

論文審査の結果の要旨

氏名 石崎 摩美

本論文は2章からなり、第1章では、ラジオイムノアッセイ (RIA) を用いて脳・下垂体スライス標本からの GnRH 放出を測定することにより、終神経および視索前野 GnRH 系の分泌活動のメカニズムおよびそれらの違いについて述べられている。また、第2章では微小炭素繊維電極を用いて GnRH 放出を電気化学的に測定する方法を開発することにより、脳・下垂体スライスにおける視索前野 GnRH ニューロン軸索終末領域からのホルモン分泌活動をリアルタイム記録した結果について述べられている。

生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は下垂体からの生殖腺刺激ホルモン分泌を促進するホルモンとして発見されたが、これに関与する視索前野 GnRH 系の他にも複数の GnRH 系が脊椎動物の脳内に存在することが近年の研究から明らかになってきている。その一つである終神経 GnRH 系のニューロンは正中隆起には投射しておらず、生殖腺刺激ホルモンの放出には直接関わっていない。これまでの形態学的・生理学的知見から、終神経 GnRH ニューロンは脳

全体に軸索を伸ばし、他のニューロンの興奮性や神経伝達物質の放出などを調節する神経修飾系として働いていると考えられている。そのような神経修飾作用は GnRH ニューロンからの GnRH 分泌を介して行われていると考えられるが、終神経 GnRH 系の分泌活動についてはこれまで調べられていない。また、視索前野 GnRH 系の分泌活動と終神経 GnRH 系の GnRH 分泌活動との違いも明らかではない。そこで本研究では、脊椎動物において GnRH ニューロンの解析に最も適した実験系の一つである淡水産熱帯魚ドワーフグーラミー (*Colisa lalia*) の脳を用いて以下のような実験を行なった。

第 1 章では、終神経 GnRH 系と視索前野 GnRH 系の GnRH 分泌活動の違いを調べるために、ドワーフグーラミーの脳・下垂体矢状断スライス標本作製し、視索前野・下垂体を含む部分(視索前野 GnRH ニューロンの細胞体とその投射領域)と、それ以外の部分(終神経 GnRH ニューロンの細胞体とその投射領域の大部分)の 2 つに切り分けた。次にそれぞれをリンガー溶液中で培養し、その後培養液をアゴニスト等が含まれている溶液に替えて一定時間おき、回収した培養液中の GnRH 量を RIA で測定した。その結果 GnRH 分泌量の雌雄差などの点において両 GnRH 系で違いがあることを明らかにした。

第2章では、まず、微小炭素繊維電極を自作して GnRH 溶液の電気化学的測定を行った。その結果、微小炭素繊維電極の電極電位をおよそ 600-800mV 以上にすれば GnRH の酸化電流を測定できることが分かった。このことから、微小炭素繊維電極の電極電位を 800mV 以上に保持することにより、脳・下垂体の局所的な場所からの GnRH 分泌を記録することができると考えられた。そこで、この方法を利用して、ドワーフグーラミー矢状断脳スライス標本の下垂体における視索前野 GnRH ニューロンの軸索終末付近からの分泌活動のリアルタイム記録を行った。第1章の結果と併せ、微小炭素繊維電極を用いて、スライス標本から GnRH ニューロンの分泌活動をリアルタイムに記録できることが示された。この方法は、GnRH を分泌する脳内の領域や細胞からの局所的な GnRH 放出のリアルタイム測定に応用することができ、GnRH 系の機能を解析する有効な手段になると考えられる。

これらの論文の各章で示された研究成果は脊椎動物一般の GnRH 神経系の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章および第2章は、岡良隆および飯郷雅之との

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。