

- W., Bill, E., Roseboom, W., & Albracht, S.P.J. (2004) *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 14239–14248.
- 12) Korbas, M., Vogt, S., Meyer-Klaucke, W., Bill, E., Lyon, E.J., Thauer, R.K., & Shima, S. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 30804–30813.
- 13) Shima, S., Lyon, E.J., Thauer, R.K., Mienert, B., & Bill, B. (2005) *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 10430–10435.
- 14) Pilak, O., Mamat, B., Vogt, S., Hagemeyer, C.H., Thauer, R.K., Shima, S., Vonrhein, C., Warkentin, E., & Ermler, U. (2006) *J. Mol. Biol.*, 358, 798–809.
- 15) Shima, S., Pilak, O., Vogt, S., Schick M., Stagni, M.S., Meyer-Klaucke, W., Warkentin, E., Thauer, R.K. & Ermler, U. (2008) *Science*, 321, 572–575.
- 16) Böck, A., King, P.W., Blokesch, M., & Posewitz, M.C. (2006) *Adv. Microbial Physiol.*, 51, 1–71.

嶋 盛吾

(マックスプランク陸生微生物学研究所)

The structure of the [Fe]-hydrogenase and the convergent evolution of the active site of hydrogenases
Seigo Shima (Max-Planck-Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch Strasse, D-35043 Marburg, Germany)

GnIH と GnIH 同属ペプチド(LPXRamide ペプチド)：構造と機能の普遍性と多様性

はじめに

ホルモン (hormone) はギリシャ語の *harmao* (Iexcite, “呼び覚ますもの”) を語源とする。古くは、特殊な構造を持った内分泌腺から血液中に分泌され、標的器官に到達してその作用を発揮するものをホルモンとして定義した。従って、内分泌細胞の分泌物をホルモン、ニューロンの分泌物を神経伝達物質または神経調節因子として、区別した。しかし、脳のニューロンがホルモンを分泌する現象である“神経分泌”が発見されると、それまでの古いホルモンの定義が見直されるようになった。

“神経分泌”の概念は1920年代にScharrerにより提唱され、その後1949年にBargmannにより確立された。間脳の一部である視床下部のニューロンには、その終末が効果器官とシナプスを持たず、下垂体後葉(神経葉)に終末しているものが存在する。Scharrerは、視床下部にある視索上核や室傍核のニューロンが下垂体後葉(神経葉)に投射している構造に着目して、このニューロンは“ホルモンのようなもの(神経葉ホルモン)”を下垂体後葉(神経葉)か

ら分泌していると考えた。この考えは当時の研究者や学会からは受け入れられず、むしろ異常な現象の観察として批判された。しかし、Scharrerの学説はBargmannの精力的な研究により実証された。1953年に、下垂体後葉から分泌されるホルモンがバソプレッシンやオキシトシンなどの短鎖のニューロペプチドであることが明らかになった。脳がつくるペプチドホルモンの中で最初にその構造が明らかにされたのがこのバソプレッシンとオキシトシンである。

一方、やや遅れて、視床下部ニューロンが合成するホルモンが腺性下垂体(主葉)の機能を調節していることも明らかにされた。視床下部の腹側には下垂体後葉とよく似た構造を持つ正中隆起と呼ばれる領域がある。ある種の視床下部ニューロンは血管壁に接する正中隆起に終末しており、終末内には分泌顆粒が多く存在する。GreenとHarrisは、視床下部ニューロンが神経液性物質を正中隆起の終末から下垂体門脈に分泌することで、腺性下垂体のホルモン分泌機能を調節していると考えた。この学説を証明したのが“The Nobel Duel (ノーベル賞の決闘)”で知られる1969年のSchallyのグループとGuilleminのグループによる甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(gonadotropin-releasing hormone; GnRH; 当初は放出因子としてLHRHと呼ばれた)¹⁾、成長ホルモン抑制ホルモン(ソマトスタチン, GIH)などのニューロペプチドの発見である。これらの発見により、SchallyとGuilleminは共に1977年にノーベル生理学医学賞を受賞した。彼らが発見した脳ホルモンはいずれも短鎖のニューロペプチドであり、視床下部のニューロンでつくられ、腺性下垂体(主葉)の機能を調節する重要な役割を持つ。発見されたニューロペプチドは腺性下垂体ホルモンの放出を調節することにより、動物の生殖、成長、代謝などの調節に中心的な役割を果たす重要な脳ホルモンである。これらの脳ホルモンは視床下部ニューロンが合成・分泌することから、視床下部ホルモンとも呼ばれる。

