

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 崔 宰赫

20 α -水酸化ステロイド脱水素酵素 (20 α -HSD) は、黄体ホルモン (progesterone) を生物学的に不活性な 20 α -dihydroprogesterone (20 α -OHP) に代謝する酵素で、ラットやマウスなどの齧歯類では主として黄体に発現し、黄体の機能的退行に中心的役割を担っていると理解されている。一方、多くの動物種で子宮、胎盤、胎仔などの組織においても 20 α -HSD が発現していることが報告されている。これらの組織における 20 α -HSD の機能についてはまだ必ずしも明らかになってはいないが、progesterone のもつ細胞増殖抑制作用などの細胞毒性作用を緩和する役割があるのではないかと想定されている。そこで、本研究では申請者の研究室で作出された 20 α -HSD 遺伝子欠損マウスを用いて、第 1 章では機能的黄体退行における 20 α -HSD の役割、第 2 章では妊娠の維持と胎仔の生存における 20 α -HSD の役割を解明することを目的とした。

第 1 章では、C57BL/6J 系および規則的な 4 日間の性周期を回帰することが知られている 4CS 系のマウスを用いて実験を行った。C57BL/6J 系の 20 α -HSD KO マウスでは、性周期中の発情休止期、偽妊娠、妊娠のいずれの期間も野生型 (WT) よりも有意に延長していた。しかし、その延長はいずれも軽微で、性周期回帰が完全に阻害されることもなかった。これらの結果は、マウスの機能的黄体退行に 20 α -HSD は確かに関与しているが、他のメカニズムも重要な役割を果たしていることを示唆している。4CS 系マウスの WT とヘテロ (HZ) では、ほぼ 4 日の規則的な性周期が観察されたが、20 α -HSD KO マウスでは発情休止期の有意な延長が観察された。興味深いことに、4CS 系の 20 α -HSD KO マウスにおける性周期は、C57BL/6J 系の 20 α -HSD KO マウスよりもより延長していた。このことは、C57BL/6J 系マウスの性周期黄体の退行には 20 α -HSD 以外の因子も大きく関与しているが、4CS 系マウスの性周期黄体の退行は 20 α -HSD により大きく依存していることを示している。4CS 系マウスの性周期が規則的であることを考え合わせると、規則的な性周期の回帰には、黄体退行が 20 α -HSD に依存し、その発現が厳密に制御されている必要があることが考えられた。

第 2 章では、全て C57BL/6J 系のマウスを用いて実験を行った。まず、HZ の個体を交配して遺伝子型ごとの胎仔数を日を追って調べた結果、妊娠 13 日では WT:HZ:KO はメンデルの法則による期待値と差はなかったが、妊娠 15、18 日では HZ と KO の胎仔数が有意に減少していた。また、生存胎児数も、 10.2 ± 0.4 、 9.8 ± 0.4 、 7.3 ± 0.6 と徐々に減少した。これらのことから、少なくとも胎児自身の 20 α -HSD が自らの生存に重要な役割を果たしていることが考えられた。次に、WT の受精卵を偽妊娠を誘起した WT と KO マウスに移植し、母体内の胎児数を妊娠 17 日目で確認したところ、KO の胎仔数は有意に減少していた。このことから、母体の 20 α -HSD も妊娠中期以前の胎仔の生存、あるいは着床に重要な役割を果たしていることが示唆された。

20 α -HSD の mRNA の胎児、子宮、胎盤と卵巣での発現を確認したところ、妊娠 13 日には既に検出され、それ以降 18 日まで発現が上昇していた。免疫組織化学的手法により 20 α -HSD タン

パク質の発現について検討した結果、妊娠 16 日の胎仔の皮膚、子宮内膜の上皮、胎盤で陽性反応が認められた。また、妊娠 17 日目の胎仔では、KO は WT に比べて progesterone 濃度が高く、20 α -OHP 濃度は低くなっていた。そこで最後に、progesterone を妊娠 15 日に羊膜内に投与し、胎仔死がおこるかどうかを妊娠 17 日に確認した。その結果、ほぼ全ての胎仔の死亡が観察され、妊娠中後期において高濃度の progesterone は胎児に対して強い毒性を持つことが明らかとなった。

以上の研究により、マウスにおいては 20 α -HSD は機能的黄体退行に少なくとも一定の役割を果たしているものの、他のメカニズムも重要であることが示唆された。一方、母体の 20 α -HSD は妊娠の成立やその初期の維持に、胎仔の 20 α -HSD は妊娠の中期から後期の生存に必要なことが示唆された。黄体における 20 α -HSD の役割は齧歯類特有のものであるが、妊娠の維持における 20 α -HSD の役割は哺乳類一般に共通するものであると考えられ、本研究の成果は家畜の繁殖や人の生殖医療にも貢献するものであり、学術上、応用上の意義は大きい。よって審査員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものとして認めた。