

# 論文審査の結果の要旨

氏名 高橋 晶子

本論文は、脊椎動物において、生殖の神経内分泌学的解析が進んでいる哺乳類から離れた系統に位置する真骨魚類を用い、生殖の中樞制御を担う視床下部-脳下垂体-生殖腺系（HPG 軸）の制御に関わる重要な要素として、視床下部の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）、2 種の脳下垂体生殖腺刺激ホルモン（LH および FSH）、および新規ペプチドであるキスペプチンの機能に着目して形態学的・遺伝学的研究を行ったものである。この目的を達成するため、最新の遺伝子改変技術が応用可能で、生殖に関する知見が蓄積しているメダカを実験動物として用いた。中でも、本研究では、近年急速に用いられるようになったゲノム編集技術を利用し、生殖関連ペプチドのノックアウト（KO）個体の作製を初めて成功させたことが特筆すべき点である。このようにして、脊椎動物の HPG 軸制御機構とその進化的側面を理解するために、本論文では、メダカを実験材料として、GnRH ニューロンの形態（第 1 章）、GnRH1, LH, および FSH の HPG 軸における機能（第 2 章）、HPG 軸におけるキスペプチン機能の解析と新規機能の探索（第 3 章）、という構成で解析及び考察を行っている。

第 1 章では、向下垂体性の GnRH ニューロンを特定するために GnRH を enhanced green fluorescent protein (EGFP) で標識したトランスジェニックメダカを作成し、共焦点顕微鏡により詳細な形態解析を行った。GnRH ペプチドをコードする *gnrh* 遺伝子には *gnrh1*、*gnrh2*、*gnrh3* の 3 種のパラログ遺伝子が知られるが、解析の結果、下垂体に投射して向下垂体系を構成するのは、*gnrh1* 遺伝子を発現する腹外側視索前野の GnRH1 ニューロンであることを示した。

第 2 章では、メダカの HPG 軸制御における GnRH、LH、および FSH の機能を調べるため、前章で向下垂体性である事を証明した *gnrh1*、および LH または FSH の機能を特徴付けるβサブユニットをコードする *lhb*、*fshb* の 遺伝子ノックアウト (KO) メダカを作成し、それらの個体の表現型解析を行った。その結果、メスのメダカでは、FSH は卵胞発育に、GnRH1、LH の各ペプチドは排卵誘起に、それぞれ必須であること、また、GnRH による制御を必須とするのは LH のサージであり、FSH は GnRH がなくても十分に分泌されていること、がわかった。一方、オスでは、GnRH、LH、FSH いずれの KO 系統においても生殖可能である、という興味あることがわかった。

第 3 章では、メダカを含む真骨魚類でキスペプチンによる HPG 軸制御が存在するのか明確にするために、メダカを用いキスペプチン関連遺伝子の KO メダカを作成しこれらの表現型解析を行った。その結果、キスペプチンによる HPG 軸制御はほ乳類に特殊な現象で、

真骨魚類を始めとする非哺乳類ではキスペプチンは生殖制御に直接関わらないことが強く示唆された。一方で、キスペプチンの新規機能の可能性も示唆された。

これらの論文の各章で示された研究成果は脊椎動物における生殖の中枢制御機構を理解する上で大変重要な知見であり、論文提出者の研究成果は博士（理学）の学位を受けるにふさわしいと判定した。

なお、本論文第1章～第3章は、岡良隆他数名との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。