1. GnIHの発見

1970年代初めにSchallyとGuilleminにより生殖腺刺激ホルモンの放出を促進させる脳ホルモンであるGnRH¹⁾が視床下部から発見されて以来、脊椎動物の生殖腺の発達と機能は視床下部ニューロンのGnRHに支配されていると考えられてきた。一方、生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する脳ホルモンの存在は長く不明であった。2000年に、筆者らのグループは生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する新規の脳ホルモンを鳥類のウズラの視床下部から発見し

て、生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン (GnIH) と名付けた²⁾ (図1)。この発見はこれまでの常識を覆すものであった。

1980年代以降、C末端側に Arg-Phe-NH₂ (RFamide) 構造を持つ新規のニューロペプチドが脊椎動物の脳神経系に存在していることが示唆されるようになった。筆者らはウズラの脳から RFamide 抗体と免疫陽性反応を示す物質の単離を行い、化学構造の決定を試みた。単離できた免疫陽性物質は、12アミノ酸残基からなる Ser-Ile-Lys-Pro-Ser-Ala-Tyr-Leu-Pro-Leu-Arg-Phe-NH₂ という構造の新規の RFamide ペプチドであった²⁾。単離した新規 RFamide ペプチドの抗体を作製し、免疫組織化学的解析により脳内でこのペプチドの局在と分布を調べた。新規 RFamide ペプチドは、視床下部の室傍核ニューロンの細胞体に局在しており、このニューロンの神経線維は正中隆起に終末していることが明らかになった²⁾ (図1)。新規 RFamide ペプチドは正中隆起の終末から下垂体門脈に分泌された後に、腺性下垂体に作用し、何らかの腺性下垂体ホルモンの分泌調節に

関わっていることが予想された。そこで、腺性下垂体の培養細胞を用いて新規 RFamide ペプチドの生理作用を *in vitro* で解析した。その結果、新規 RFamide ペプチドは生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制することが明らかとなり、GnIH と名付けた²⁾ (図1)。

これまで生殖腺刺激ホルモンの放出は GnRH によって促進され、生殖腺が分泌する性腺ステロイドホルモンやインヒビリンといったホルモンによるネガティブフィードバックにより抑制されることが知られていた。生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する視床下部の液性因子の同定は GnIH が初めてである。その後の研究により、GnIH の生殖腺刺激ホルモン放出抑制作用は *in vivo* での投与実験でも確認され、GnIH は生殖腺の発達と機能を抑制する重要な働きがあることが証明された³⁾。GnIH の発見によりこの研究分野に新しい領域が開拓された。

ウズラで発見された GnIH は他の鳥類にも存在しており、同じキジ目のニワトリやスズメ目のミヤマシトドでも同様に生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する作用がある⁴⁾ (表1)。また、GnIH をコードしている前駆体遺伝子のクローニングをこれらの鳥類で行ったところ、前駆体タンパク質には、GnIH に加え C 末端側の配列が GnIH とよく似た GnIH 遺伝子関連ペプチドがさらに二つコードされていることも明らかとなった^{4,5)} (表1)。これら GnIH 遺伝子関連ペプチドの作用については現在解析中であり、新たな生理作用が発見される可能性が高い。

