

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	西山 真樹
学位	博士 (理学)
学位記番号	新大院博 (理) 第 388 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 24 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	Evolutionary studies on sex steroid hormone in the hagfish: plasma concentrations and biosynthetic enzymes (ヌタウナギからみた性ステロイドホルモンの進化的研究: 血中濃度と合成酵素)
論文審査委員	主査 教授・野崎 眞澄 副査 教授・長束 俊治 副査 教授・前野 貢 副査 准教授・井筒 ゆみ 副査 准教授・安東 宏徳

博士論文の要旨

脊椎動物の多様な進化は、内分泌器官である下垂体やそこから分泌される腺下垂体ホルモンを介した視床下部一下垂体系を獲得したことでもたらされたと考えられている。腺下垂体ホルモンのひとつである生殖腺刺激ホルモン (Gonadotropin, GTH) は、顎を持つ脊椎動物 (顎口類) において標的器官である生殖腺に作用し、様々な性ステロイドホルモンの合成・分泌を促す。そして、それらの性ホルモンが生殖腺の発達や配偶子の形成・成熟、産卵行動などを誘起している。一方、顎を持たない脊椎動物 (無顎類) の仲間であるヌタウナギ類は、現存種・化石種を含めて最古の脊椎動物と考えられていることから、ヌタウナギ類の生殖内分泌機構を理解することは、脊椎動物の生殖内分泌機構の起源や、それがどのように進化し、多様性を生じたのかを考えるうえできわめて重要である。ヌタウナギ類でも、最近、機能的な GTH が同定されたが、生殖腺から分泌されるホルモン分子についてはほとんど知られていない。本研究では、新潟県産クロヌタウナギ (*Paramyxine atami*) の性ステロイドホルモンの血中量を生殖腺の発達段階と関連づけて理解するとともに、ステロイド合成に関連する酵素群を探索し、得られた酵素の発現動態を生殖腺機能の調節と関連づけて理解することを目的とした。

1. 血中性ステロイドホルモン動態と生殖腺の発達段階の関係: エストラジオール 17β(E2)、テストステロン(T)、プロゲステロン(P)の血中濃度が測定された。メスでは血中 E2 量と生殖腺の発達との間に正の相関がみられ、卵黄形成の進んだ群で最も高い値を示した。血中 T と P 量は卵黄形成の未熟な成体群で最も高い値を示し、P 量については卵黄発達に伴い減少した。このことから、E2 がヌタウナギのメスにおいて生殖腺の発達、特に卵黄形成に関連しており、T や P は中間産物として存在する可能性が考えられた。一方のオスでは、生殖腺の発達と血中性ステロイドホルモン量の間に関連は得られなかった。

2. コレステロール側鎖切酵素(CYP11A)のクローニングと発現動態: クロヌタウナギの精巣から作成した cDNA ライブラリーの EST 解析により、ヌタウナギ *CYP11A* が同定され、その全長構造が明らかになった。生殖腺における *CYP11A* の遺伝子発現を調べると、メスでは卵黄形成、オスでは精子形成にともなう有意な発現量の上昇がみられたことから、*CYP11A* が性ステロイドホルモン合成酵素として働き、生殖腺の発達に関連していることが示唆された。また、*in situ hybridization* により、クロヌタウナギ生殖腺における *CYP11A* 発現が、脊椎動物における性ステロイド産生細胞として知られる精巣の間細胞(ライデッヒ細胞)と管状境界細胞、卵巣の莢膜細胞で確認された。さらに、クロヌタウナギ GTH を加えて培養した精巣では、有意に *CYP11A* の遺伝子発現が上昇していたことから、GTH により発現が誘導されたと考えられた。

ヌタウナギ下垂体 GTH 量が生殖腺の発達段階と一致しており、ヌタウナギ GTH を加えて培養した精巣から性ホルモンが放出されたこと、申請者が共著者として加わっている別論文で、E2 と T の生体内投与により下垂体 GTH の合成や分泌が抑えられたことを踏まえると、本研究により、脊椎動物はその進化の最初期に下垂体 (GTH) -生殖腺(エストロゲン)軸を確立したこと、そして、その後のホルモンの機能分化により、適応放散と今日の繁栄に寄与したことが考えられた。また、オスのヌタウナギでは E2 や T 以外のステロイドを主要性ステロイドホルモンとしている可能性が示唆された。

審査結果の要旨

ヌタウナギ類は脊椎動物の進化の最初期に出現した無顎類の遺存種であり、環境の季節変化に乏しい深海での生活に適応したため、体制の様々な部分で、原始性と退化性の両方を併せ持っている。下垂体も例外でなく、あまりの原始性のため、ヤツメウナギや顎口類の下垂体と形態学的に対応させることが難しく、先人たちの長年の努力にも関わらず、これまでヌタウナギ類の下垂体が内分泌器官として機能しているかどうかさえ疑問視されてきた。本研究に先立って、ヌタウナギが機能的な GTH を生産・分泌していることが明らかになったことから、その次の段階として、申請者はヌタウナギの生殖腺機能を性ステロイドホルモンの解析と関連づけて調べることになった。博士論文の要旨で述べたように、結果はきわめて明瞭で、本研究により、脊椎動物は進化の最初期に下垂体 (GTH) -生殖腺(エストロゲン) 軸を確立し、その後のホルモンの機能分化に寄与したことが明らかとなった。

以上のように、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。