

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 ZAHANGIR Mohammad Mahiuddin
学位 博士 (理学)
学位記番号 新大院博 (理) 第 468 号
学位授与の日付 令和3年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Studies on the role and regulation of kisspeptin and gonadotropin-inhibitory hormone system in the reproduction of grass and tiger puffers: Implication of melatonin in semilunar spawning rhythm
(クサフグとトラフグの生殖におけるキスペプチン/生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン系の役割とその調節に関する研究: 半月周性産卵リズムにおけるメラトニンの関与)

論文審査委員 主査 教授・安東 宏徳
副査 教授・井筒 ゆみ
副査 准教授・杉本 健吉
副査 准教授・飯田 碧

博士論文の要旨

脊椎動物の生殖機能は、季節や月周、日周などの周期的変化に合わせて、それぞれの動物種に特有のリズムを示す。生殖リズムに影響を及ぼす環境要因として、光（日光、月光）や温度、潮汐などがあるが、これらの要因がどのようなしくみで生殖リズムを調節しているのかは、まだよく分かっていない。脊椎動物の生殖機能の中樞は、視床下部-下垂体-生殖腺軸（HPG 軸）である。視床下部から分泌されるキスペプチン、生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン（GnIH）、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）は、下垂体の濾胞刺激ホルモン（FSH）と黄体形成ホルモン（LH）の分泌を調節し、生殖腺の機能を調節する。光や潮汐などの情報は脳内で統合されて視床下部に伝達され、キスペプチン、GnIH、GnRH を分泌する神経細胞を周期的に調節すると考えられるが、そのメカニズムは不明である。

本研究では、初夏に新月と満月の日に産卵を繰り返すクサフグを材料として、その半月周性（2週間周期）の産卵リズムを調節する神経内分泌機構を明らかにすることを目的とした。キスペプチン（Kiss2）と GnIH（GnIH-1、GnIH-2）の投与実験により、キスペプチンと GnIH の機能を明らかにすると共に、月周に同調した産卵リズムの調節に関わる情報分子として、光と時間に依存して松果体から分泌されるメラトニンに注目し、メラトニン投与による HPG 軸のホルモンと受容体の遺伝子発現レベルの変動、産卵期におけるクサフグの血中メラトニン濃度の日周変動、月周変動、弱光照射による変動を解析した。さらに、クサフグに近縁種で春に産卵を繰り返すトラフグを用いて、未成熟魚、成熟魚、排卵後の魚における HPG 軸のホルモンと受容体の遺伝子発現レベルの違いを解析し、フグ科魚類におけるキスペプチン/GnIH 系の生殖調節における役割を明らかにした。

1) キスペプチンと GnIH の機能解析

クサフグの未成熟魚、成熟魚、生殖腺が退行した魚の腹腔内に、Kiss2、GnIH-1、GnIH-2 を投与して、HPG 軸のホルモンと受容体の遺伝子発現レベルの変化をリアルタイム PCR 法で解析した。Kiss2 は、未成熟魚と成熟魚の脳内でキスペプチン受容体（Kiss2r）と GnRH、下垂体で Kiss2r、FSH、LH の各遺伝子の発現を刺激し、GnRH 分泌を介した神経内分泌

作用と下垂体への直接作用によって生殖機能を刺激することが明らかになった。一方、GnIH-1は成熟魚においてGnRHとFSH、LHの遺伝子発現を高めたが、GnIH-2は退行した魚において発現促進作用を持たなかった。GnIHの作用はホルモンの種類と生殖腺の成熟状態により異なると考えられる。本研究によって、キスペプチンとGnIHは共に、性成熟が進行している個体で、視床下部においてGnRHの発現を誘導すると共に、下垂体においてFSH/LHの発現を直接的に刺激することにより、生殖機能を刺激することが明らかになった。

2) メラトニンによるHPG軸の調節と月光に応答した血中メラトニン濃度の変化に関する研究

産卵期にクサフグを採集し、腹腔内にメラトニンを投与してHPG軸のホルモンと受容体遺伝子の発現レベルの変化を解析した。メラトニンは、Kiss2、Kiss2r、GnIH、GnIH受容体(GnIH-R)、GnRH、FSH、LHの各遺伝子の発現を刺激し、生殖機能に促進的に作用することが明らかになった。一方、血中メラトニン量の周期的変動と弱光に対する変動をLC-MS/MS法により解析した結果、メラトニン量は夜間に高まる明瞭な日周変動を示したが、その夜間の量は新月から満月を経て新月までのひと月の中で月齢に伴った変動は示さなかった。さらに、夜間に月光に近い照度の光を照射してメラトニン量の変化を解析した結果、3年間の各産卵期に行った実験において異なる変動を示した。これらの結果は、メラトニンはHPG軸の遺伝子発現を刺激して生殖機能の調節に関わるが、メラトニン量は月齢に伴って変化する月光に対応した変化は示さないことがわかった。クサフグの脳内でメラトニン受容体の遺伝子発現は約15時間周期で変動することがわかっており、メラトニンは月光の情報ではなく、潮汐サイクルの情報をHPG軸に伝える可能性がある。概潮汐時計と概日時計は約2週間周期で共振動することから、メラトニンは潮汐サイクルと半月周期のリズムの協調に働き、半月周性の産卵リズムの調節に関わると考えられる。

3) トラフグにおける性成熟に伴ったHPG軸のホルモンと受容体の遺伝子発現変動

トラフグの未成熟魚、成熟魚、排卵後の個体におけるHPG軸のホルモンと受容体の遺伝子発現レベルをリアルタイムPCRで解析した。トラフグの脳内において、GnIH、GnIH-R、GnRH、FSH、LHの各遺伝子の発現レベルは成熟魚で高まると共に、排卵後の魚では著しく低下した。トラフグにおいても、GnIHは生殖機能に促進的に働くと考えられる。

審査結果の要旨

本研究では、半月周性の産卵リズムを持つクサフグとその近縁種のトラフグを用いて、生殖調節におけるキスペプチンとGnIHの機能を明らかにすること、月齢に同調した生殖リズムの調節におけるメラトニンの役割を明らかにすることを目的として、多面的な解析が行われた。キスペプチンとGnIHの両ホルモンが生殖促進作用を持つことが示されたのは、魚類において本研究が初めてである。また、キスペプチン/GnIHシステムの機能の月齢に同調した変動にメラトニンが関与することを初めて明らかにした。月齢に同調した生殖リズムの調節機構に関する研究はほとんどなく、本研究成果は高く評価される。

また、本論文の内容の一部は、申請者を筆頭著者とする以下の論文に掲載済みである。
Zahangir M., Matsubara H., Ogiso, S., Suzuki, N., Ueda H., Ando H. Expression dynamics of the genes for the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in tiger puffer (*Takifugu rubripes*) at different reproductive stages. *General and Comparative Endocrinology* 301, 113660.

よって、本論文は博士(理学)の博士論文として十分であると認定した。