2. GnIH の発現制御機構と作用機構

鳥類の生殖腺の発達は、光周期の影響を受けており、この光環境情報を体内の内分泌環境に変換する脳ホルモンが松果体と目の網膜で作られるメラトニンである。メラトニンが生殖を抑制することは古くから知られていたが、その作用機構は不明であった。筆者らは、メラトニンが GnIH の発現を誘導することによって生殖腺の発達と機能を抑制しているのではないかと考えて一連の研究を行った。その結果、メラトニンは GnIH の発現を高めることがわかった⁶⁾ (図1)。さらに、GnIH ニューロンには Mel_{1c} というメラトニン受容体が存在しており、メラトニンはこの受容体を介して GnIH の発現を誘導していることも明らかになった⁶⁾ (図1)。メラトニンは暗期に松果体から放出されるホルモンであるため、暗期が長くなる短日条件下ではメラトニンの放出量が高まり、GnIH の発現が増加する⁶⁾。メラトニンの GnIH を誘導する作用により、短日下での鳥類の生殖腺の退化が引き起こされると考えられる。

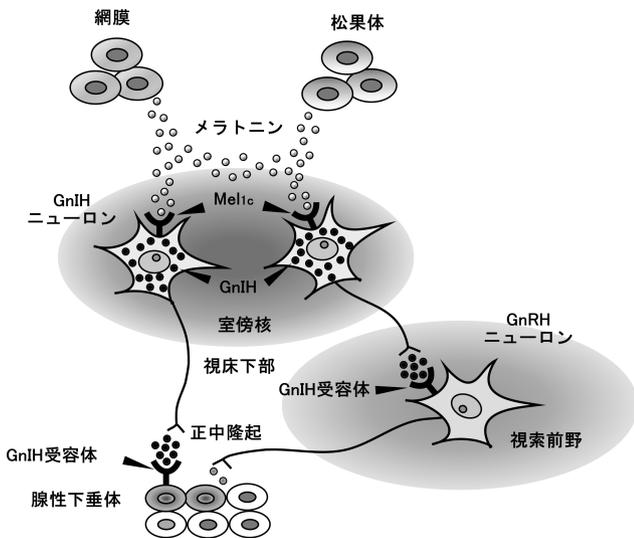


図1 GnIH の発現制御機構と作用機構

GnIH は視床下部の室傍核にある GnIH ニューロンで合成される。GnIH ニューロンには Mel_{1c} というメラトニン受容体が存在しており、メラトニンはこの受容体を介して GnIH の発現を誘導する。GnIH は正中隆起に投射する GnIH ニューロンの終末から分泌され、腺性下垂体に存在する七つの膜貫通領域を持つ新規の G タンパク質共役型受容体である GnIH 受容体を介して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する。また、GnIH ニューロンは GnIH 受容体が存在している GnRH ニューロンにも投射していることから、GnIH は腺性下垂体のみならず GnRH ニューロンにも作用して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する。GnIH の作用により生殖腺の発達と機能が抑制される。

表1 脊椎動物の脳から同定されたLPXRFamide ペプチドグループ

動物	名称	配列
<u>鳥類LPXRFamideペプチド</u>		
ウズラ	GnIH	SIKPSAYLPLRFa
	GnIH-RP-1	SLNFEEMKDWGSKNFMKVNTPTVNVKVPNSVANLPLRFa
	GnIH-RP-2	SSIQSLNLPQRFa
ミヤマシトド	GnIH	SIKPFNSLPLRFa
	GnIH-RP-1	SLNFEEMEDWGSKDI IKMNPFTASKMPNSVANLPLRFa
	GnIH-RP-2	SPLVKGSSQSLNLPQRFa
ニワトリ	GnIH*	SIRPSAYLPLRFa
	GnIH-RP-1*	SLNFEEMKDWGSKNFLKVNTPTVNVKVPNSVANLPLRFa
	GnIH-RP-2*	SSIQSLNLPQRFa
<u>哺乳類LPXRFamideペプチド</u>		
ウシ	RFRP-1	SLTFEEVKDWAPKIKMNKPVVNMPPSAANLPLRFa
	RFRP-3	AMAHPLRLGKNREDSLSRWVPNLPQRFa
ラット	RFRP-1*	SVTFQELKDWGAKKDIKMS PAPANLPHSAANLPLRFa
	RFRP-3	ANMEAGTMSHFPSLPQRFa
ハムスター	RFRP-1*	SPAPANLPHSAANLPLRFa
	RFRP-3*	TLRVPSLPQRFa
<u>両生類LPXRFamideペプチド</u>		
カエル	fGRP	SLKPAANLPLRFa
	fGRP-RP-1	SIPNLPQRFa
	fGRP-RP-2	YLSGKTKVQSMANLQRFa
	fGRP-RP-3	AQYTNHFVHSLDTLPLRFa
<u>魚類LPXRFamideペプチド</u>		
キンギョ	goldfish LPXRFamide-1*	PTHLHANLPLRFa
	goldfish LPXRFamide-2*	AKSNINLPQRFa
	goldfish LPXRFamide-3	SGTGLSATLPQRFa

