

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 陳 秋 梅

本研究は Fas/Fas リガンドシステムが顆粒膜細胞(GC)に対するアポトーシスの誘導のシグナル伝達機構を検証し、また、NO が卵胞発育・閉鎖の安定化因子としてアポトーシスを制御していることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1、生細胞において mitochondrial dehydrogenase により MTS が formazan 産物に転換され蛍光発色するという性質を利用し、細胞生存率を解析した。可溶性リコンビナント Fas リガンドは GC 生存率を有意に減少した。また、Fas リガンド添加 30 分前に Caspase 拮抗剤を添加すると、細胞生存率は減少せず無添加群と同程度であった。

2、Hoechst 染色法、フローサイトメトリーにより Fas リガンドがアポトーシスを誘導することが示された。NO 供与剤 SNA と Fas リガンドの同時添加により、GC のアポトーシスを抑制された。

3、Western blot 法にてアポトーシス関連 Fas タンパク発現量の変動を検討結果、Fas リガンド添加後、Fas 発現量は有意に増加し、SNAP の同時添加はこれに影響を与えなかったことを認められた。

4、アポトーシス実行機構としての Caspase-3、-8、-9 の活性を Western blot 法にて検討した。Fas リガンド添加により Caspase-3、-8、-9 の活性は有意に亢進した。

SNAP と Fas リガンドの同時添加では、Caspase-3、-8、-9 の活性は有意に低下した。

5、Real time RT-PCR 法により Fas/Fas リガンドシステムの iNOS mRNA レベルへの影響について検討した。Fas リガンドは GC の iNOS mRNA レベルが有意に低下することを確認した。

以上、本論文はラット GC 培養系において、Fas/Fas リガンドシステムの細胞死シグナル伝達機構に Caspase カスケードが関与し Caspase-3、-8、-9 が活性化される一方で iNOS mRNA レベルは低下すること、および NO が Caspase-3、-8、-9 の活性を低下させ Fas-Fas リガンドシステムによるアポトーシス誘導効果を抑制することが示唆された。ラット GC 培養系において、Fas/Fas リガンドシステムによるアポトーシス伝達機構と NO の抗アポトーシス情報伝達系との間にクロストークが認められた。本研究は卵胞の選択的発育と閉鎖の誘導・調節機構のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。