

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 Study on artificial control of reproductive functions
by KNDy neuropeptides as a pharmacological target in goats
(ヤギにおける KNDy ニューロペプチドを創薬ターゲットとした
繁殖機能の人為的制御に関する研究)

氏名 佐々木 拓弥

論文内容の要旨

現在、世界人口が爆発的に増加しており、2050年には91億人に到達すると予想されている。人口の爆発的増加に伴い、穀物および畜産物の需要が増加し、2050年までに穀物生産を現在の約21億トンから30億トンに、また、食肉生産は約1億トン以上増加させ3億1900万トンにする必要があるとされている。一方、穀物生産が可能な耕作地はほぼ上限に達しているとの報告もあることから、増え続ける世界人口を養うためには限られた資源を有効に活用し、効率的に穀物および畜産物を生産する必要がある。畜産の現場では、ウシの受胎率低下が世界的な問題となっており、卵巢機能障害が受胎率低下の一因であるとされている。受胎率低下は家畜の生産性低下および畜産農家の経済的損失に直結するため、ウシの卵巢機能を向上させ受胎率を改善する繁殖促進技術が求められている。一方、穀物生産においてシカなどの野生害獣による農作物被害が深刻化しており、効率的な穀物生産の大きな妨げとなっている。そのため、農作物被害を軽減するために、シカなどの野生害獣の個体数を管理することを目的とした非外科的かつ可逆的な避妊方法が必要とされている。ウシの卵巢機能の向上や、シカなどの野生害獣の性腺機能の抑制のためには、性腺機能を制御する神経内分泌機構を薬理的に制御することがひとつの方法となる。

反芻動物を含む哺乳類の性腺機能は視床下部-下垂体-性腺軸により制御される。視床下部から分泌される性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は下垂体からの黄体形成ホルモン (LH) および卵胞刺激ホルモン (FSH) などの性腺刺激ホルモン (GTH) 分泌を促進する。基底レベルの GnRH 分泌は「パルス状」とよばれる間欠的な濃度上昇を繰り返すことが知られている。パルス状 GnRH 分泌は、下垂体からの正常な GTH 分泌および性腺における配偶子形成、テストステロンやエストロゲンなどの性ステロイドホルモンの合成と分泌に必要な不可欠であることが古くから示されてきた。パルス状 GnRH 分泌を発生させる神経内分泌メカニズムは GnRH パルスジェネレーターとよ

ばれ、視床下部弓状核に存在することが示唆されている。

視床下部弓状核に局在するキスペプチンニューロンは、ニューロキニン B (NKB) およびダイノルフィン A (Dyn) を共発現し、それぞれの頭文字をとって「KNDy ニューロン」とよばれている。これまでに、この KNDy ニューロンが GnRH パルスジェネレーターの本體であるとの仮説が有力となっている。マウスおよびヒツジにおいて、KNDy ニューロンが NKB 受容体 (NK3R) および Dyn 受容体 (KOR) を発現することが明らかとなっており、NKB が NK3R を介して促進的に、Dyn が KOR を介して抑制的に KNDy ニューロンの活動を制御するモデルが提唱されている。このように、KNDy ニューロンが性腺機能を制御するパルス状 GnRH 分泌の発生に重要な役割を果たすことから、薬理的な KNDy ニューロン活動の促進は、卵巣機能を向上させ、卵巣静止や卵胞嚢腫などの卵巣機能障害に対する有効な治療法となり得ると考えられる。一方、KNDy ニューロンの活動の薬理的な抑制は、性腺機能を抑制して一時的な不妊状態を作り出すことができると考えられる。そこで、本研究では KNDy ニューロンに発現する NKB および Dyn に着目し、GnRH パルスジェネレーターの薬理的制御により繁殖機能を人為的に制御することを目的とした。そのため、反芻動物の繁殖生理学的研究の良好なモデル動物であるシバヤギを用いて、KOR 拮抗剤および NK3R 拮抗剤の末梢投与が GnRH パルスジェネレーター活動におよぼす影響を検討した。

第 2 章では、ウシの受胎率改善に資する繁殖機能促進技術を確立することを目的として、卵巣除去後にエストラジオール (E2) を代償投与したメスヤギにおいて KOR 拮抗剤の末梢投与が GnRH パルスジェネレーター活動およびパルス状 LH 分泌におよぼす影響を検討した。まず、KOR 拮抗剤を静脈内持続投与し、投与前および投与期間中に採血を行い、血漿中 LH 濃度をラジオイムノアッセイ (RIA) 法により測定した。次に、畜産現場での応用を視野に入れ、簡便な投与方法である皮下単回投与により KOR 拮抗剤を投与し、投与前後のパルス状 LH 分泌の変化を検討した。さらに、末梢投与した KOR 拮抗剤の作用部位を明らかにするために、KOR 拮抗剤の静脈内持続投与が GnRH パルスジェネレーター活動におよぼす影響を多ニューロン発火活動 (MUA) 記録法を用いて検討した。メスヤギにおいて、KOR 拮抗剤の静脈内持続投与は用量依存的にパルス状 LH 分泌を促進した。また、KOR 拮抗剤の皮下単回投与により、用量依存的に LH パルス間隔が短縮し、平均血漿中 LH 濃度および LH 濃度曲線下面積が有意に増加した。さらに、KOR 拮抗剤の静脈内持続投与により、GnRH パルスジェネレーターの活動が促進された。このことから末梢投与した KOR 拮抗剤は中枢性に GnRH パルスジェネレーターの活動を促進することが示唆された。簡便な投与方法である皮下単回投与で GnRH パルスジェネレーター活動の促進効果が得られたことから、KOR 拮抗剤の末梢投与が繁殖機能を促進する技術として応用可能であることが示された。

