

# 論文審査の結果の要旨

氏名 善方 文太郎

本論文は、卵巣から放出される性ステロイドホルモン（主にエストロジェン）が中枢神経系にはたらく（フィードバック作用）ことにより生殖や性行動などを制御するという、極めて重要な生命現象に対して、脊椎動物に共通する普遍的なメカニズムを探索しようとする野心的な研究である。本研究ではこれを解明するため、脳および脳下垂体のエストロジェン標的細胞と、それ以降の神経回路を明らかにし、生殖機能の中枢制御機構を解明することを目的とした。従来の生殖機能制御機構に関する研究は、生殖不全の原因遺伝子などに着目したものが多く、脳内に広く分布するエストロジェン標的ニューロンの中で詳細に解析されているものはごく一部であった。それに対して、本研究ではエストロジェン受容体(ER)に着目し、脳および脳下垂体に発現する全エストロジェン標的細胞を解析対象とし、そのために、分子遺伝子学的手法の応用が容易であるメダカを実験動物とし、ER発現細胞をEGFP標識したトランスジェニックメダカ系統を樹立することでERを発現する細胞を生きた全脳-脳下

垂体 *in vitro* 系において可視化し、多角的なアプローチにより解析を行っている。

第1章では、エストロゲン標的ニューロンの脳内分布を明らかにするため、*in situ hybridization* 法により ER mRNA の発現分布を解析した。その結果、ER 各種サブタイプのうち ER $\alpha$  を発現するニューロン (ER $\alpha$ ニューロン) が最も脳の広領域に分布すること、および終脳の Vs 領域および視索前野 POA 領域に特に ER $\alpha$ ニューロンの数が多く、高密度に分布することがわかった。過去の知見と併せて考え、Vs の ER $\alpha$ ニューロンは血中のエストロゲン濃度に応じて性行動制御神経回路を調節し、POA の ER $\alpha$ ニューロンは、生殖を中枢制御するフィードバック調節機構に血中エストロゲン濃度情報を伝達する重要な機能を担う、という作業仮説が提唱された。

第2章では、エストロゲンの脳下垂体 FSH、LH 細胞に対する直接作用の解析を行った。*in situ hybridization* 法により脳下垂体における ER $\alpha$ の発現分布を解析した結果、FSH、LH 細胞がいずれも ER $\alpha$  を共発現することが示唆された。エストロゲンは FSH に対して直接的にネガティブフィードバック様の作用を示し、一方で、LH に対しては主に視床下部の神経回路を介したポジティブフィードバック

作用を示すことが示唆された。これら異なる機構が協調的に機能することで FSH、LH がそれぞれに異なる、適切なタイミングで分泌され、濾胞の発育や排卵を制御することが示唆された。

第 3 章では、エストロゲン標的ニューロンの形成する神経回路を解析するために、 $ER\alpha$ :EGFP トランスジェニックメダカ系統を作出し、Vs の  $ER\alpha$ ニューロン、POA の  $ER\alpha$ ニューロンからの出力に着目して、それらの神経軸索投射、神経伝達物質について、細胞レベルで解析し、第 1 章で掲げた作業仮説を検証した。その結果、POA- $ER\alpha$ ニューロンが血中エストロゲン濃度に応じて直接 GnRH1 ニューロンを制御し、生殖中枢制御神経回路の中で性ステロイドホルモンによるフィードバック調節の直接の担い手としてはたき得ること、Vs の  $ER\alpha$ ニューロンがエストロゲン濃度に応じて性行動を制御する神経回路調節の重要な鍵を握っていること、を実験的に示すことができた。特に、性ステロイドホルモンによるフィードバック調節を担うニューロンで GFP 標識されたものを同定し、これが脊椎動物に共通する普遍的な神経回路である可能性を提唱した本研究成果は、生殖神経内分泌学における重要なマイルストーンとなると考えられる。このように、本学位論文の各章で示された研

究成果は、生殖機能制御を中心としたエストロゲン中枢作用の神経内分泌学的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。

# 最終試験の結果の要旨

氏名 善方 文太郎

成績 合格

本委員会は、論文提出者に対し平成27年2月6日、学位論文の内容及び関連事項について、口頭試験を行った。

その結果、論文提出者は動物学特に神経生物学について博士（理学）の学位を受けるにふさわしい十分な学識をもつものと認め、審査委員全員により合格と判定した。