

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 森田 吉洋

本研究は抗老化作用という点で近年多大なる注目を浴びている Sir2 (Silent information regulator 2)のヒトの Ortholog である SIRT1 が、卵巣においては顆粒膜細胞に主に発現していることを示し、ラット顆粒膜細胞において、活性化因子であるレスベラトロールを用いて SIRT1 の機能の検討を行った。その結果を下記に記す。

1. 免疫組織化学染色法により SIRT1 タンパクがヒト卵巣においては顆粒膜細胞の核に主に存在することが示された。
2. Western blotting 法により、ヒト黄体化顆粒膜細胞においても SIRT1 が発現していることが明らかとなった。
3. ラット顆粒膜細胞をレスベラトロール存在下で培養すると、細胞数および細胞活性の濃度依存的な減少が認められた。しかし、アポトーシスの際にみられる Caspase 3/7 活性の上昇や Hoechst 33342 染色における核の凝縮といった核形態変化はみられなかった。また、細胞死関連遺伝子にも有意な変化はみられず、アポトーシスによらない細胞数の減少が考えられた。
4. ラット顆粒膜細胞をレスベラトロール存在下で培養すると、濃度依存的に SIRT1 mRNA が増加することがリアルタイム定量的 PCR により示され、タンパクレベルでも Western blotting 法にて SIRT1 タンパクの増加が確認された。
5. ラット顆粒膜細胞をレスベラトロール存在下で培養すると、FSH 受容体の発現は不変であった一方で、LH 受容体、顆粒膜細胞におけるステロイド産生カスケードの初期段階である StAR タンパク、および P450 アロマターゼの用量依存性発現上昇が確認された。タンパクレベルでも Western blotting 法にて LH 受容体、StAR タンパク、P450 アロマターゼの増加が確認された。
6. ラット顆粒膜細胞をレスベラトロール存在下で培養し、培地上清中のプロゲステロンを EIA 法によって測定したところ、48 時間後においてプロゲステロン産生の著明な増加が観察された。

以上、本論文は SIRT1 が卵巣顆粒膜細胞に発現していること、およびその活

性化因子レスベラトロールが顆粒膜細胞に対し、**SIRT1** の発現量を増加させ、細胞数の減少作用と黄体化関連遺伝子発現促進およびプロゲステロンの産生促進作用をもつという新規事実を明らかにした。増殖・分化に大きな影響をもち、抗老化作用をもつといわれる **SIRT1** の卵巣における機能解析は、今後の卵巣機能の病態生理の解明に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。