脊椎動物の脳から同定されたLPXRFamide ペプチドはC末端側の配列がいずれも共通のLPXRFamide (X=L or Q) 構造を持つ。*は推定ペプチド。

GnIHの作用機構を明らかにするためには、GnIHの受容体を同定する必要がある。筆者らはGnIH受容体を同定して、これが新規のGタンパク質共役型受容体であることを明らかにした⁷⁾。GnIH受容体は腺性下垂体に発現しており、GnIHと特異的に生理的条件下で結合することから、GnIHは腺性下垂体に直接作用して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制することが明らかになった⁷⁾ (図1)。さらに、GnIH受容体は腺性下垂体のみならず、視床下部のGnRHニューロンにも発現していることやGnIHニューロ

ンはGnRHニューロンに投射していることなどから、GnIHは視床下部のGnRHニューロンにも作用して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制すると考えられる^{8,9)} (図1)。

3. GnIHとGnIH同族ペプチド(LPXRFamideペプチド)：構造と機能の普遍性と多様性

鳥類で発見されたGnIHと構造の類似する同族ペプチドが他の脊椎動物にも存在していることがわかってきた。最近、哺乳類のラット、ウシ、ハムスターなどにおいても

GnIHの同族ペプチドが存在すること(表1), この哺乳類のGnIH同族ペプチドも生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制することなどが明らかになった⁹⁾. GnIHとGnIH同族ペプチドは鳥類や哺乳類のような高等動物では共通して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する作用があると考えられる.

筆者らは, GnIHの起源と構造・機能の普遍性と多様性を明らかにするために, 系統発生的観点から, さらに様々な動物の脳からGnIHの同族ペプチドの単離・同定と生理作用の解析を進めている. 現在までに, 上述した哺乳類に加えて, カメなどの爬虫類, 両生類のウシガエルとイモリ, 魚類のキンギョなどからGnIHの同族ペプチドを同定しており(表1), これらの生理作用を明らかにした^{10~12)}. 両生類のウシガエルから同定したGnIH同族ペプチドには成長ホルモンの放出を促進する作用があり, 成長ホルモン放出ペプチド(frog growth hormone-releasing peptide; fGRP)

と名付けた¹⁰⁾(表1). fGRPの前駆体遺伝子を解析したところ, fGRPに加え, C末端の構造がよく似た遺伝子関連ペプチドがさらに三つコードされていた¹¹⁾(表1). これらの中でfGRP-RP-2と名付けたペプチドには, 成長ホルモンの放出促進作用に加えて, プロラクチンの放出促進作用もあることがわかった¹¹⁾. 一方, 魚類のキンギョから同定したGnIH同族ペプチドは生殖腺刺激ホルモンと成長ホルモンの放出を促進することが明らかとなった¹²⁾. 魚類のGnIH同族ペプチドの前駆体遺伝子にも, C末端の構造がよく似た遺伝子関連ペプチドがさらに二つコードされており(表1), 生理作用はいずれも同じであった¹²⁾.

