

[ 別 紙 2 ]

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 前田 晃央

雌の哺乳類においては胎児期に卵祖細胞の体細胞分裂が終了し、性成熟に達した成体の卵巣内にはディプロテン期で減数分裂が休止している卵母細胞が5万から80万個含まれている。これらの卵母細胞の一定数が性周期毎に減数分裂を再開して発育・成熟して排卵されるが、この過程で99%以上の卵胞が選択的に閉鎖してしまい、排卵されるものは1%にも満たない。この卵胞閉鎖の誘起に顆粒層細胞のアポト-シスが支配的に関与しているが、その制御機構やアポト-シスシグナルの細胞内伝達経路などに関しては多くの点が未解明である。

申請者は、重要な家畜であるブタの卵巣を用いて、卵胞の発育と閉鎖、排卵などの様々な現象の制御に関与していると推測されてきている interleukin-6 (IL-6) の顆粒層細胞における発現が卵胞閉鎖に伴って減少することを見だし、健常卵胞の顆粒層細胞によって盛んに合成・分泌されている IL-6 が顆粒層細胞のアポト-シスを抑制することで卵胞閉鎖を阻害していると推測したので、これに注目して顆粒層細胞アポト-シスの制御における役割を詳細に調べた。卵胞閉鎖に伴って顆粒層細胞によって合成されて卵胞液中に分泌される可溶性 IL-6 受容体 (IL-6 sR) は減少し、膜結合型 IL-6 受容体 (IL-6 R $\alpha$ ) は増加すること、IL-6 とこれら受容体が結合した複合体と結合してしてシグナルを細胞内に伝える受容体サブユニット (gp130) をクロニングしてこれが閉鎖に伴って低下することを示した。IL-6 およびこれら受容体とサブユニットの閉鎖に伴う推移を合わせて考えると、健常卵胞の顆粒層細胞では IL-6 シグナルが IL-6 sR と gp130 を介して細胞内に伝達されてアポト-シスを抑制して卵胞閉鎖を阻害していると推察された。続いて IL-6 によるアポト-シス阻害の分子機構を調べた結果、健常卵胞の顆粒層細胞においては IL-6 が murine double minute 2 (MDM2) をリン酸化 (活性化)

させてアポト-シス亢進因子 p 5 3 の分解を促進させることで p 5 3 のアポト-シス亢進作用を示せなくしていること、逆に閉鎖卵胞顆粒層細胞ではMDM2のリン酸化が停止して p 5 3 のアポト-シス亢進作用が発揮されることが分かった。顆粒層細胞においては、p 5 3 が細胞膜上に発現している主要な細胞死受容体 F a s の転写を亢進するが、ミトコンドリアを介した主要なアポト-シス亢進因子 B a x の転写には影響しないことも分かった。以上のように I L-6 が顆粒層細胞におけるアポト-シスを阻害していることが分かったので、何が I L-6 発現を誘導するのか探索し、tumor necrosis factor (TNF)  $\alpha$  が TNF II 型受容体と結合して下流のシグナル伝達経路 NF- $\kappa$  B を活性化することを介して I L-6 の発現を誘導していることを明らかにした。

以上のように多くの新規知見を含む申請者の研究によって、哺乳類の卵胞顆粒層細胞では TNF- $\alpha$  シグナルが NF- $\kappa$  B 活性化を介して伝達されることによって I L-6 が誘導されること、このシグナルは受容体のうち主に I L-6 s R と g p 1 3 0 複合体を介して細胞内に伝達され、MDM2 をリン酸化（活性化）することで p 5 3 のユビキチン-プロテアソーム系を介した分解を促進すること、その結果 p 5 3 によって転写亢進される細胞死受容体 F a s の発現が低下すること、これによってアポト-シスが阻害されて卵胞を健全な状態に維持していることが分かった。申請者の研究業績をとりまとめた論文の内容および関連事項について試験を行った結果、審査委員一同が博士（農学）の学位を受けるに必要な学識を有する者と認め、合格と判定した。