

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Absence of sex differences in diabetes-induced suppression of KNDy neurons in rats

糖尿病により抑制された生殖機能制御中枢の雌雄差に関する組織学的解析

日本医科大学大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野
大学院生 大塚 真衣
Journal of Endocrinology. 2024 Nov 20;263(3):e230293.掲載
DOI: 10.1530/JOE-23-0293

視床下部弓状核において *Kiss1* metastasis-suppressor (*Kiss1*)、tachykinin precursor 3 (*Tac3*, 別名 neurokinin B)、および dynorphin A (前駆体蛋白質である prodynorphin [*Pdyn*]より翻訳後にプロセッシングを受けて生成) を共発現するニューロン (以降 *KNDy* ニューロンと呼称) は黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌に関与し、性ステロイドホルモンの負のフィードバック作用を受けることで、視床下部-下垂体-性腺軸 (hypothalamic-pituitary-gonadal axis, HPG 軸) を制御している。糖尿病の合併症である生殖機能障害では HPG 軸の障害が要因のひとつと推測され、齧歯類を用いた糖尿病モデル動物では *KNDy* ニューロンの抑制が報告されている。しかし、*KNDy* ニューロンの抑制を誘発する糖尿病の重症度における雌雄の比較は報告されていない。申請者は、こうした先行研究の知見に基づき、糖尿病による中枢性生殖機能障害の性差解明を目的に、糖尿病モデルラットの *KNDy* ニューロンにおける遺伝子発現の雌雄差を解析した。申請者が先行研究を注意深く読み解き、糖尿病による中枢性生殖機能障害の性差を解明しようとした着想は、医学研究を進める上での基礎となる学識を備えており、ならびに必要な研究企画力を有することを示すものであり、十分に評価される。

成熟した Wistar-Imamichi 系ラットに膵β細胞を破壊する streptozotocin (STZ) を投与し糖尿病モデルを作製し、脳、血液、および性腺を採取した。脳切片を用いて、各神経ペプチドをコードする遺伝子である *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* の mRNA 発現を *in situ hybridization* 法により解析するとともに、血漿中の LH、性ステロイドホルモンの濃度を測定した。雌雄差の検討には二元配置分散分析・多重比較検定法を用いて解析した。申請者は、モデルラット作製、サンプル採取、組織化学、統計解析の手法を習得し、実験を遂行した。

性腺残存モデルラット弓状核の *Kiss1* および *Pdyn* 発現細胞数は雌雄とも STZ 投与量依存的に減少したが、統計的雌雄差は認められなかった。また、性腺除去による性ホルモン非存在下においても *Kiss1*、*Tac3*、*Pdyn* 発現、および血漿 LH 濃度が雌雄とも低下し、統計的雌雄差は認められなかった。以上より、成熟ラットの *KNDy* ニューロンは、雌雄とも糖尿病により抑制されるが、その抑制に雌雄差は認められないことを組織化学的に初めて明らかにした。この結果は、申請者が高度の実験技術や統計解析手法を獲得していることのみならず、神経解剖学的研究を遂行する優れた力量を持つことを示している。

二次審査では、神経ペプチド遺伝子を発現している細胞数減少の機序、HPG 軸における性腺の *KNDy* ニューロンへの影響度合、モデルラットの月経周期異常の機序、モデルラットへのインスリン投与による *KNDy* ニューロンの遺伝子発現抑制解除の推測、*KNDy* ニューロンの個々の神経ペプチドが成長ホルモン放出ホルモンニューロンに与える影響の相違等について質疑が行われ、申請者は真摯に回答し、発展的な議論を行った。

本研究は、生殖機能制御中枢である *KNDy* ニューロンにおいて、糖尿病が引き起こす抑制と性差に関する新知見を提供するとともに、申請者が自立した研究者としての能力を備えていることを示している。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。