

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 MAJARUNE Sutisa

論文題目

Brain mechanism regulating puberty onset  
in female rats

(性成熟を制御する中枢メカニズム)

### 論文審査担当者

主査	名古屋大学准教授	上野山賀久
委員	名古屋大学教授	東村博子
委員	名古屋大学教授	山本直之
委員	名古屋大学教授	大蔵 聡
委員	名古屋大学准教授	松山秀一
委員	名古屋大学准教授	井上直子
	名古屋大学アジアサテライトキャンパス学院	
委員	特任助教	森田康広

Majarune Sutisa の提出論文「Brain mechanism regulating puberty onset in female rats (性成熟を制御する中枢メカニズム)」は、哺乳類の性成熟を制御する神経内分泌メカニズム、とりわけ弓状核 KNDy ニューロンにおける 3 種類の神経ペプチド発現の制御メカニズムについて研究成果をまとめたものである。Majarune は、性成熟が個体の栄養状態に依存することに着目し、給餌量を制限することにより、体成長と性成熟を遅延させたラットをモデルとして、自由摂食の再開により惹起される性成熟の過程において KNDy ニューロンにおける 3 種類の神経ペプチドをコードする *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 遺伝子発現を検討した。また、性成熟にともなう卵巣の卵胞発育を組織学的に解析した。本論文は全 5 章で構成される。

第 1 章では、哺乳類の性成熟を制御するメカニズムを解明する意義について述べ、給餌量を制限することにより、体成長と性成熟を遅延させたラットをモデルが、性成熟を制御する神経内分泌メカニズムの解明と、性成熟にともなう卵巣の卵胞発育の解析に有効なモデルであることを述べた。

第 2 章では、第 3 章、第 4 章、第 5 章に共通する実験手法について詳細を述べた。

第 3 章では、給餌量を制限することにより、体成長と性成熟を遅延させたラットをモデルとして、自由摂食の再開により惹起される性成熟の過程における *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 遺伝子発現を *in situ* hybridization により組織学的に検討した。その結果、制限給餌下においては、弓状核の *Kiss1*、*Pdyn* の遺伝子発現が顕著に抑制されていることを見いだした。一方、自由摂食の再開により、24 時間以内に弓状核における *Kiss1*、*Pdyn* の遺伝子発現が増加し、*Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* の 3 遺伝子の発現が認められるようになると、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のパルス状分泌の指標となるパルス状の黄体形成ホルモン (LH) 分泌が認められ、卵巣には排卵可能なグラフ卵胞の存在を認めた。また、自由摂食の再開から 48 時間後には、排卵を誘起するサージ状の LH 分泌を認めた。これらの結果から、体成長を遅延させるような負のエネルギーバランスにおいては、KNDy ニューロンにおける *Kiss1*、*Pdyn* の発現が抑制され、GnRH 分泌と卵巣機能の抑制により性成熟が遅延すること、一方、自由摂食の再開による正のエネルギーバランスにおいては、KNDy ニューロンにおける *Kiss1*、*Pdyn* の発現が増加し、GnRH 分泌と卵胞発育の促進を介して、性成熟に至ることを示唆した。

第 4 章では、第 3 章と同様に、体成長と性成熟のタイミングを遅延させたラットをモデルとして、KNDy ニューロンにおける *Kiss1*、*Pdyn* の発現におよぼすエストロジェンの影響について検討した。未熟な卵巣から分泌されるエストロジェンが、性成熟前の動物の GnRH 分泌を抑制することは古くから知られており、性成熟期にはエストロジェン感受性の低下により、GnRH 分泌が生じるというゴナドスタット仮説が提唱されている。著者は、前述の制限給餌モデルラットの卵巣を除去し、一部の動物にはエストロジェンを代償投与することで、血中エストロジェン濃度を実験的に調節した

ラットを用いて、自由摂食の再開により惹起される性成熟の過程における *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 遺伝子発現を検討した。その結果、制限給餌下における *Kiss1* 遺伝子発現抑制は、エストロジェン依存性であることを見いだした。一方、制限給餌下における *Pdyn* 遺伝子発現抑制はエストロジェン非依存性であった。また、自由摂食の再開による正のエネルギーバランスにおいては、エストロジェンの有無によらず、KNDy ニューロンにおける *Kiss1*、*Pdyn* 遺伝子発現の増加を認めた。これらの結果から、KNDy ニューロンにおいて、*Kiss1* 遺伝子発現制御のみがゴナドスタット仮説と一致すること、正のエネルギーバランスを伝達するシグナルによりエストロジェン感受性が変化し、*Kiss1* 遺伝子発現の抑制が解除される可能性が示唆された。

第 5 章では、性成熟を示さない *Kiss1* 遺伝子ノックアウトラットの脳内における *Kiss1* 遺伝子発現の再開が卵胞発育の開始に及ぼす影響を検討した。具体的には、*Kiss1* 遺伝子欠損ラットの脳内に *Kiss1* 遺伝子を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを投与した後に、卵巣を採取し、卵胞発育を組織学的に解析した。その結果、*Kiss1* 遺伝子ノックアウトラットの卵巣にはグラフ卵胞は認められなかったのに対し、弓状核での *Kiss1* 遺伝子発現の再開、KNDy ニューロンの復活とともに、卵胞発育が促進され、排卵可能なグラフ卵胞を認めた。これらの結果から、弓状核 KNDy ニューロンにおけるキスペプチンの合成・分泌が、性成熟にともなう卵胞発育の促進に必須であることが強く示唆された。

第 6 章では、第 3 章から第 5 章で得られた結果から、個体のエネルギーレベルの変化が性成熟を制御するメカニズムについて総合的に考察した。すなわち、体成長が完成に近づき、個体のエネルギーバランスが正に転換するのに伴って、*Pdyn* 遺伝子発現の増加とエストロジェン感受性の低下が生じ、結果として、弓状核 KNDy ニューロンに *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 遺伝子発現がすべて揃うことで、GnRH ひいては性腺刺激ホルモンのパルス状分泌が亢進し、卵胞発育が促進されることが明らかとした。

以上のように、Majarune Sutisa は、哺乳類の性成熟を制御する脳内メカニズムの一部を解明した。本研究で得られた知見は、学術上の価値に加え、家畜の生産性向上に資する点からも極めて高い価値があると認められる。よって、本審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があるものと認め、論文審査に合格と判定した。