腺刺激ホルモン分泌機能の変化に関連した急性炎症モデルとして細菌性リポポリサッカライド S (LPS) を投与した研究では、成熟雄ラットの ARC におけるキスペプチン免疫反応性レベルが有意に減少することが報告されている<sup>19)</sup>。同様に LPS を雌ラットに投与すると ARC と mPOA 領域で Kiss1 mRNA が有意に減少し、それに伴い一過性の LH 分泌が減少する<sup>20)</sup>。また、雄ラットでの研究では、kisspeptin 免疫反応の変化は単に LPS 注射に伴う食欲不振によるものではないことが報告されており、特定のホルモンや免疫エフェクターの関与が示唆されている。同じように、LPS 投与雄ではキスペプチンに対する LH 反応が検出されるが、その絶対的な大きさはストレス条件下で減少することがラットを用いた研究で示されている。このことは、摂食制限下でキスペプチンに対する LH 反応が増加する傾向と対照的であり、摂食量の減少とは無関係に、炎症に関連した変化が特異的に影響することを示唆するものである。

拘束ストレスやインスリン誘発性低血糖によるストレスは、雌ラットの LH の脈動放出に障害を与え、ARC や AVPV を含む Kiss1 (および/または Gpr54) mRNA レベルにも変化を誘

発した。実際、雌成体ラットに LPS を投与すると、キスペプチン受容体である Gpr54 の発現量も減少した。同様に、ストレス状態でのコルチコトロピン放出ホルモン（CRH）またはコルチコステロンの投与を行うと、ARC および AVPV における Kiss1 mRNA レベルが同様に減少する。したがって、異なるストレス様式が、CRH/ グルココルチコイドレベルの変化を介して、少なくとも部分的に Kiss1 システムの要素の発現に影響を与える可能性があると考えられる。また、GnRH/LH 分泌に悪影響を及ぼす外的ストレス要因であるアルコールの慢性摂取や大量摂取が、ARC や AVPV における Kiss1 遺伝子の基礎発現（反復投与）や IGF-I に対する反応（大量摂取）に阻害的な影響を与えることも証明されている<sup>21)</sup>。

さて、これらのストレス反応の情報伝達がどの様に HPG 軸に伝達され、生殖機能に栄養を与えているのかについては、明らかになっていなかった。そこで、我々はストレス応答シグナルがキスペプチンニューロンに伝達される可能性について観察を行った。その結果、キスペプチンニューロンにはストレス応答シグナルである CRH の線維投射が観察され、さらに CRH 受容体の発現も観察された。加えて同じくストレス応答シグナルと関わるグルココルチコイド受容体（GR）の発現も観察されたことから、キスペプチンニューロンがストレス応答系である視床下部-下垂体-副腎皮質（HPA）軸と生殖制御に関わる HPG 軸を仲介、連絡する役割を果たしていると考えられた<sup>22)</sup>。この連関によってストレスが加わると生殖機能調節系に影響を与える結果が生じるものと考えられた。（図 4）

妊娠・授乳期における作用：ヒトにおいては、妊娠中は胎盤性のキスペプチン分泌が増加するために、血中キスペプチン値が上昇することが知られているが、その生理作用に関してはまだまだよくわかっていない。妊娠による高血糖，子癇，早産などの妊娠に伴う問題との関連性など

