

Studies on the Kisspeptin System in the Reproduction of Chub Mackerel, *Scomber Japonicus*

大賀, 浩史

<https://hdl.handle.net/2324/1441299>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 大賀 浩史

論文題目 : Studies on the Kisspeptin System in the Reproduction of Chub Mackerel,
Scomber japonicus
(マサバの生殖におけるキスペプチンシステムに関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の性成熟は、生殖に関わる脳-脳下垂体-生殖腺を結ぶ内分泌軸 (BPG-axis) を構成する各種因子が活性化することにより引き起こされる。キスペプチン (Kiss) は、脳でつくられる生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) を上流で制御する因子として、近年哺乳類で発見された神経ペプチドである。最近、魚類でも Kiss とその受容体遺伝子が発見され、いくつかの種では 2 種の Kiss 遺伝子および 2 種の Kiss 受容体遺伝子が報告されているが、魚類の性成熟における Kiss の機能は未だ不明である。これまでに我々の研究グループは、代表的な有用魚種の一つであるマサバを研究対象にして、マサバが *kiss1* および *kiss2* の 2 種の Kiss 遺伝子をもつことを確認するとともに、それぞれの mRNA 発現量が生殖周期に伴って特徴的な変動を示すことを見出した。本研究では、マサバの生殖に関わる Kiss の機能解明を目的として以下の研究を行った。

マサバの Kiss 受容体の遺伝子クローニングの結果、G タンパク質共役型受容体で、それぞれ 369 および 378 アミノ酸をコードしている 2 種の Kiss 受容体 (*kissr1* および *kissr2*) を単離した。つぎに、遺伝子情報に基づき合成したマサバ Kiss1-15 (QDMSSSYNFNSFGLRY-NH₂) および Kiss2-12 (SNFNFNPFGLRF-NH₂) をリガンドとして、CHO 細胞に発現させた Kiss 受容体 (KissR1 および KissR2) とのシグナル伝達をレポーター遺伝子アッセイにより解析した。その結果、KissR1 は Kiss1-15 に、また KissR2 は Kiss2-12 に高い結合親和性をもつ、それぞれの固有受容体であることを示すとともに、これら Kiss 受容体へのシグナルは、PKC/MAPKs 経路で伝達されることを明らかにした。

初回成熟過程のマサバを用いて、2 種 Kiss、2 種 Kiss 受容体および 3 種 GnRH のうち生殖に係る GnRH1 の脳内における遺伝子量を測定した。その結果、雄では初回成熟開始 (精母細胞の出現) 直前に *kiss2* が有意に増加した。一方、雌では初回成熟開始 (卵母細胞への卵黄の蓄積) 直前に *kiss1*, *kiss2*, *kissr1*, *kissr2* および *gnrh1* が同調して増加したことから、本種の雌の初回成熟過程に、GnRH を介した Kiss システムが関与していることが示唆された。

雌雄親魚の生殖年周期に伴う生殖腺における Kiss 受容体遺伝子の発現量を解析した結果、精巣での *kissr1* 発現量は未熟期から精子形成期および排精期にかけて顕著な上昇を示したが、卵巣では、*kissr1* および *kissr2* の発現は認められなかった。これらの結果は、精巣が Kiss の標的器官の一つであり、BPG-axis を介さない Kiss の作用機構が存在する可能性を示すものである。

マサバの脳内への薬物投与方法を開発し、Kiss の生理作用を、*gnrh1* および 2 種の生殖腺刺激ホルモンサブユニット遺伝子 (*fshβ*, *lhβ*) の発現量変化で評価した。すなわち、産卵期前の未成熟の雌雄マサバ成魚を用いて、第 3 脳室内へ 2 種の合成 Kiss (Kiss1-15 および Kiss2-12) を投与し、6 および 12 時間後に採集した。その結果、雄の脳内 *gnrh1* に変化は認められなかったが、雌では Kiss1-15 および Kiss2-12 を投与した個体で、それぞれ 12 時間後に脳内 *gnrh1* の有意な減少が認められた。さらに、Kiss2-12 を投与した雌雄において、12 時間後に脳下垂体内の *fshβ* および *lhβ* の有意な上昇が認められ、Kiss 投与がマサバの脳内 *gnrh1* や脳下垂体内 *fshβ* および *lhβ* の発現に直接影響を及ぼすことを明らかにした。

以上、本研究は、初めて魚類における Kiss 受容体とリガンドとの結合特性を明らかにするとともに、脳内投与法の開発により、Kiss の機能解明に大きく寄与した。今後、本種を用いた、魚類の生殖における Kiss の機能研究が進展することが期待される。