以上の系統発生的観点からの研究により, いずれの脊椎動物においても視床下部ニューロンにGnIHとGnIHの同族ペプチドが存在しており, 腺性下垂体ホルモンである生殖腺刺激ホルモン, プロラクチン, 成長ホルモンなどの

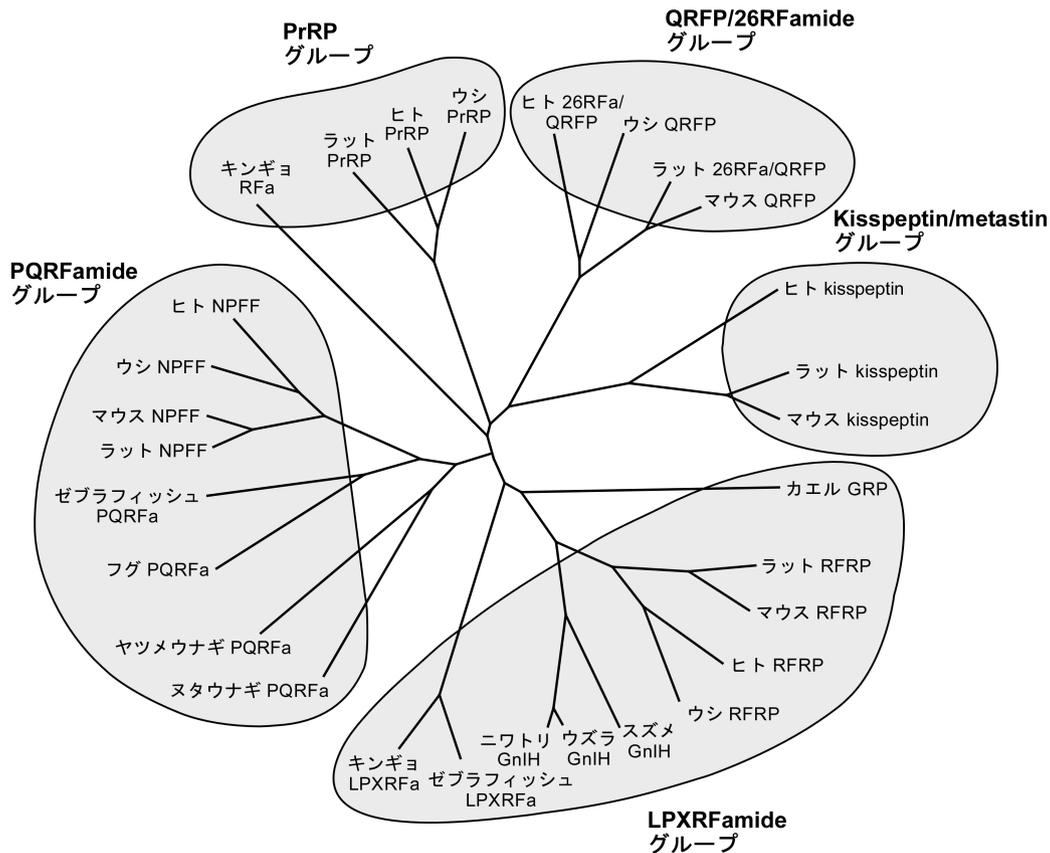


図2 LPXRFamide ペプチドグループと RFamide ペプチドファミリー

C末端側に RFamide 構造を持つペプチドを RFamide ペプチドと呼ぶ. 脊椎動物の脳には RFamide ペプチドが多く存在しておりファミリーを形成する. RFamide ペプチドファミリーは次の五つのグループに分類される. (1) GnIH と GnIH 同族ペプチドなどの LPXRFamide ペプチドグループ, (2) ニューロペプチド FF などの PQRFamide ペプチドグループ, (3) プロラクチン放出ペプチド(PrRP) などの PrRP グループ, (4) QRFP/26RFamide の QRFP/26RFamide グループ, そして (5) kisspeptin/metastatin の kisspeptin/metastatin グループである.

