

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 坂本 光平

季節繁殖動物であるヤギやヒツジでは、雄効果という強力なプライマーフェロモンの作用が知られており、性腺の活動が抑制されている非繁殖期にある雌が成熟した雄由来のフェロモンを受容すると、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) および、黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌の頻度が上がる。雄効果フェロモンの中枢内におけるターゲットは、GnRH パルスジェネレーターだと考えられているが、フェロモンの中枢作用機構についての詳細は不明である。本研究は、嗅覚系で受容された雄効果フェロモンの情報が生殖の中枢である視床下部へと伝達され、ホルモン分泌を引き起こす機構の解明を目的とするものである。本論文は以下のように5章で構成され、第1章において本研究の背景と目的が論じられている。

第2章では、主嗅覚系および鋤鼻系からのフェロモンシグナルが統合される扁桃体内側核と、成熟雄ヤギ被毛の暴露により神経活性化の指標となる c-Fos が発現することが明らかとなっている分界条床核に着目し、トレーサー標識法を用い雄効果フェロモンの情報伝達経路について検討が行われた。扁桃体内側核または分界条床核へ順行性トレーサーであるビオチン化デキストランアミン (BDA) の投与後、BDA 陽性線維の分布を観察した結果、扁桃体内側核、分界条床核ともに視床下部の腹内側核および弓状核へ多くの線維が投射していることが示された。また、扁桃体内側核から分界条床核への投射がみられたことから、雄効果フェロモンの情報伝達経路は、扁桃体内側核から直接視床下部へと伝達される経路と、分界条床核を経由し視床下部へ伝達される2つの経路がある可能性が示された。

第3章では、雄効果フェロモンの作用発現への関与について検討が行われた。キスペプチン類縁体 TAK-683 は GPR54 受容体アゴニストとして働き LH 分泌促進作用をもつが、慢性投与することにより逆にパルス状の LH 分泌を抑制する。卵巣除去 (OVX) ヤギを用い TAK-683 を慢性投与中に雄ヤギ被毛の呈示を行い、フェロモン作用発現の有無を調べた。その結果、雄ヤギ被毛呈示後 60 秒以内に全頭 MUA ボレーが誘起されるものの、その後の LH 濃度の上昇が抑制され、雄効果フェロモンはキスペプチンを介して LH 分泌作用を発現していることが明らかとなった。このことから、雄効果フェロモンのシグナルは、弓状核まで伝達されるとキスペプチンニューロンを活性化してキスペプチンの分泌を促し、その下流である GnRH および LH の分泌を誘起することが示唆された。

第4章では、弓状核キスペプチンニューロンに共在しているニューロキニン B (NKB) のフェロモン作用への関与について検討を行った。弓状核のキスペプチンニューロンには

NKB の受容体 (NK3R) も発現していること、キスペプチンニューロン同士が密なネットワークを形成していることが示されている。そこで、NKB が雄効果フェロモンによるキスペプチンニューロンの活性化を仲介しているという仮説について検討が行われた。OVX ヤギに TAK-683 慢性投与したうえで NKB 作動薬の投与を行った結果、フェロモン呈示時と同様に、MUA ボレーは誘起されるものの、LH の上昇は観察されなかった。したがって、NKB の作用はキスペプチンを介して発現することが示唆された。次に、雌ヒツジ脳室内に NKB を投与したところ弓状核キスペプチンニューロンの c-Fos の発現が有意に上昇することが観察された。一方、NKB 受容体のアンタゴニスト投与後に雄ヤギ被毛を呈示したところ、MUA ボレーおよび LH の上昇共に観察されなかった。すなわち、MUA ボレーの誘起には NKB のシグナルが必要であり、フェロモンによる弓状核キスペプチンニューロンの発火には NKB が関与している可能性が強く示唆されるとともに、フェロモンと NKB のシグナルは並列の関係ではなく、フェロモンが上位のシグナルであることが推察された。

第 5 章では総合考察が展開されている。本研究の結果より、弓状核に存在する新奇ペプチドであるキスペプチンが、フェロモンの中枢作用において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。こうした研究の成果は、哺乳類におけるフェロモンによる生殖機能の制御機構を理解する上で重要な知見であり、学術上貢献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 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。