

[別 紙 2]

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 金 花子

家畜の卵巣には、胎児期に有糸分裂を終えて減数分裂をディプロテン期で停止した卵母細胞を上皮細胞が包む原始卵胞が数十万個含まれ、性周期毎にその一部が発育を開始するが大部分は選択的に閉鎖し、1%未満が排卵にいたる。排卵後、卵胞は黄体となり、妊娠した場合は妊娠黄体として妊娠維持につとめ、妊娠しない場合は速やかに退行して次の性周期を起動する。黄体退行に異常があると性周期が乱れたり停止したりするため受精障害や排卵不全に陥って不妊となり家畜を効率的に増産できなくなるので、適切な黄体退行制御法を確立することが家畜臨床繁殖学領域では重要な課題であり続けている。黄体の維持と退行を調節している分子機構には種族差があり、未だに不明点が多い。これまでに、黄体の前駆組織である卵胞の選択的閉鎖は卵胞上皮細胞における細胞死リガンド・受容体依存性アポトーシスによって支配的に調節されていること、健常卵胞の上皮細胞ではシグナル伝達が抗アポトーシス因子 (cellular FLICE-like inhibitory protein: cFLIP) によって阻害されており、これの発現が停止した場合に細胞が死滅して卵胞が閉鎖することなどが分かってきている。しかし排卵後に卵胞の細胞が再分化して形成される黄体の細胞においてもこのような細胞死制御機構が働いているか否か不明である。

申請者は、重要な家畜のうち多胎動物であるブタと単胎動物であるヤギを用いて、性周期中と妊娠期間中黄体の黄体細胞における抗アポトーシス因子の役割を生化学的および組織化学的に調べた。なお、ブタとヤギともに黄体細胞には細胞死リガンド (Fas ligand: FasL) と受容体 (Fas) が発現していたが、これらはいずれの時期の黄体にも発現していた。はじめに、食肉処理場で得た経産ブタ卵巣から黄体を切り出し、各々におけるプロゲステロン (P4) 濃度を指標にして性周期初期 (黄体発育期)、中期 (黄体機能期) および後期 (黄体退行期) に分類した。FasL・Fas 依存性シグナルを受容体直下で阻害する cFLIP には

スプライシングバリエントの cFLIP long form (cFLIP_l) と short form (cFLIP_s) があるが、黄体発育期と機能期の黄体細胞には cFLIP_l mRNA とタンパクが高発現していたが、退行期に低下した。退行黄体の瘢痕組織である白体においては cFLIP_s が血管内皮細胞や線維芽細胞で検出されたが、性周期進行にともなって低下して消滅した。妊娠ブタ卵巢の黄体においても cFLIP_l が高発現していた。ブタの発育期と機能期の性周期黄体と妊娠黄体の黄体細胞において cFLIP_l がシグナル伝達を阻害して細胞死を阻止することで黄体退行を停止させていると考えられた。つぎに、反芻類のモデル動物としても貴重なヤギを用いて研究を進めた。超音波画像診断法による卵胞と黄体の形態変化の継続観測と末梢血漿中 P 4 濃度を指標として性周期を精密に決定し、黄体における cFLIP 発現の性周期にともなう推移を調べた。初期と中期の黄体の黄体細胞には cFLIP_l と cFLIP_s の mRNA とタンパクが高発現していたが、後期には低下した。ヤギでは妊娠の初期、中期および後期を通じて黄体中と末梢血漿中 P 4 濃度が高く維持され、黄体細胞の cFLIP_l と cFLIP_s は高発現し続けたが、出産後速やかに退行した。ヤギにおいては cFLIP_l と cFLIP_s が性周期および妊娠黄体の黄体細胞においてシグナル伝達を阻害する生存因子として働いて黄体退行を停止させていると考えられた。

以上のように新規知見を含む申請者の研究によって、重要な家畜であるブタおよびヤギの性周期中および妊娠期間中の黄体において抗アポトーシス因子 cFLIP がシグナル伝達を阻害することで生存因子として働き、黄体維持機構に支配的に関わっているが、スプライシングバリエントが種族間で異なることが分かった。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。