

氏名・本籍	大川 奈菜子（兵庫県）
学位の種類	博士（理学）
報告番号	甲第 125 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項 該当者
論文題目	ホヤ幼生における GnRH 神経系とグリア上衣細胞 の機能解析
審査委員	(主査) 教授 日下部 岳広 (副査) 教授 向 正則 (副査) 教授 久原 篤

### 論文内容の要旨

ゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) は、下垂体からゴナドトロピンを放出させる神経ペプチドであり、脊椎動物の生殖機能の重要な調節因子である。また、GnRH は神経修飾因子として脳の各所や嗅上皮などの活動の調節を行っていると考えられている。以前の研究で、カタユレイボヤ幼生において、GnRH をコードする *gnrh2* 遺伝子が脊椎動物の後脳・脊髄の相同器官である運動神経節と神経索で発現し、その受容体が筋肉細胞で発現していることが明らかにされた。ホヤ幼生は生殖活動とは無関係な発生段階であるため、GnRH の新奇生理機能が推測された。本研究では、ホヤ幼生における GnRH および *gnrh2* 発現細胞の生理機能を明らかにすることを目的として、*gnrh2* を発現する細胞を同定し、蛍光  $\text{Ca}^{2+}$  センサータンパク質を用いて、これらの細胞の活動をリアルタイムで可視化した。その結果、(1) *gnrh2* を発現する特定のコリン作動性ニューロンが尾芽胚期に周期的な活動を示す、(2) *gnrh2* を発現する尾部神経索のグリア上衣細胞で幼生の遊泳運動や眼点への光刺激と連動した  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化が起こる、という 2 つの新しい現象を発見した。運動に伴うグリア細胞の活動は過去に知られていない現象であるため、この現象のしくみと生理機能を明らかにすることを目的として、光活性化イオンチャネルを用いた光遺伝学的手法とカルシウムイメージングを併用し、運動神経節のニューロンの活動とグリア上衣細胞の活動の相関性を解析した。その結果、コリン作動性ニューロンを活性化した後、

グリア上衣細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が上昇した。また、単一細胞トランスクリプトーム解析の結果、ニコチン性アセチルコリン受容体をはじめとする複数種類の神経伝達物質受容体がグリア上衣細胞に発現していることが明らかになった。これらの結果より、ホヤ幼生において、コリン作動性ニューロンからの情報をグリア上衣細胞が受け取り、相互作用していることが示唆された。以上、本研究では、*gnrh2* 発現細胞の解析を通して、ホヤ幼生のいくつかのニューロンのユニークな性状を明らかにするとともに、グリア細胞の活動およびニューロンとの相互作用に関する新たな知見を得た。脊椎動物においても、グリア細胞がニューロンと情報交換を行い、脳機能に重要な役割をもつことが明らかになりつつあるが、詳細は未解明である。本研究では、ホヤ幼生において、ニューロンだけでなく、グリア細胞が神経や筋肉の活動の制御に能動的に関与している可能性が示され、グリア細胞の機能と役割の理解に貢献することが期待される。

## 審査結果の要旨

大川 奈菜子氏の研究は、中枢神経系におけるゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) を産生する細胞を同定し、その生理機能を明らかにすることを目的として行われた。大川氏の研究の新規性は次の3つの点に要約できる。一つは中枢神経系においてGnRHを産生すると考えられる細胞を正確かつ網羅的に同定することにより、これまで生殖を司る脳ホルモンとしてはたらくに注目されてきたGnRHの非生殖性生理機能を解明するための明確な手がかりを提示した点である。2つ目は、光遺伝学とカルシウムイメージングを個体レベルで行う実験系を確立した点である。ホヤ幼生において個体レベルでカルシウムイメージングによりホヤ幼生の細胞活動を可視化したのは、本研究が最初であり、ホヤにとどまらず、脊椎動物を含めても光遺伝学とカルシウムイメージングを個体レベルで同時に組み合わせた研究例は、本研究以前にはほとんどない。3つ目は、中枢神経系の構造的要素と考えられてきたグリア上衣細胞が、動物の環境情報の受容や運動に伴って活動するという新しい現象を発見し、この現象の背後にニューロンとグリア細胞の間の情報交換があることを示した点である。さらに大川氏は本研究を通して、ホヤと脊椎動物の神経系の新たな共通性を提示した。

本研究の成果は、第44回日本神経科学大会/CJK第1回国際会議(2021年、神戸)及び11th International Tunicate Meeting(2022年、神戸)において英語で口頭発表され、他の学会でも多数発表されている。また、成果の一部は、権威ある査読付の国際学術誌である *Scientific Reports* 誌(副論文1編、参考論文1編)に公表され、国内外において高い評価を受けている。2023年2月7日、甲南大学学位規程に従い公開講演を行い、本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明は明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により上記審査委員は本論文提出者（大川 奈菜子）が、博士後期課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査及び最終試験に合格したので、博士（理学）の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。