

論文審査の結果の要旨

氏名 中城 光琴

本論文は、最近ほ乳類において生殖の中枢制御における重要な位置を占めることがわかってきたペプチドニューロンであるキスペプチンニューロンに着目し、進化的に保存され脊椎動物を通じて共通するキスペプチンニューロンのはたらきが、実は生殖調節以外にあるのではないかという新たな発見を行った研究について述べられた物である。本研究では、真骨魚類に属し、ゲノム情報の豊富なメダカをモデル動物として用い、遺伝子編集技術により樹立された、キスペプチン関連遺伝子のノックアウト(KO)や、特定のニューロン群を特異的に GFP 標識した遺伝子組換えメダカを駆使して多角的な解析を行っている。

メダカやゼブラフィッシュにおいてはキスペプチン関連遺伝子の KO 個体すべてが正常な稔性を保持していることが既に示されており、キスペプチンが GnRH ニューロンや脳下垂体生殖腺刺激ホルモン産生細胞の活動にも作用しないことから、キスペプチンは真骨魚類では生殖機能調節に寄与しないことが強く示唆されている。第 1 章では、キスペプチン関連遺伝子 KO メダカ各系統および野生型のペアを用いて、直接の生殖機能調節以外の表現型として、産卵数および性行動に着目し、解析している。その結果、産卵数は野生型に

比べて *Kiss1* 受容体、*Gpr54-1* 遺伝子の KO 系統 (*gpr54-1^{-/-}*)において有意に減少していることがわかった。また、*gpr54-1^{-/-}*オス個体の求愛行動の頻度が減少していることもわかった。さらに、RNA-seq と qPCR 解析から、キスペプチン神経系と、ストレス応答や行動制御等の多様な機能が示唆されている脳下垂体ホルモン、バソトシン (VT) との関係性も示唆した。本章の結果より、雌雄ともに *Kiss1* 神経系が性行動制御に寄与している可能性が示唆された。

第 2 章では、*Gpr54-1* 発現ニューロン特異的に GFP 標識した遺伝子組換えメダカを駆使し、エストロジェン感受性である *Kiss1* の制御下にある神経経路を、組織学、生理学、次世代シーケンスを併用して多角的に解析した。組織学的解析から、腹側視索前野 (vPOA) に位置する一群のニューロンが脳下垂体に顕著な軸索投射をもつことがわかった。また、これらの神経活動が *Kiss1* ペプチドによって促進されることを電気生理学的手法により示した。さらに、次世代シーケンスにより、これらのニューロンが発現する神経伝達物質として、ニューロペプチド B (Npb) など GnRH 以外の様々な神経ペプチドを同定し、Npb の vPOA での発現については、組織学的にもこれらのニューロンに共存することを明らかにした。次に、脳下垂体へ顕著に投射する vPOA の *Gpr54-1/Npb* ニューロンが作用する標的細胞を組織学的に探索した。その過程で、脳下垂体主葉基部において、同ニューロンと、脳下垂体ホルモンである VT とイソトシン (IT)を産

生する IT/VT ニューロンが軸索同士で密に絡み合う特徴的な構造を発見した。これより、Kiss1 を介して vPOA Gpr54-1/Npb ニューロンが脳下垂体で IT/VT の内分泌制御を担うことを示唆した。

第 3 章では、vPOA Gpr54-1/Npb ニューロンによる IT/VT の制御を示唆した。IT/VT ニューロンをそれぞれ GFP 標識した遺伝子組換えメダカを用いた電気生理学的解析から、両ニューロンの神経活動が Npb 投与によって顕著に抑制されることを示した。これより、エストロゲン感受性の Kiss1 ニューロンが vPOA Gpr54-1/Npb ニューロンを賦活し、IT/VT ニューロンを、細胞体と脳下垂体の両部位で抑制的に制御する神経経路の存在が示唆された。VT ニューロンは、脳下垂体を介したストレス応答への制御が幅広い種で示唆されており、今回発見した神経経路は、生殖状態特異的にストレス応答を制御するシステムを構成する可能性が高い。さらに、Npb、IT/VT の脊椎動物間での高い保存性を考慮すると、この制御経路は脊椎動物に共通する機能を担う可能性がある。

本研究の成果と従来知見を併せて解釈すると、キスペプチン神経系の生殖制御への寄与は哺乳類だけが進化の過程で偶然獲得した機能であり、脊椎動物に共通する本来の機能は、IT/VT への制御等をはじめとする、生殖機能調節以外のものであったと推察される。キスペプチン神経系は繁殖期において、生殖腺からのエストロゲンに応じて Kiss1 発現を昂進し、Npb、IT/VT 神経系を制御する神経

経路を介して、ストレス応答・行動等を制御することで円滑な生殖の遂行に寄与していることが示唆される。

この学位論文の各章で示された研究成果はキスペプチン神経系の脊椎動物に共通する機能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、岡良隆ら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。