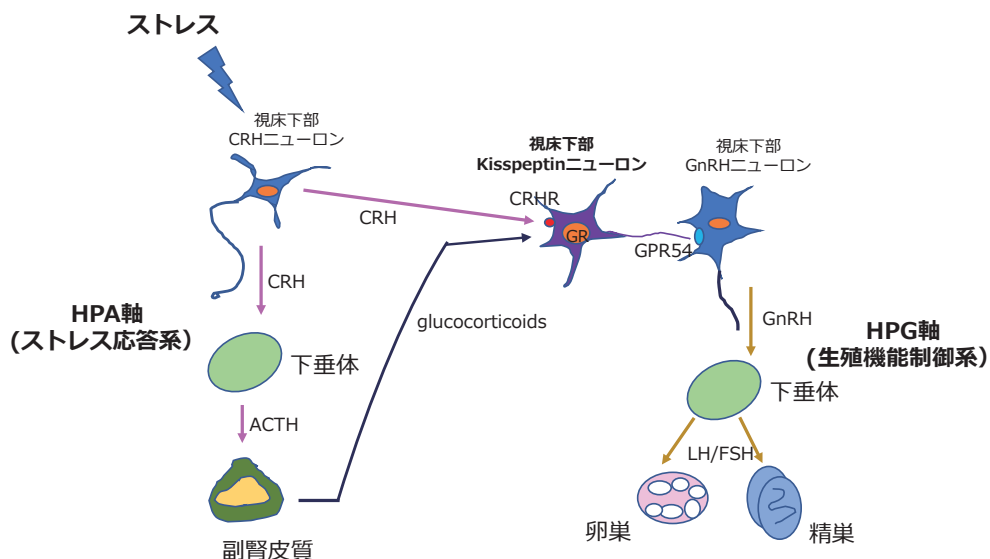


図 4 キスペプチンニューロンを介したストレス応答系 [HPA 軸] と生殖機能調節系 [HPG 軸] の連関



の研究が待たれるところである。授乳期に関しては、ラットにおける研究で、仔が母親の乳首に吸い付き授乳を受ける際に「吸飲刺激」が生じ、乳首から脊髄、中脳を介して視床下部 ARC に神経連絡され、そのシグナルは ARC の KNDy ニューロンに伝達されることを我々は見出した。さらに、その KNDy ニューロンの軸索は (GnRH ニューロンだけでなく)、視床下部背側弓状核に存在するドパミンニューロン (tuberoinfundebular dopamine (TIDA) neuron) に投射し、この TIDA ニューロンによる下垂体前葉からのプロラクチン (PRL) 分泌調整に関わる可能性を見出した<sup>23)</sup>。授乳期には生殖機能が抑制されて、受胎が生じないように調整されるが、その調節に KNDy ニューロン-ドパミンニューロン-PRL 分泌調節の経路が関わっている可能性を示唆したものである。PRL が高値になると生殖機能が抑制されることが知られており、臨床的な高 PRL 血症時の生殖機能制御 (無月経や不妊など) との関連にも関わっている可能性を示唆するものである。

#### 4. キスペプチンを統合中枢とする新しい HPG 軸による生殖機能制御系の再考

旧来の HPG 軸の上位にキスペプチンニューロンが加わり、キスペプチン-GnRH-LH/FSH-性腺という新しい軸とこれに対する内外の環境因子との関連性が明らかになってきた。(図5) この新しい概念の中で生殖機能制御の仕組みを改めて見直す必要が出てきた。産婦人科疾患、