調節に重要な働きをしていることが明らかとなった。生殖腺刺激ホルモンとプロラクチンは共に生殖に重要なホルモンであり、GnIHとGnIH同族ペプチドは動物の生殖や成長に中心的な役割を果たす重要な脳ホルモンと考えられる。

GnIHとGnIH同族ペプチドは、C末端側の配列がいずれも共通のLeu-Pro-Xaa-Arg-Phe-NH₂ (Xaa=Leu or Gln) (LPXRFamide) 構造を持つという特徴がある。したがって、GnIHとGnIH同族ペプチドは構造からLPXRFamideペプチドグループとして分類することができる¹³⁾ (表1, 図2)。

4. LPXRFamide ペプチドと他のRFamide ペプチド

上述のLPXRFamideペプチドのように、C末端側にRFamide構造を持ったRFamideペプチドは脊椎動物の脳で多く報告されている(図2)。その一つはLPXRFamideペプチドとC末端側の配列がよく似たPro-Gln-Arg-Phe-NH₂ (PQRFamide) ペプチドグループである。このPQRFamideペプチドグループで最初に同定されたのは、ニューロペプチドFFと名付けられたニューロペプチドである。ニューロペプチドFFにはオピオイドペプチドの放出制御活性があり、モルヒネ調節ペプチドとも呼ばれている。LPXRFamideペプチドとPQRFamideペプチドの受容体は構造がよく似ており、LPXRFamideペプチドとPQRFamideペプチドは、共通の祖先遺伝子から分かれて進化してきたものと考えられる¹³⁾。最近、著者らは原始脊椎動物である円口類のヤツメウナギからPQRFamideペプチドを同定しており、このペプチドがPQRFamideペプチドとLPXRFamideペプチドの起源となるペプチドではないかと考えている¹⁴⁾。1998年に同定されたプロラクチン放出ペプチド(PrRP)¹⁵⁾もRFamideペプチドである。PrRPのC末端の配列はRFamideではあるが、上記のLPXRFamideペプチドやPQRFamideペプチドとは前駆体タンパク質の構造はかなり異なる。リバースファーマコロジーと呼ばれる新しい手法により同定されたPrRPは多くの神経内分泌学者の注目を集めたが、哺乳類ではある特殊な条件でないとプロラクチンの放出促進効果が認められないことから、内因性のプロラクチン放出因子であるかどうかは断定できない状況にある。しかし、魚類ではプロラクチン放出活性が認められており、他の動物種での解析結果が待たれる。2001年にオーファンGPCRであるGPR-54のリガンドとして発見されたkisspeptin/metastinもC末端の配列はRFamideである。しかし、ヒト以外の他の哺乳類ではC末端の配列は

RYamideである。kisspeptin/metastinはKiSS-1遺伝子にコードされているペプチドであり、ヒトの胎盤から同定されたが、その後の研究により生殖内分泌系を制御する重要なニューロペプチドであることが明らかになった。

おわりに

2000年に筆者らは生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する新規視床下部ホルモンを鳥類から同定して、GnIHと命名した。最近の研究により、GnIHは生殖腺の発達と機能維持を抑えることやメラトニンがGnIHの発現を制御していることなどが明らかになった。GnIHの発見により、生殖を制御する中枢神経内分泌機構に新しい理解が得られるようになった。

GnIHは多くの鳥類に共通して存在するが、GnIHと構造の類似するGnIH同族ペプチドは哺乳類、爬虫類、両生類、魚類などの脊椎動物に広く存在していることがわかった。GnIHとGnIH同族ペプチドはC末端側の共通構造からLPXRFamideペプチドとして分類することができる。哺乳類のGnIH同族ペプチドは鳥類のGnIHと同様に生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制することから、高等脊椎動物ではGnIHとGnIH同族ペプチドは共通して生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制する作用があると考えられる。一方、下等脊椎動物である両生類のGnIH同族ペプチドは成長ホルモンとプロラクチンの放出を促進する作用があり、魚類のGnIH同族ペプチドは生殖腺刺激ホルモンと成長ホルモンの放出を促進する作用がある。以上の系統発生的観点からGnIHとGnIH同族ペプチドの構造と機能の普遍性と多様性を理解する研究により、いずれの脊椎動物においても視床下部ニューロンにGnIHとGnIH同族ペプチドが存在しており、腺性下垂体ホルモンである生殖腺刺激ホルモン、プロラクチン、成長ホルモンなどの調節に重要な働きをしていることが明らかとなった。生殖腺刺激ホルモンとプロラクチンは共に生殖に重要なホルモンであり、GnIHとGnIH同族ペプチドは動物の生殖や成長に中心的な役割を果たす新規脳ホルモンであると考えられる。また、GnIHとGnIH同族ペプチドの生理作用が動物種間で比較すると異なることは、脳ホルモンは進化的に相同なものでも、動物種間で生理作用が多様化していることを示すものであり、脳ホルモンによるホルモン調節の多様性の進化を考えるうえで興味深い。

