

Studies on the GnRH system in the brain of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*

ザヒッド パルヴェス シュカン

<https://hdl.handle.net/2324/1398421>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名・(本籍・国籍)	ザヒッド パルヴェス シュカン Zahid Parvez Sukhan (バングラデシュ)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	生資環博甲第718号
学位授与の日付	平成25年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生物資源環境科学府 資源生物科学専攻
学位論文題目	Studies on the GnRH system in the brain of Japanese anchovy, <i>Engraulis japonicus</i> (カタクチイワシの脳におけるGnRHシステムに関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 松山 倫也 (副査) 教授 吉国 通庸 教授 服部 眞彰

論文内容の要旨

生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は脳の神経分泌細胞で産生・分泌されるアミノ酸 10 個からなるペプチドホルモンで、魚類は 2 あるいは 3 種の GnRH 分子種をもつ。脊椎動物における複数の GnRH 分子種は遺伝子重複によって生じたもので、3 つのグループに分けられる GnRH パラログをそれぞれ GnRH1、GnRH2、GnRH3 とよぶ。ニシン、マイワシ、カタクチイワシはニシン目に属し、海産食料資源として世界で最も重要な位置を占める魚種であるが、ニシン目魚類の生殖生理に関する情報は現在においてもほぼ皆無である。本研究は、飼育下で長期間にわたり産卵するカタクチイワシを対象にして、その GnRH システムを明かにすることを目的とした。

まず、GnRH の遺伝子クローニングを行った結果、本種は GnRH1 (ニシン型 GnRH)、GnRH2 (ニワトリ II 型 GnRH) および GnRH3 (サケ型 GnRH) をもつことが明らかとなった。他魚種の既存の情報と比較した結果、アミノ酸配列でそれぞれ 21-35% (GnRH1)、62-67% (GnRH2)、33-40% (GnRH3)

の相同性を示した。つぎに、ISH 法および免疫組織化学的手法により、脳内における 3 種 GnRH の産生細胞の分布局在を調べた。GnRH1 の特異抗体は新たに作製した。その結果、GnRH1 細胞は視索前核と嗅球に、GnRH2 細胞は中脳被蓋に、GnRH3 細胞は嗅球および終神経節に分布しており、このうち、視索前核に局在する GnRH1 細胞から伸長した神経軸索は、脳下垂体の前葉主部にある GtH 産生細胞へ直接投射していた。これら 3 種 GnRH 細胞の分布パターンにおける雌雄間での差異は認められなかった。以上の結果より、カタクチイワシでは視索前核の GnRH1 細胞で産生される GnRH1 が、本種の生殖に関与することが示唆された。さらに、繁殖周期に伴う脳内における 3 種 GnRH の mRNA 量の発現解析を行った。その結果、いずれの GnRH の mRNA 量においても、統計的变化は認められなかったものの、唯一、排精期の雄において GnRH3 mRNA 量の上昇が認められた。

以上、本研究において、初めてニシン目魚類における GnRH の分子種および各種 GnRH 細胞の脳内分布が明らかとなり、今後、本種を用いたニシン目魚類の繁殖に関する脳機能研究が進展することが期待される。

論文審査の結果の要旨

魚類の性成熟は、他の脊椎動物と同様に、環境情報や内在性リズムに基づく生理情報が最終的に脳の視床下部で統合され、神経ホルモンや神経伝達物質等の神経情報として脳下垂体へと伝えられ、脳下垂体における生殖腺刺激ホルモン (GtH) の合成、放出を促進する。生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は脳の神経分泌細胞で産生・分泌されるデカペプチドで、魚類は 2 あるいは 3 種の GnRH 分子種をもつ。脊椎動物における複数の GnRH 分子種は遺伝子重複によって生じたもので、3 つのグループに分けられる GnRH パラログをそれぞれ GnRH1、GnRH2、GnRH3 とよぶ。ニシン、マイワシ、カタクチイワシ等のニシン目魚類は、海産食料資源として世界で最も重要な位置を占める魚種であるが、ニシン目魚類の生殖生理に関する情報は現在においても極めて乏しい。本研究は、飼育下で長期間にわたり自然産卵するカタクチイワシを対象にして、その生殖に関する GnRH システムを明かにすることを目的とした。

まず、GnRH の遺伝子クローニングを行った結果、本種は GnRH1、GnRH2 および GnRH3 に属す 3 種 GnRH をもち、アミノ酸配列よりそれぞれニシン型 GnRH、ニワトリ II 型 GnRH およびサケ型 GnRH であることを明らかにした。これは、ニシン目魚類における 3 種 GnRH 遺伝子の一次構造の最初の報告となった。アミノ酸配列を他魚種の既存の情報と比較した結果、それぞれ 21~35% (GnRH1)、62~67% (GnRH2)、33~40% (GnRH3) の比較的低い相同性を示し、系統樹解析では、それぞれ最外側に位置する祖先型オーソログであることを明らかにした。つぎに、産卵期間中の雌雄の成魚それぞれ 20 尾を用い、in situ hybridization 法および免疫組織化学的手法により、脳内における 3 種 GnRH の産生細胞の分布局在を調べた。その結果、GnRH1 細胞は視索前核と嗅球に、GnRH2 細胞は中脳被蓋に、GnRH3 細胞は嗅球および終神経節に分布しており、このうち、視索前核に局在する GnRH1 細胞から伸長した神経軸索が、脳下垂体の前葉主部にある 2 種の GtH 産生細胞 (FSH 産生細胞および LH 産生細胞) へ直接投射していることを明らかにした。また、これら 3 種 GnRH 細胞の分布パターンにおける雌雄間での差異は認められなかった。最後に、これらの結果に基づき、カタクチイワシでは視索前核の GnRH1 細胞で産生されるニシン型 GnRH が本種の生殖に関与している、と結論付けた。

以上、カタクチイワシを用いた本研究は、ニシン目魚類における GnRH の分子種および各種 GnRH 細胞の脳内分布を初めて明らかにするとともに、ニシン型 GnRH (GnRH1) が本種の性成熟を制御していることを示唆したもので、魚類内分泌学および水産増殖学の発展に寄与する価値ある業績と

認める。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格があるものと認める。