

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 北 芳 博

本研究では細胞質型ホスホリパーゼ A₂ の生殖機能における役割を明らかにする一端として、細胞質型ホスホリパーゼ A₂ 欠損メスマウスを用いて、このマウスの妊娠障害について検討し、さらにそのメカニズムについて論じた。本研究により下記の結果を得ている。

1. 遺伝的背景の純化を行なったマウスにおける産仔数の比較

cPLA₂ 欠損マウスについて C57BL/6J マウスに戻し交配を行い遺伝的背景を純化することにより、遺伝的背景のばらつきによる影響を排除した表現型を解析した。

このマウスの自然交配における産仔数を cPLA₂ 欠損メスマウスまたは野生型メスマウスについて比較したところ、野生型マウスでは交配が成立したマウスの全てについて少なくとも 1 匹、平均で 6~7 匹の産仔数が見られたのに対し、cPLA₂ 欠損メスマウスでは、交配成立マウスの約半数において胎仔が存在せず、妊娠初期の胎盤形成以前の段階における重篤な障害が存在することが明らかとなった。

2. 排卵数

自然交配における排卵数を、膣栓確認後、卵管の洗浄により卵を回収して数えた。また、ゴナドトロピン投与による排卵誘発による排卵数も比較した。その結果、自然排卵、排卵誘発時のいずれにおいても cPLA₂ 欠損メスマウスと野生型マウスの間に有意な差は見られなかった。

3. 着床前の胚発生

次に、受精卵の着床前の胚発生が正しく行なわれているか検討するため、胚盤胞形成について検討した。野生型メスマウス由来の胚は、ほぼ全て正常に胚盤胞を形成することが観察された。cPLA₂ 欠損メスマウス由来の胚は培養後約半数が胚盤胞を形成した。胚盤胞形成にいたらなかったものについては、未受精、もしくは受精後卵割しなかった可能性が考えられた。

4. 着床

妊娠 4.5 日に子宮の着床痕を染色することで自然交配時における着床数を検討した。野生型では全ての子宮に着床痕が観察されたが、cPLA₂ 欠損マウスでは半数の個体において着床痕が確認されなかった。また、cPLA₂ 欠損マウスで観察された着床痕の染色は淡い傾向が見られた。

5. 着床

異常の原因が黄体機能不全による性ホルモン産生の不足である可能性を検討するため、妊娠 4.5 日における血中性ステロイドホルモン量を測定した。その結果、野生型マウス、cPLA₂ 欠損マウスのいずれも妊娠に伴い血中プロゲステロンの濃度の上昇が見られ、cPLA₂ 欠損による初期妊娠の異常が性ステロイドホルモンの分泌量低下によるものではないと考えられた。

6. 子宮におけるプロスタグランジン産生

cPLA₂がどの脂質メディエーターを産生することにより着床の過程に関わっているか検討するために、妊娠4.5日の子宮に含まれるプロスタグランジン類の定量を行なった。その結果、PGI₂については野生型メスマウスの子宮に比べ、cPLA₂欠損メスマウスの子宮では有意に低いレベルであった。これに対し、PGE₂は野生型マウスおよびcPLA₂欠損マウスにおいて同程度の産生が見られた。PGF_{2α}含量は両遺伝型において検出限界以下であった。

以上、本論文は cPLA₂ が妊娠初期において、着床前発生および着床に重要な役割を果たしていることを明らかにした。特に重篤な着床障害が見られることから、cPLA₂ は着床に不可欠な PLA₂ であること、また同酵素が着床時期における PGI₂ 産生に関与していることを明らかにした。本研究では従来の研究では不明であった cPLA₂ の妊娠初期における役割について重要な知見が得られたものであり、妊娠のメカニズムの研究に重要な貢献をなすものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。