謝辞

本稿で紹介した研究成果は文部科学省科学研究費補助金

(基盤研究 A 15207007 ; 特定領域研究 16086206 ; 基盤研究 S 18107002) 等の援助により得られたものである。

- 1) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R.M., Arimura, A., & Schally, A. V. (1971) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 1334-1339.
- 2) Tsutsui, K., Saigoh, E., Ukena, K., Teranishi, H., Fujisawa, Y., Kikuchi, M., Ishii, S., & Sharp, P.J. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **275**, 661-667.
- 3) Ubuka, T., Ukena, K., Sharp, P.J., Bentley, G.E., & Tsutsui, K. (2006) *Endocrinology*, **147**, 1187-1194.
- 4) Osugi, T., Ukena, K., Bentley, G.E., & Tsutsui, K. (2004) *J. Endocrinol.*, **182**, 33-42.
- 5) Satake, H., Hisada, M., Kawada, T., Minakata, H., Ukena, K., & Tsutsui, K. (2001) *Biochem. J.*, **354**, 379-385.
- 6) Ubuka, T., Bentley, G.E., Ukena, K., Wingfield, J.C., & Tsutsui, K. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 3052-3057.
- 7) Yin, H., Ukena, K., Ubuka, T., & Tsutsui, K. (2005) *J. Endocrinol.*, **184**, 257-266.
- 8) Kriegsfeld, L.J., Mei, D.F., Bentley, G.E., Ukena, K., Tsutsui, K., & Silver, R. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 2410-2415.
- 9) Ubuka, T., Kim, S., Huang, Y., Reid, J., Jiang, J., Osugi, T., Chowdhury, V.S., Bentley, G.E., & Tsutsui, K. (2008) *Endocrinology*, **149**, 268-278.
- 10) Koda, A., Ukena, K., Teranishi, H., Ohta, S., Yamamoto, K., Kikuyama, S., & Tsutsui, K. (2002) *Endocrinology*, **143**, 411-419.
- 11) Ukena, K., Koda, A., Yamamoto, K., Kobayashi, T., Iwakoshi-Ukena, E., Minakata, H., Kikuyama, S., & Tsutsui, K. (2003) *Endocrinology*, **144**, 3879-3884.
- 12) Sawada, K., Ukena, K., Satake, H., Iwakoshi, E., Minakata, H., & Tsutsui, K. (2002) *Eur. J. Biochem.*, **269**, 6000-6008.
- 13) Ukena, K. & Tsutsui, K. (2005) *Mass Spectrom. Rev.*, **24**, 469-486.
- 14) Osugi, T., Ukena, K., Sower, S.A., Kawauchi, H., & Tsutsui, K. (2006) *FEBS J.*, **273**, 1731-1743.
- 15) Hinuma, S., Habata, Y., Fujii, R., Kawamata, Y., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kitada, C., Masuo, Y., Asano, T., Matsumoto, H., Sekiguchi, M., Kurokawa, T., Nishimura, O., Onda, H., & Fujino, M. (1998) *Nature*, **393**, 272-276.

筒井 和義

(早稲田大学教育・総合科学学術院統合脳科学)

GnIH and its homologous peptides (LPXRFamide peptides): Unity and diversity of their structure and function
Kazuyoshi Tsutsui (Laboratory of Integrative Brain Sciences, Department of Biology, Waseda University, Center for Medical Life Science of Waseda University, 2-2 Wakamatsu-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan)