

論文審査の結果の要旨

Region-specific changes in brain kisspeptin receptor expression during estrogen depletion and the estrous cycle

ラットの脳における Kisspeptin 受容体 mRNA の発現のエストロゲン応答性の部位特異性に関する組織化学的研究

日本医科大学大学院医学研究科 皮膚粘膜病態学分野

大学院生 尾崎 紗恵子

Histochemistry and Cell Biology 掲載予定 (doi: 10.1007/s00418-018-01767-z)

Kisspeptin は、gonadotropin-releasing hormone (GnRH)ニューロンを刺激し、視床下部-下垂体-性腺系 (HPG 軸) を活性化することで、哺乳類の生殖機能調節に重要な役割を担っている。Kisspeptin の脳内における発現・分布については、視床下部弓状核と前腹側室周囲核に局在し、それぞれの部位がエストロゲンによって正反対の制御を受けることや、発現分布に雌雄差があることが知られている。しかし、Kisspeptin 受容体である Kiss1R についてのエストロゲンによる発現調節や性差については十分な検索が行われていない。そこで申請者らは、ラットの脳における *Kiss1r* mRNA (以下、*Kiss1r*) の発現にエストロゲンに対する応答性と性差があるのか、及びこれらに対する部位特異性があるのかを検討することにした。

実験動物には 10 週齢の雌雄ウィスターラットを用いた。エストロゲンに対する応答性に関しては、卵巣摘除した OVX 群と卵巣摘除後に高濃度 estradiol を補充した OVX+high-E2 群を用意した。性差に関しては、オス、メス発情前期、メス発情間期の 3 群を用意した。先行実験で *Kiss1r* の発現が著明であったブローカ対角帯、弓状核、室傍核で凍結切片を作成し、*Kiss1r* mRNA の *in situ* hybridization を行い、陽性細胞数を数え、上記の群について比較検討した。

結果、エストロゲンに対する応答性に関しては、弓状核領域で OVX+high-E2 群が OVX 群より有意に陽性細胞数が減少していた。メスとオスに関しては、脳内全体の発現分布に差はなく、主要 3 部位の陽性細胞数に関しても有意な差はなかった。しかしメスの性周期間期では、室傍核で発情間期群が発情前期群より有意に減少していた。

Kiss1R の発現で、OVX 群と OVX+high-E2 群間で有意差がみられた部位 (弓状核) と、メス性周期間で有意差がみられた部位 (室傍核) が異なったことから、ラットの脳における *Kiss1r* の発現は部位により複雑に変化することが明らかとなった。一方、顕著な性差がある Kisspeptin とは異なり、*Kiss1r* の発現分布には性差がないことも明らかになった。また、エストロゲン受容体と *Kiss1r* の共発現も調べたが、共発現率は低かったことから、今回の実験で観察された *Kiss1r* の発現の変化は、エストロゲンの間接的な作用も関与している可能性が示唆された。

第二次審査では、①エストロゲンの間接的な作用で想定される機序、② *in situ* hybridization の解析上の問題点、③蛋白レベルの解析の可能性、などに関して質疑がなされ、それぞれに対して的確な回答が得られ、本研究に関する知識を十分に有していることが示された。

本論文により、Kisspeptin 受容体の性ホルモンや性差についての基礎的な知見が示され、その臨床的意義は高いと考えられた。以上より本論文は学位論文として価値あるものと認定した。