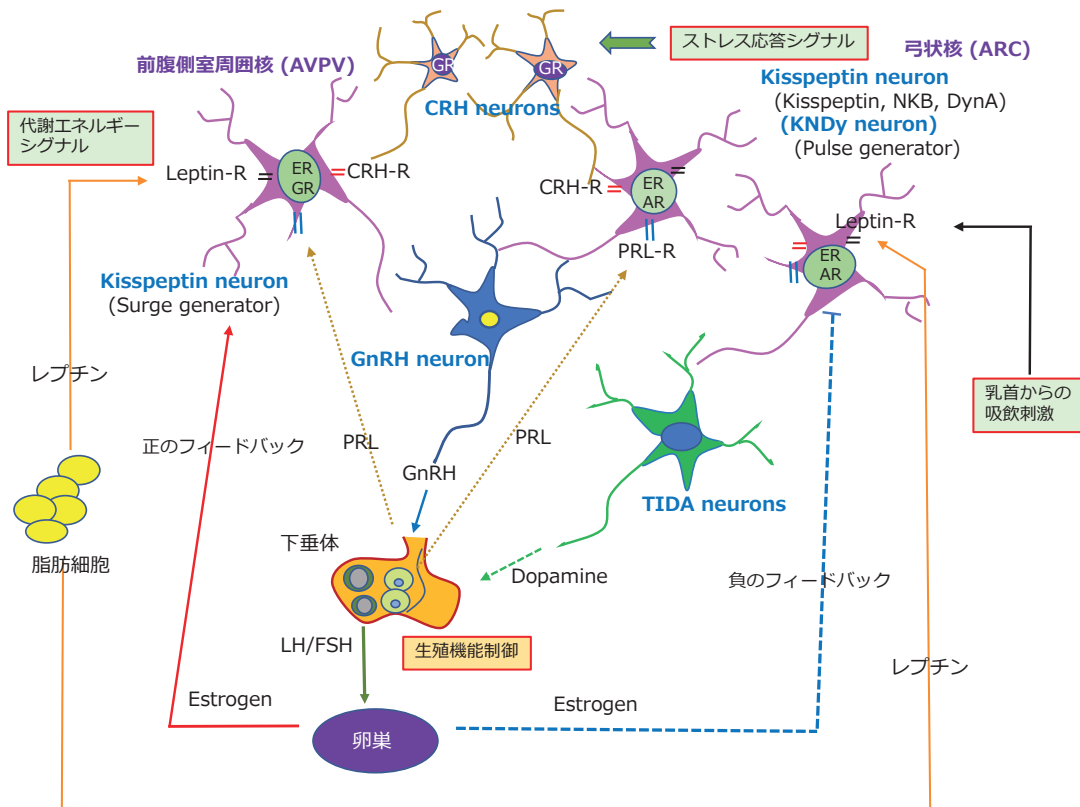


図5 キスペプチンニューロンを統合中枢とする新しい生殖機能調節系の仕組み

特に性ステロイドホルモンとの関連性の高い疾患において、このキスペプチン-GnRH-LH/FSH-性腺という軸に基づく考察が必要であろうと思われる。

例えば多嚢胞性卵巣症候群（polycystic ovary syndrome ; PCOS）は月経異常、多嚢胞卵胞、高アンドロゲン血症または LH 高値を呈する疾患である<sup>24)</sup>。幼少期から慢性的にアンドロゲン（男性ホルモン）の一種である DHT (5 $\alpha$ -dihydrotestosterone) を投与することによって作成した高アンドロゲン血症を呈する PCOS モデル雌ラットを作製して中枢系の生殖機能制御に関わるシステムを組織細胞化学的に観察したところ、卵胞では多嚢胞を示し、中枢では視床下部の弓状核の KNDy ニューロンにおけるキスペプチン発現が強く抑制され、LH 分泌が完全に抑制されている状態であることを見出した<sup>25)</sup>。この際に GnRH ニューロンにおいては著明な発現変化を示さない。このモデルラットではヒトの PCOS と解離する病態生理もあるが、基礎的なデータとして今後の PCOS 研究に応用できるものでもあろう。また、老齢ラットを用いたキスペプチンの発現変化の研究は、更年期や更年期障害を考える上に応用できるデータと考えられる<sup>26)</sup>。さらには「将来の健康や特定の病気へのかかりやすさは、胎児期や生後早期の環境の影響を強く受けて決定される」可能性を示唆する DOHad (Developmental Origins of Health and Disease) 仮説に基づく実験から、胎児期の母親のダイエット等によるエネルギー代謝・栄養の変動やホルモンバランスの変化などが、仔の出生後の成長や成体となったときの kisspeptin を統合中枢とする生殖制御機構に変化や「変動を引き起こす可能性も見出しつつある<sup>27,28)</sup>。このように、様々な応用研究への展開が行われている。

## 5. 終わりに

キスペプチン及びキスペプチン受容体の発見は、生理学、神経内分泌学、神経科学の教科書を書き直す必要のある大きな事象であると言っても過言ではなく、実際、改定等が進み始めている。特に思春期発動のきっかけの仕組みの解明は非常に大きな意味、意義を有することである。思春期前後の生殖機能発達はそれに伴う高次脳機能の発達と併せて重要な研究対象である。キスペプチンニューロンを統合中枢とする新しい生殖機能制御系とそこに連絡する神経ネットワークの様々な解析が進み、今なお研究は進行している。キスペプチン研究、キスペプチンを基盤とする新しい生殖制御機能の解析、様々な環境要因との関連性の研究は、生殖神経科学、生殖神経内分泌学といった基礎科学のみならず、関連する産婦人科学、小児科学、精神医学といった臨床医学領域にも波及する重要な研究課題といえる。

### 〔参考文献〕

- 1) De Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KISS-1 derived peptide receptor GPR54. Proc Natl

- Acad Sci USA. 100: 10972-10976 (2003)
- 2) Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med.* 349: 1614-1627 (2003)
  - 3) Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, et al. AXOR2, a novel human G protein-coupled receptor, activated by peptide KISS-1. *J Biol Chem.* 276: 28969-28975 (2001)
  - 4) Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature.* 411: 613-617 (2001)
  - 5) Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and Reproduction: Physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev.* 2012; 92: 1235-1316
  - 6) Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, et al. Involvement of anteroventral periventricular metastin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on luteinizing hormone release in female rats. *J Reprod Dev.* 53: 367-378 (2007)
  - 7) Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of *Kiss1* gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 146: 3686-3692 (2005)
  - 8) Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus, sexual dimorphism and projection to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 147: 5817-5825 (2006)
  - 9) Iijima N, Takumi K, Sawai N, Ozawa H. An immunohistochemical study on the expressional dynamics of kisspeptin neurons relevant to GnRH neurons using a newly developed anti-kisspeptin antibody. *J Mol Neurosci.* 43: 146-54 (2011)
  - 10) Takumi K, Iijima N, Ozawa H. Developmental changes in the expression of kisspeptin mRNA in rat hypothalamus. *J Mol Neurosci.* 43: 138-145 (2011)
  - 11) Higo S, Iijima N, Ozawa H. Characterization of *Kiss1r*(Gpr54r)-expressing neurones in the arcuate nucleus of the female rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 29 (epub) (2017)
  - 12) Murakawa H, Iwata K, Takeshita T, Ozawa H. Immunoelectron microscopic observation of the subcellular localization of kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A in KNDy neurons in the arcuate nucleus in the female rats. *Neurosci Lett* 612: 135-139 (2018)
  - 13) Ramaswamy S, Gibbs RB, Plant TM. Structural interaction between kisspeptin and GnRH neurons in the mediobasal hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by double immunofluorescence and confocal microscopy. *Endocrinology* 149: 4387-4395 (2008)
  - 14) Roseweir AK, Kauffman AS, Smith JT, Gueriero KA, Morgan K, Pielecka-Fortuna J, Pineda R, Gottsch ML, Tena-Sempere M, Moenter SM, Terasawa E, Clarke IJ, Steiner RA, Miller RP. Discovery of kisspeptin antagonists delineate physiological mechanisms of gonadotropin regulation. *J Neurosci* 29: 3920-3929 (2009)
  - 15) Navarro VM, Castellano JM, Fernandez R, Barreiro M, Roa J, Sanchez-Criado JE, Aguillan E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. Development and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of *Kiss-1* and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing-releasing hormone activity of *Kiss-1* peptide. *Endocrinology* 145: 1689-1697 (2004)
  - 16) Smith JT, Acohido BV, Clifton DK, Steiner RA. *KiSS-1* neurons are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *J Neuroendocrinol* 18: 298-303 (2006)

