

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大久保 範 聡

神経ペプチドの一種であるゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) は、下垂体からのゴナドトロピン分泌を促進するとともに、性行動を引き起こすはたらきをもつ。近年、一脊椎動物種内に複数種の GnRH 分子および GnRH 受容体 (GnRH-R) 分子が存在することが明らかになりつつあるが、脊椎動物が何種類の GnRH 分子と GnRH-R 分子をもち、それらの分子がそれぞれどのような生理的役割を担っているのかという疑問が現在でも未解決のまま残されている。本研究は、これらの問題点を明らかにするため、メダカを実験モデルに選定し、GnRH と GnRH-R の構造・機能解析を行ったものである。

まずメダカから GnRH の同定を試み、メダカは既知の 2 種類の GnRH 分子種 (cGnRH-II と sGnRH) に加え、第 3 の新規 GnRH 分子種 (mdGnRH と命名) をもつことを明らかにした。一方、ヒトは 2 種類の GnRH 分子種をもつことが知られているが、メダカの各 GnRH 遺伝子座とヒトのドラフトゲノムデータとの間でシテニー解析を行ったところ、メダカとヒトの共通祖先はメダカと同様、3 種類の GnRH 分子種をもっていたが、ヒトの系統では、進化の過程 (硬骨魚類と分岐した後) で sGnRH 相当遺伝子が失われ、2 種類の GnRH 分子種のみをもつようになったというモデルが考えられた。

組織学的実験により、mdGnRH は視索前野で合成され、下垂体へと輸送されること、cGnRH-II と sGnRH はそれぞれ中脳被蓋と終神経節で合成され、ともに脳内に広く輸送されることが明らかとなった。このことから、メダカ生体内では、mdGnRH が下垂体からのゴナドトロピン分泌を促進する役割をもち、cGnRH-II と sGnRH は脳内で何らかの機能をもつことが推察された。また、cGnRH-II と sGnRH はともに、ニューロンの活動電位を抑制することが知られている 2 種類のフォスファターゼ (PTP α と PTP ϵ) の遺伝子発現を抑制する機能をもつことが明らかとなり、これら 2 種類の GnRH 分子が、PTP の抑制を介して、性行動を促進するはたらきをもつことが考えられた。一方、トランスジェニック技術を用いて、メダカ初期発生過程における各 GnRH ニューロンの発生パターンを調べたところ、mdGnRH ニ

ニューロン、sGnRHニューロンともに嗅覚器原基と視索前野付近の2箇所です同時多発的に発生することが明らかとなった。また、sGnRHは胸腺原基付近でもその発現が認められ、sGnRHの免疫系への関与が示唆された。一方、cGnRH-IIニューロンに関しては、中脳で発生するというデータを得た。

次に、メダカからGnRH-Rのクローニングを行ったところ、2つのサブタイプに分類される合計3種類のGnRH-R (GnRH-R1/GnRH-R3及びGnRH-R2)が同定された。一方で、ヒトもメダカと同様、別々のサブタイプに分類される2種類のGnRH-Rをもつことが報告されているが、メダカとヒトがもつGnRH-R遺伝子座の構造を比較したところ、メダカとヒトの共通祖先は3つのGnRH-Rサブタイプをもっていたが、メダカとヒトはともに、進化の過程で1つずつ別々のGnRH-Rサブタイプを失い、両者とも、2つのサブタイプのみをもつようになったというモデルが考えられた。加えて、同様のゲノム比較解析により、ヒトでは、もともと1番染色体上に存在していたGnRH-R II遺伝子座が、染色体重複とレトロトランスポゾンのはたらきにより、3コピーまで数を増したが、その全てが偽遺伝子化していることが示唆された。

次に、メダカがもつ各GnRH-Rのリガンド選択性を調べたところ、それぞれのGnRH-Rは異なるリガンド選択性を有することが分かった。GnRH-R1は3種類のGnRH分子の全てに高い反応性を示したが、GnRH-R2はcGnRH-IIのみに特異的に高い反応性を示した。一方、GnRH-R3はcGnRH-IIとsGnRHに対して、同程度の高い反応性を示すが、mdGnRHに対する反応性は低いことが分かった。また、3種類のGnRH-R分子は全て、脳内の広範囲にわたる領域と下垂体において発現していることが明らかとなった。これらのことから、メダカの3種類のGnRH-Rは、どれも共通の発現部位を有するが、異なるリガンド選択性を示すことで、生体内ではそれぞれが異なる役割を演じていることが推測された。

以上、本論文は、メダカのGnRHおよびその受容体の構造と機能を明らかにするとともに、そこから見えてくる脊椎動物GnRHシステムの進化と機能を推察したもので、学術上寄与するところが大きい。よって審査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判定した。