

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 RAHMAN Mohammad Lutfar
学位 博士 (理学)
学位記番号 新大院博 (理) 第 455 号
学位授与の日付 令和 2 年 9 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 regulation of kisspeptin/gonadotropin-inhibitory hormone system in the lunar-synchronized spawning of grass puffer (クサフグの月周同調産卵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調節に関する研究)

論文審査委員 主査 教授・安東 宏徳
副査 教授・長束 俊治
副査 教授・西川 周一
副査 准教授・飯田 碧

博士論文の要旨

魚類の生殖リズムは多様性に富んでおり、それぞれの魚が生息環境に適応しながら固有の産卵リズムを持っている。魚類の生殖リズムに影響を及ぼす環境要因として、光や水温、潮汐などがあるが、これらの環境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、よく分かっていない。脊椎動物の生殖機能は、視床下部・下垂体・生殖腺系によって調節されている。その最上位の制御器官である視床下部から分泌される生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH)、キスペプチン、生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン (GnIH) は、下垂体から分泌される濾胞刺激ホルモン (FSH) と黄体形成ホルモン (LH) の分泌を調節して生殖機能を調節する。光や温度などの環境要因の情報は、脳内で統合されて視床下部に伝達され、GnRH、キスペプチン、GnIH を分泌する神経細胞の活動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、初夏の産卵期の大潮 (新月と満月) の日の満潮の前に海岸で産卵するというユニークな産卵回遊生態を持つクサフグを用いて、その半月周性 (2 週間周期) の産卵リズムにおけるキスペプチンと GnIH の役割を明らかにすることを目的とした。まず始めに、キスペプチン (Kiss2)、キスペプチン受容体 (Kiss2r)、GnIH、GnIH 受容体 (GnIH-R) の産生細胞の脳内分布を免疫組織化学法により解析し、Kiss2 と GnIH の機能形態学的構造を明らかにした。次に、周期的に変化する環境要因による Kiss2/GnIH ニューロン系の調節として、水温変化と月齢に伴ったこれらの遺伝子の発現量の変化を明らかにした。

1) Kiss2/GnIH ニューロン系の形態学的解析

クサフグの脳内において、Kiss2 免疫陽性細胞は、視索前野の大細胞性視索前核 (PMm) のみに局在していた。Kiss2r 免疫陽性細胞は、PMm と視床内側核、糸球体前核 (Pgm) に分布していた。また、GnIH 免疫陽性細胞は PMm と半円隆起に、GnIH-R 免疫陽性細胞は終脳および PMm、Pgm に分布していた。PMm ではこれらの 4 分子が共局在し、Kiss2 と GnIH の自己分泌調節、Kiss2 ニューロンと GnIH ニューロン間での機能的相互作用の可能性が示された。また、PMm には GnRH ニューロンが分布していると考えられ、Kiss2、GnIH と GnRH のニューロン間の機能的相互作用を支持する形態学的基盤が明らかにされた。

2) 水温による Kiss2/GnIH ニューロン系の遺伝子発現の調節

産卵期のクサフグを高温（28℃）と正常水温（21℃）で7日間飼育し、脳内の GnIH と GnIH-R の遺伝子発現量を解析した。高温下では生殖腺が退縮すると共に、両遺伝子の発現量が正常水温に比べて有意に減少した。同じ試料において、Kiss2、Kiss2r、GnRH、FSHβ、LHβの各遺伝子の発現が減少することが報告されており、GnIH は、Kiss2、GnRH と共に生殖腺の成熟を促進する働きを持ち、高温によるこれらの遺伝子の発現抑制によって生殖腺の退縮が起こることが示唆された。産卵期が終わる7月末には海水温は約28℃に上昇する。この水温上昇による Kiss2/GnIH ニューロン系の機能低下が産卵期の終了に重要なことが示された。

3) 月齢に伴った Kiss2/GnIH ニューロン系の遺伝子発現の変化

産卵期に1ヶ月間、クサフグを飼育し、5日おきに昼と夜の一定の時刻に脳を採集して、Kiss2、Kiss2r、GnIH、GnIH-R の各遺伝子の発現量の変化を解析した。これらの遺伝子は共に、月齢に伴って発現量が有意に変動し、Kiss2 と Kiss2r は満月の夜に、GnIH と GnIH-R は新月の夜に著しく発現量が増加することが明らかになった。Kiss2/GnIH ニューロン系の遺伝子が月齢に同調した周期的な発現調節を受けることが明らかになった。満月と新月の夜にこれらの遺伝子の発現が高まることにより、Kiss2/GnIH ニューロン系の機能が增強されて半月周性のリズムで産卵が起こることが示唆された。

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を用いて、その産卵リズムの調節におけるキスペプチンと GnIH の役割を明らかにすることを目的として、Kiss2/GnIH ニューロン系の形態学的解析、水温変化と月齢による Kiss2/GnIH ニューロン系の遺伝子発現の調節についての解析が行われた。本研究で得られた結果は、環境要因による生殖リズムの調節において、Kiss2/GnIH ニューロン系の周期的遺伝子発現調節が重要な役割を持つことを示したものであり、その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。
Rahman, M., Zahangir, M.M., Kitahashi, T. Shahjahan, M., Ando, H. (2019) Effects of high and low temperature on expression of GnIH, GnIH receptor, GH and PRL genes in the male grass puffer during breeding season. General and Comparative Endocrinology 282: 113200.

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。