

氏名	小見山 純一
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第3666号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on glucocorticoid in bovine corpus luteum (ウシ黄体におけるグルココルチコイドに関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 教授 近藤 康博 准教授 阿部 浅樹

学位論文内容の要旨

副腎皮質由来ステロイドホルモンであるグルココルチコイド (GC) の主な生理作用は、抗炎症および抗ストレス作用が知られており、cortisol (活性型 GC) の局所的な濃度は 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11-HSDs: 11-HSD1 および 11-HSD2) により調節される。ヒトにおいて、GC は顆粒層細胞におけるアポトーシスを抑制すること、また黄体期のウシにおいて GC 投与により黄体期が延長することから、GC が黄体機能に作用して排卵周期を制御する可能性が考えられる。しかし、黄体機能における GC の役割は全く明らかにされていない。本研究では、ウシ黄体機能の制御機構における GC の生理的役割を明らかにする目的で、以下に示す研究を実施した。

1) 黄体機能の調節機構における GC の役割を明らかにする目的で、周期性黄体における GC 受容体 (GC-R α)、11-HSD1、11-HSD2 の mRNA とタンパク発現量の変化および 11-HSD1 酵素活性の変化を検討した。その結果、GC-R α 、11-HSD1、11-HSD2 mRNA およびタンパクは発情周期を通じて発現しており、GC-R α mRNA およびタンパク発現は形成期において最も高かった。また、11-HSD1 および 11-HSD2 mRNA は形成期において最も高く、退行期において最も低かった。さらに、11-HSD1 タンパク発現および酵素活性は初期および中期において他の周期と比較して高かった。一方、黄体内の 11-HSD2 タンパク発現量は発情周期を通じて有意な変化は見られなかった。

2) 黄体細胞におけるアポトーシスにおよぼす cortisol (活性型 GC) の影響を明らかにするため、ウシ黄体細胞におけるサイトカイン (腫瘍壊死因子、interferon- γ) の誘導する細胞死率、アポトーシス関連因子 (Fas、caspase-8、bcl-2、bax、caspase-3) mRNA 発現量および caspase-3 活性におよぼす cortisol の影響について検討した。その結果、cortisol はサイトカインの誘導する細胞死、caspase-8 および caspase-3 mRNA 発現を抑制し、さらに caspase-3 活性を抑制した。

以上の結果から、ウシ黄体は初期および中期において高い 11-HSD1 酵素活性を有していること、さらに、cortisol はサイトカインの誘導する caspase-8 および caspase-3 の発現ならびに活性を制御することが明らかになったことから、初期および中期に黄体内局所で増加した cortisol はアポトーシスを抑制することにより、黄体機能を維持する役割を果たしていることが示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ黄体機能の制御機構におけるグルココルチコイド (GC) の生理的役割を解明するための基礎研究として実施された以下の実験の成果をまとめたものである。

1) 黄体機能の調節機構における GC の役割を明らかにする目的で、周期性黄体における GC 受容体 (GC-R α)、11-HSD1、11-HSD2 の mRNA とタンパク発現量の変化および 11-HSD1 酵素活性の変化を検討した。その結果、GC-R α 、11-HSD1、11-HSD2 mRNA およびタンパクは発情周期を通じて発現しており、GC-R α mRNA およびタンパク発現は形成期において最も高かった。また、11-HSD1 および 11-HSD2 mRNA は形成期において最も高く、退行期において最も低かった。さらに、11-HSD1 タンパク発現および酵素活性は初期および中期において他の周期と比較して高かった。一方、黄体内の 11-HSD2 タンパク発現量は発情周期を通じて有意な変化は見られなかった。

2) 黄体細胞におけるアポトーシスにおよぼす cortisol (活性型 GC) の影響を明らかにするため、ウシ黄体細胞におけるサイトカイン (腫瘍壊死因子、interferon- γ) の誘導する細胞死率、アポトーシス関連因子 (*Fas*、*caspase-8*、*bcl-2*、*bax*、*caspase-3*) mRNA 発現量および *caspase-3* 活性におよぼす cortisol の影響について検討した。その結果、cortisol はサイトカインの誘導する細胞死、*caspase-8* および *caspase-3* mRNA 発現を抑制し、さらに *caspase-3* 活性を抑制した。

以上の結果から、他の周期と比較して初期および中期において高い 11-HSD1 酵素活性により黄体内で増加した cortisol はアポトーシスを抑制することにより、黄体機能を維持する役割を果たしていることが示唆された。

これらの知見は、ウシを含む哺乳動物の黄体機能の制御機構の解明に寄与するだけでなく、卵巣の機能性疾患に起因する不妊症の診断、治療法の開発のための基礎資料として極めて興味深いものである。本学位審査会は、これらの成果をまとめた本論文の内容および参考文献を総合的に審査し、本論文が博士学位 (農学) の学位に値するものと判断した。