氏名（本籍）	佐越　祥子（秋田県）
学位の種類	博士（行動科学）
学位記番号	博甲第　9712　号
学位授与年月	令和　2　年　9　月　25　日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Expression and Function of Estrogen Receptor Beta in the Neural Networks for Social Behavior in Mice （マウスの社会行動神経ネットワークにおけるエストロゲン受容体ベータの発現と機能）
主　　　査	筑波大学教授　博士（心理学）　山田　一夫
副　　　査	筑波大学教授　博士（医学）　武井　陽介
副　　　査	筑波大学准教授（連携大学院）博士（心理学）武田　裕司
副　　　査	鹿児島大学教授　博士（心理学）　富原　一哉

論文の内容の要旨

佐越祥子氏の博士学位論文は，マウス脳内におけるエストロゲン受容体ベータ（ERβ）の発現解析を行うとともに，社会行動調節に対する ERβの機能を検討したものである。その要旨は以下の通りである。

まず序論で，著者は，攻撃行動や性行動などを含む多くの社会行動が内分泌系，とりわけ性ステロイドホルモンの影響を受け，特に性ステロイドホルモンの１つであるエストラジオール（E2）による社会行動調節には，核内エストロゲン受容体であるエストロゲン受容体α（ERα）と ERβが主に関与していると考えられている一方で，ERβ発現を可視化する方法の技術的制約のために ERβ発現の詳細な分布については未だ解析が進んでいないことを指摘している。また ERβは ERαと細胞レベルで共発現が認められるのか，どのようなタンパク質とどの脳領域において共発現をしているのかなどについても十分に理解されていないことから，本論文の目的は，ERβ遺伝子プロモーター領域の下流に赤色蛍光タンパク質（RFP）を挿入して作出したトランスジェニックマウス（ERβ-*RFP*^{tg}マウス）において，免疫組織化学染色法により RFP を検出することによって，マウス脳内における ERβの発現解析を行うとともに，社会行動調節に対する ERβの機能を検討することであると述べている。

第１章では，社会行動関連領域における ERβ-RFP の分布とその性差，さらに精巣・卵巣除去が ERβ発現に与える影響について検討している。その結果，視床下部室傍核（PVN），視床下部内側視索前野（MPOA），分界条床核（BNST），内側扁桃体（MeA），背側縫線核（DRN）において強い ERβ-RFP 発現が観察され，さらに，これらの脳部位の中で，BNST と MeA 後背側部（MeAPD）において ERβ-RFP の発現に性差が認められたが，上述した４つの脳領域全てにおいて精巣・卵巣除去の影響は認められないことを明らかにしている。

次に第２章で著者は，ERαと ERβの脳内分布を比較し，MPOA，BNST，MeAPD では ERαと ERβの発現がみられ，ERαあるいは ERβのみを発現する細胞が集中している領域，同一細胞内に ERαと ERβの共発現細胞が局在している領域，および ERα陽性細胞と ERβ陽性細胞の両方が分布しているが共発現はしていない領域を同定している。また PVN と DRN では ERβが優勢的に分布していることを明らかにした。

続いて第３章で著者は，２種の ER とオキシトシン系の関連を解析し，PVN の ERβ-RFP はオキシト

シン（OT）産生神経細胞内に高頻度で発現し，ERβ-RFP とオキシトシン受容体（OTR）は多くの脳領域で同一領域に分布していたにも関わらず，共発現は MeAPD の後部（MeAPDp）のみで認められることを明らかにし，PVN における E2 によるオキシトシン発現の調節は ERβを介し，MeA の OTR 発現の調節はは ERαを介するという, エストロゲン系とオキシトシン系の２つのシステムによる調節が社会行動調節の神経回路に関与していることを解剖学的に実証した。さらにこれらの結果から著者は，MeAPDp での E2 の作用による OTR 発現調節には，ERαのみではなく ERβも関与している可能性があると述べている。

次に第４章で著者は，ERβとプロゲステロン受容体（PR）の共発現について解析し，PR と ERβの共発現は MPOA の一部で見られた一方で，DRN においては PR 陽性細胞のほとんどが ERβ-RFP 陽性細胞中に発現していること，加えて先行研究と一致して，DRN の ERβ-RFP 陽性細胞はトリプトファンハイドロキシラーゼ陽性細胞中に発現していることを明らかにしている。そこで著者は，MPOA とは異なり，DRN での E2 による PR 調節は ERβを介していることが強く示唆されると述べている。

そして最後に著者は第５章において，非社会的あるいは社会的ストレス下での ERβ-RFP 発現細胞の c-Fos 発現の様相を比較することで，社会的な文脈特異的に PVN の ERβが活性するかどうかを検討している。その結果，上述した結果では社会行動に関与する様々なタンパク質と ERβの共発現が認められたにも関わらず，非社会的あるいは社会的ストレス下での ERβ-RFP 発現神経細胞の活性の差は見られないことを明らかにしている。

以上の結果を踏まえて，最後の総合考察において著者は，ERβの機能や機序を検証する上での ERβ-*RFP*^{tg} マウスの有用性に言及し，今後，ERβの部位特異的なノックダウンや，ERβ-Cre マウスと光遺伝学的, 薬理遺伝学的操作を組み合わせることによる ERβ発現細胞の特異的な操作，ERβ発現細胞の神経投射を検証することで, 社会行動神経回路における ERβの役割をさらに検討する必要があると結論づけた。

審査の結果の要旨

（批評）

本論文は，ERβ-*RFP*^{tg} マウスを用いた免疫組織学的検索により，ERβ発現細胞と ERαをはじめとする関連タンパク質との共発現を示した初めての研究である。従来の薬理学的な検証や脳部位特異的な ERβノックダウンなどの手法を用いた研究では，ERβを介した E2 の作用が社会行動制御に極めて重要であることが指摘されてきたが，ERβの脳内分布や他の関連するタンパク質との共存は十分に理解されていなかった。本論文の知見は，性ステロイドホルモンであるエストロゲンによる社会行動調節のメカニズム解明に新たな視点を提供するものであり，この点において本論文は高く評価できる。

令和２年９月１日，オンラインによる学位論文審査委員会において，審査委員全員出席のもと論文について説明を求め，関連事項について質疑応答を行い，最終試験を行った。その結果，審査委員全員が合格と判定した。

よって，著者は博士（行動科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。