- 17) Broughton DE and Moley KH. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertil. Steril.* 107: 840-847 (2017)
- 18) Nakao K, Iwata K, Takeshita T, Ozawa H. Expression of hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A neurons attenuates in female Zucker fatty rats. *Neurosci Lett* 665: 135-139 (2018)
- 19) Castellano JM, Bentsen AH, Romero M, Pineda R, Ruiz-Pino F, Garcia-Galiano P, Snachez-Garrido MA, Pinilla L, Mikkelsen JD, Tena-Sempere M. Acute inflammation reduces kisspeptin immunoreactivity at the arcuate nucleus and decreases responsiveness to kisspeptin independently of its anorectic effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 299: E54-E61 (2010)
- 20) Kinsey-Jones JS, Li XF, Knox AM, Wilkinson ES, Zhu XL, Chandhary AA, Milligan SR, Lightman SL, O'Byrne KT. Down-regulation of hypothalamic kisspeptin and its receptor, Kiss1r, mRNA expression is associated with stress-induced suppression of luteinizing hormone secretion in the female rats. *J. Neuroendocrinol* 21: 20-29 (2009)
- 21) Hiney JK, Srivastava UK, Les Dees W. Insulin-like growth factor-1 stimulation of hypothalamic Kiss-1 expression is mediated by Akt: effects of alcohol. *Neuroscience* 166: 625-632 (2010)
- 22) Takumi K, Iijima N, Higo S, Ozawa H. Immunohistochemical analysis of the colocalization of corticotropin-releasing hormone receptor and glucocorticoid receptor in kisspeptin neurons in the hypothalamus of female rats. *Neurosci Lett* 531: 40-45 (2012)
- 23) Higo S, Aikawa S, Iijima N, Ozawa H. Rapid modulation of hypothalamic *Kiss1* levels by the suckling stimulus in the lactating rat. *J Endocrinol* 227: 105-115 (2015)
- 24) Goodman NF, Bledsoe MB, Cobin RH, Futterweit W, Goldzieher JW, Petak SM, Smith KD, Steinberger E & American Association of Clinical Endocrinologists Hyperandrogenic Disorders Task F. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for the clinical practice for the diagnosis and treatment of hyperandrogenic disorders. *Endocrine Practice* 7 120-7134 (2001).
- 25) Iwata K, Kunimura Y, Matsumoto K, Ozawa H. Effect of androgen on Kiss1 expression and luteinizing hormone release, *J Endocrinol.* 233: 281-292 (2017)
- 26) Kunimura Y, Iwata K, Ishigami A, Ozawa H. Age-related alterations in hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin neurons and in pulsatile LH release in female and male rats. *Neurobiol Aging.* 50: 30-38 (2017)
- 27) Minabe S, Sato M, Inoue N, Watanabe Y, Magata F, Matsuda F, Uenoyama Y, Ozawa H, Tsukamura H. Neonatal estrogen causes irreversible male infertility via specific suppressive action on hypothalamic Kiss1 neurons. *Endocrinology* 160: 1223-1233 (2019)
- 28) Minabe S, Iwata K, Tsuchida H, Tsukamura H, Ozawa H. Effect of diet-induced obesity on kisspeptin-neurokinin B-dynorphin A neurons in the arcuate nucleus and luteinizing hormone secretion in sex hormone-primed male and female rats. *Peptides* 142: 170546 (epub) (2021)

（おざわ ひとし 理学療法学科）

2022年9月27日受理