

## 審査の結果の要旨

氏名 梶山（平木） 十和子

本博士論文では、魚類の脳にどのような雌雄の違い（性差）があるのか、その性差がどのようなメカニズムによって形成され、雌雄間で逆転し得るのか、そして、最終的にどのような形質の性差をもたらすのかを理解することを目的として、メダカ（*Oryzias latipes*）を実験モデルに用いて研究を進めた。

第1章ではまず、メダカの脳における性ステロイド受容体（エストロゲン受容体（ER）およびアンドロゲン受容体（AR））の発現の性差を解析することとした。その結果、性行動中枢として知られる終脳の神経核 Vs/Vp と視索前野の神経核 PMm/PMg において、ER と AR のいずれもメスでは多く発現しているが、オスではほとんど発現していないことが見出された。この発見は、これらの神経核には、性ステロイド感受性をもつニューロン（メス特異的性ステロイド受容ニューロン）がメスだけに存在することを示しており、ひいては、メスの生殖中枢は性ステロイドの影響を受けるが、オスはその影響を受けないことを意味している。

また、このメス特異的な ER と AR の発現は、エストロゲンによる発現の促進とアンドロゲンによる発現の抑制という二重の制御機構によってもたらされていることが明らかとなった。さらに、そこでのエストロゲンとアンドロゲンの作用は可逆的であるため、体内の性ステロイド環境に応じて、それらの発現の性差は性成熟後でも逆転し得ることが明らかとなった。

第2章では、第1章で見出されたメス特異的性ステロイド受容ニューロンにおいて、性ステロイド受容体は何らかの遺伝子の発現をメス特異的に制御しているはずだという仮説のもとに解析を進めた。その結果、性ステロイド受容ニューロンにおいて、ER や AR と同じように、やはりメスのみで発現する遺伝子を見出した。Npb（Neuropeptide B）という神経ペプチドをコードする遺伝子 *npb* である。その後のゲノム編集を用いた解析によって、*npb* は確かにエストロゲンと ER の標的遺伝子であることが明らかとなった。

次に、メス特異的性ステロイド受容ニューロンで産生された Npb が作用する標的細胞を解析したところ、脊髓前角の運動ニューロンあるいは自律神経節前ニューロンが標的細胞であることが明らかとなった。Npb は脊髓まで運ばれ、

メス特異的に何らかの行動、あるいは体内の生理状態を制御していると考えられた。また、PMm/PMg メス特異的性ステロイド受容ニューロンの電気生理学的な特徴を解析したところ、同ニューロンは、そこでの遺伝子発現だけでなく、ニューロンとしての活性も、エストロゲンによって可逆的に促進されていることが明らかとなった。

以上の結果を考え合わせた結果、メス特異的性ステロイド受容ニューロンで発現する *npb* は、メス特異的に性行動を制御している可能性が考えられたため、*npb* をノックアウトしたメダカを作出し、メスの性行動を解析した。しかし、野生型との間に目立った違いは認められず、*npb* の機能を明らかとすることはできなかった。

第3章では、*npb* ノックアウトメダカでは、*npb* のパラログである *npc* が補償的にはたらいでしまい、*npb* の機能を正確に評価できなかったのかもしれないとの仮説に基づき、研究を進めた。まず、メス特異的性ステロイド受容ニューロンにおいて *npb* と *npc* が共発現していることが明らかになった。そこで、*npc* による補償作用をなくすために、*npb/npc* ダブルノックアウトメダカを作出した。それと並行して、*Npb/Npc* の受容体遺伝子である *gpr8* のノックアウトメダカも作出した。これらのノックアウトメダカのメスの性行動を解析した結果、オスが追尾を開始してから交配に至るまでに要した時間が減少しており、オスが求愛ダンスを経ずに産卵するメスの割合も増加していた。また、産卵が終了した後にもかかわらず、オスから交配を受ける回数も増加していた。

これらのことは、ノックアウトのメスでは、メスがオスに対して伝える何らかの受け入れのサインが昂進していることを示唆しており、メダカにおいてメス特異的な *npb/npc* シグナルは、性行動に際して、オスの受け入れを抑制する機能をもつことが考えられた。この機構はメスだけに存在する機構であるが、この機構によって、メスは、オスと出会ってすぐ交配するのではなく、求愛ダンスなどの情報を得た上で、より優れたオスを選択しているのかもしれないと考えられた。

以上、これらの研究成果は、学術上、また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。