

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 菊池 結貴子

アンドロゲンやエストロゲン、グルコルチコイドといったステロイドホルモンは脊椎動物に普遍的に存在する生理活性物質であり、生殖や行動、ストレス応答をはじめとする様々な生命現象を強力に制御している。生体内のステロイドホルモン存在量には大きな性差があり、それが行動や生殖、ストレス応答などに様々な性差をもたらしていると考えられている。しかし、そのメカニズムについては不明な点が多く残されている。特に、ステロイドホルモンが脳に作用し、中枢レベルの性差を生み出すメカニズムについては、ごく限られた知見しか得られていない。そこで本研究では、メダカをモデル動物に用い、脳の中でも生殖や行動、ストレス応答に深く関わりとされる視索前野に存在するステロイドホルモン応答性ニューロンの性差を解析することとした。

第1章ではまず、雌雄のメダカの脳において、ストレス応答に深く関わりとされるグルコルチコイドの受容体（GR）の発現部位を解析し、その性差を検証した。解析の結果、視索前野の神経核 PPa と Pbl、視床下部の神経核 NGp における GR 発現がメスで亢進していることが明らかとなった。次に、PPa と Pbl には攻撃行動や性行動、性成熟に関わる神経ペプチドであるバソトシン（Vt）、イソトシン（It）、ゴナドトロピン放出ホルモン 1（GnRH1）の産生ニューロンが存在することに着目し、それらのニューロンにおける GR 発現を解析した。その結果、これらのニューロンでの GR 発現が確認され、さらに、PPa の Vt ニューロンと GnRH1 ニューロンにおける GR 発現はメスの方が亢進していることが明らかとなった。以上の結果から、これらの神経ペプチドニューロンを介した生理作用にストレスが与える影響は、オスよりもメスの方が大きいと考えられた。

第2章以降は、当研究室での先行研究によって最近見出された「視索前野の神経核 PMm/PMg にメス特異的に存在するエストロゲン/アンドロゲン応答性ニューロン」に着目した。このニューロンは、神経ペプチド Neuropeptide B（Npb）を産生する大細胞性のニューロンであり、体内

のエストロゲン/アンドロゲンバランスによって、*npb* の発現を可逆的に変化させることが分かっていた。そこで第 2 章では、この *Npb* ニューロンの細胞内構造、および転写活性化に関わる化学修飾の状態を解析した。その結果、*Npb* ニューロンは大型の細胞体と核、よく発達した小胞体とゴルジ体を持ち、核内にはユークロマチン領域を多く有することが明らかとなった。また、これらの核では、RNAP II-Ser2P、RNAP II-Ser5P、H3K36me、H3K36me2 といった、転写の活性化に関わる化学修飾が亢進していた。さらに、これらの特徴は、卵巣除去によって失われ、エストロゲンを投与すると回復することが分かり、エストロゲンに依存して可逆的に保たれていることが明らかとなった。また、本来オスのメダカはこのニューロンをもたないが、オスでもエストロゲンを投与すると、細胞分裂を経ることなく、このニューロンが出現することも明らかとなった。以上の結果から、当初はメス特異的と考えられていた *Npb* ニューロンが、実は雌雄どちらのメダカにも存在し、性ステロイドに応答して細胞内の構造や細胞レベルでの転写状態が活性化・不活性化することが明らかとなった。

続いて第 3 章では、*Npba* ニューロンはエストロゲンシグナルに依存して多数の遺伝子を高発現しているのではないかと考え、同ニューロンのトランスクリプトーム解析を行った。その結果、卵巣除去によって発現量が低下する遺伝子が 87 種見出された。そこで、これらの遺伝子の中から重要な機能を有すると考えられた 5 遺伝子を選出した後、それらのノックアウトメダカを作出し、表現型解析を行った。その結果、そのうちの 1 種、XLOC_004257 のノックアウトメダカのメスにおいて、オスから求愛されてからそれを受け入れ産卵に至るまでの時間が短くなっていた。これらのノックアウトメスの卵巣の発達や排卵は正常に行われており、行動にみられた表現型は脳内の変化に起因するものと考えられた。このことから、エストロゲン存在下の *Npb* ニューロンは、求愛行動をとるオスの選別に寄与することが示唆された。

以上、本研究での成果によって、ステロイドホルモンが脳に作用し、中枢レベルの性差を生み出すメカニズムの一端が明らかとなった。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。