第 3 章では、シカの個体数管理に資する繁殖機能抑制法を確立することを目指し、卵巣除去後に E2 を代償投与したメスヤギにおいて、NK3R 拮抗剤の末梢投与が GnRH パルスジェネレーター活動におよぼす影響および NK3R 拮抗剤の経口投与がパルス状 LH 分泌におよぼす影響を検討した。まず、NK3R 拮抗剤を静脈内持続投与し、MUA

記録法により NK3R 拮抗剤が中枢性に GnRH パルスジェネレーターに作用するか検討した。次に、野生動物への応用を視野に入れ、より簡便な投与方法である NK3R 拮抗剤の経口投与を検討した。経口投与開始日を Day 1 とし、NK3R 拮抗剤を Day 1 から Day 7 までの 7 日間投与し、投与前後に採血を行なった。血漿中 LH 濃度を RIA 法により測定し、NK3R 拮抗剤の経口投与がパルス状 LH 分泌におよぼす影響を検討した。その結果、NK3R 拮抗剤の静脈内持続投与により GnRH パルスジェネレーター活動が抑制された。また、NK3R 拮抗剤の経口投与開始から投与終了までの期間、パルス状 LH 分泌が抑制され、投与終了後にはパルス状 LH 分泌は投与開始前の状態に回復した。以上のことから、NK3R 拮抗剤の末梢投与は GnRH パルスジェネレーターに作用してパルス状 LH 分泌を可逆的に抑制することが明らかとなった。このことから、NK3R 拮抗剤の経口投与が非外科的かつ可逆的な避妊方法として、野生害獣の個体数管理に応用できる可能性が示された。

第 4 章では、シカの個体数管理に資する繁殖機能抑制法を確立することを目指し、オスヤギにおける NK3R 拮抗剤の経口投与が GTH 分泌、テストステロン分泌および精巣機能におよぼす影響を検討した。経口投与開始日を Day 1 とし、NK3R 拮抗剤を Day 1 から Day 7 までの 7 日間投与した。投与前である Day 0、投与中である Day 7 に採血を行い、血漿中 LH および FSH 濃度を RIA 法により、血漿中テストステロン濃度をエンザイムイムノアッセイ法によりそれぞれ測定した。また、Day -1 および Day 8 に射出精液を採取し、NK3R 拮抗剤が精子運動率および精子数におよぼす影響を検討した。さらに Day 8 に精巣を採取し、NK3R 拮抗剤が精巣の形態におよぼす影響を組織学的に検討した。オスヤギにおいて、NK3R 拮抗剤の経口投与により、精子運動率が対照群と比較して減少傾向を示したが、射出精液中の精子数には影響をおよぼさなかった。また、NK3R 拮抗剤の経口投与により、テストステロン分泌が減少傾向を示したが、投与期間中の LH および FSH 分泌には影響をおよぼさなかった。さらに、NK3R 拮抗剤を経口投与した一部の個体において、精巣内の精細管の萎縮が観察されたが、対照群との明瞭な差は観察されなかった。以上のことから、NK3R 拮抗剤の経口投与はテストステロン分泌および精子運動率を減少させる傾向を示すが、精巣機能には明瞭な影響をおよぼさないことが明らかとなった。本研究の結果から、NK3R 拮抗剤の経口投与が野生害獣の性腺機能抑制に有効である可能性が示されたが、投与用量の検討をはじめとしたさらなる研究が必要であることも示された。

以上、本研究により、KOR 拮抗剤および NK3R 拮抗剤の末梢投与により人為的に GnRH パルスジェネレーターの活動を促進あるいは抑制することで、動物の繁殖機能を制御できることが明らかとなった。本研究により、KNDy ニューロンに発現する神経ペプチドを創薬ターゲットとすることで、人為的に GnRH パルスジェネレーター活動ひいては繁殖機能を制御できることが示された。本研究の成果は、家畜の繁殖機能促進技術あるいは野生害獣の個体数管理技術に応用が可能であり、効率的な畜産物生産および野生害獣による農作物被害の軽減に寄与することが期待できる。