

氏 名	顧 婷婷		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	理 学		
学位授与番号	博甲第	6 1 8 6	号
学位授与の日付	2 0 2 0 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	自然科学研究科 地球生命物質科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	ラットにおけるニューロメジン U の発現制御機構及び生理機能の解析		
論文審査委員	教授 竹内 栄	教授 中越 英樹	准教授 吉井 大志
<b>学位論文内容の要旨</b>			
<p>下垂体隆起部 (PT) はメラトニン受容体を高発現し、甲状腺刺激ホルモンの分泌を介して季節繁殖行動を促すことが広く知られている。近年、成獣雄ラットの PT においてニューロメジン U (NMU) が高発現し、その発現がメラトニンによる抑制的制御を受けて概日リズムを示すことが報告された。このことは、PT が NMU を介して日周期的な生理機能制御にも関与する可能性を示唆する。しかし、<i>Nmu</i> の発現制御のしくみについては不明な点が多く残されており、ラット NMU の生理機能についても脳室内投与実験結果に基づいた知見のみで、内因性 NMU の働きは明らかになっていない。</p> <p>本研究では、成獣雌ラットの PT における <i>Nmu</i> 発現の日内変動と雌性ホルモンの影響を検討すると共に、<i>Nmu</i> の発現制御のしくみを <i>in vitro</i> 系を用いて解析した。さらに、ゲノム編集により <i>Nmu</i> 遺伝子改変ラット (<i>Nmu</i><sup>-/-</sup>ラット) を作出し、内因性 NMU の生理機能を検討した。</p> <p>リアルタイム RT-PCR 解析と <i>in situ</i> hybridization 解析の結果、成獣雌ラットの PT における <i>Nmu</i> 発現は成獣雄ラットと同様な概日リズムを示す一方、その発現レベルは発情周期に伴って変化し、エストラジオール-17β (E<sub>2</sub>) によって低下することがわかった。RT-PCR 解析の結果、PT ではエストロゲン受容体 <i>Erb</i> の発現が検出されたことから、エストロゲンは <i>ERβ</i> を介して <i>Nmu</i> 発現を抑制することが示唆された。</p> <p>PT における <i>Nmu</i> 発現の概日リズム形成について、発現を促進する因子は不明であった。RT-PCR 解析の結果、PT ではアデノシン受容体 A2b が高発現していたことから、脳スライス培養系においてアデノシン投与の影響を調べたところ、PT における <i>Nmu</i> mRNA 発現が有意に上昇した。さらに、プロモーター解析でも、アデノシンが A2b を介して cAMP シグナル伝達経路を活性化し、<i>Nmu</i> の転写を促進した。以上から、PT における <i>Nmu</i> 発現がアデノシンによる促進的制御を受ける可能性が示唆された。</p> <p>新規に作出した <i>Nmu</i><sup>-/-</sup>ラットの形質を慎重に解析した結果、脳室内投与実験から提唱された NMU の摂食抑制作用を支持するデータは得られなかった。一方、<i>Nmu</i><sup>-/-</sup>母ラットでは出産の時間帯がばらつき、仔ラットの生存率の有意な低下が観察された。これらが <i>Nmu</i> 遺伝子欠損の直接的な影響であるのか、間接的影響であるのかは今後の課題として残された。</p> <p>本研究の結果は、PT における <i>Nmu</i> 発現が外部光環境シグナルのメラトニンと脳代謝シグナルのアデノシンによって制御されていることを示し、NMU がこれらの情報を統合して分泌される出力因子として機能している可能性を強く示唆する。さらに、<i>Nmu</i><sup>-/-</sup>ラットの解析から得られた結果は、NMU の生理機能の解明に繋がる新知見を提供するものと考えられる。</p>			

## 論文審査結果の要旨

下垂体隆起部 (PT) はメラトニン受容体を高発現し、甲状腺刺激ホルモンの分泌を介して季節繁殖行動を促すことが広く知られている。近年、成獣雄ラットのPTにおいてニューロメジンU (NMU) が高発現し、その発現がメラトニンによる抑制的制御を受けて概日リズムを示すことが報告された。このことは、PTがNMUを介して日周的な生理機能制御にも関与する可能性を示唆する。しかし、*Nmu*の発現制御のしくみについては不明な点が多く残されており、ラットNMUの生理機能についても脳室内投与実験結果に基づいた知見のみで、内因性NMUの働きは明らかになっていない。本研究では、成獣雌ラットのPTにおける*Nmu*発現の日内変動と雌性ホルモンの影響を検討すると共に、*Nmu*の発現制御のしくみを*in vitro*系を用いて解析した。さらに、ゲノム編集により*Nmu*遺伝子改変ラット (*Nmu*<sup>-/-</sup>ラット) を作出し、内因性NMUの生理機能を検討した。

リアルタイムRT-PCR解析と*in situ hybridization*解析の結果、成獣雌ラットのPTにおける*Nmu*発現は成獣雄ラットと同様な概日リズムを示す一方、その発現レベルは発情周期に伴って変化し、エストラジオール-17β (E2) によって低下することがわかった。RT-PCR解析の結果、PTではエストロゲン受容体Erβの発現が検出されたことから、エストロゲンはERβを介して*Nmu*発現を抑制することが示唆された。PTにおける*Nmu*発現の概日リズム形成について、発現を促進する因子は不明であった。RT-PCR解析の結果、PTではアデノシン受容体A2bが高発現していたことから、脳スライス培養系においてアデノシン投与の影響を調べたところ、PTにおける*Nmu* mRNA発現が有意に上昇した。さらに、プロモーター解析でも、アデノシンがA2bを介してcAMPシグナル伝達経路を活性化し、*Nmu*の転写を促進した。以上から、PTにおける*Nmu*発現がアデノシンによる促進的制御を受ける可能性が示唆された。新規に作出した*Nmu*<sup>-/-</sup>ラットの形質を慎重に解析した結果、脳室内投与実験から提唱されたNMUの摂食抑制作用を支持するデータは得られなかった。一方、*Nmu*<sup>-/-</sup>母ラットでは出産の時間帯がばらつき、仔ラットの生存率の有意な低下が観察された。

本研究の成果は、PTにおける*Nmu*発現が外部光環境シグナルのメラトニンと脳代謝シグナルのアデノシンによって制御されていることを示し、NMUがこれらの情報を統合して分泌される出力因子として機能している可能性を強く示唆する。さらに、*Nmu*<sup>-/-</sup>ラットの解析から得られた結果は、NMUの生理機能の解明に繋がる新知見を提供するものであり、当該分野の発展に多大の寄与を成すものである。従ってこの論文は著者がこの分野において自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示しており、よって顧 婷 婷提出の論文は博士 (理学) の論文として合格と認める。