

氏 名 亀森 泰之

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 4284 号

学位授与の日付 平成 23 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 ウシ胎盤停滞の発生機序に関する研究

論文審査委員 教授 奥田 潔 教授 近藤 康博 准教授 アコスタ アヤラ トマス

学位論文内容の要旨

胎盤停滞を発生したウシ (胎盤停滞牛) において、インターロイキン (IL)-8 および IL-8 によって合成が促進される collagenase の不足がその発生に関与していることが示唆されている。また、ヒトやげっ歯類において、脱落膜の剥離にはアポトーシスが関与していることから、ウシにおいても胎膜剥離にアポトーシスの関与が考えられる。本研究では、ウシ胎盤停滞の発生機序を明らかにする目的で、胎盤停滞牛および正常牛の胎盤節組織を用いて以下に示す研究を実施した。

1) 胎盤停滞における IL-8 および collagenase の役割を明らかにする目的で、胎盤停滞牛ならびに正常牛の胎盤節組織における IL-8 mRNA 発現および IL-8 濃度を調べるとともに collagenase 群である matrix metalloproteinase (MMP)-1 ならびに MMP-13 発現量を調べた。その結果、ウシ胎盤節組織における IL-8 mRNA 発現および組織中濃度は、ともに正常牛と胎盤停滞牛との間において有意な差は認められなかった。ウシ胎盤節組織における MMP-1 および MMP-13 mRNA 発現量は母体側の胎盤において胎子側と比較して有意に高かったが、正常牛と胎盤停滞牛の間に有意な差は認められなかった。

2) 胎盤停滞におけるアポトーシスの影響を明らかにする目的で、胎盤停滞牛ならびに正常牛の胎盤節組織におけるアポトーシス関連因子 (FAS, cFLIP, caspase [CASP] 8, BAX, BCL2, CASP3) 発現量を比較した。ウシ胎盤節組織におけるアポトーシス関連因子の発現に関して、胎盤節組織の FAS mRNA 発現は正常牛の母体側に比べて胎盤停滞牛の母体側において有意に低く、アポトーシス抑制因子である cFLIP mRNA 発現は母体、胎子胎盤ともに正常牛と比べて胎盤停滞牛において有意に高かった。

3) 胎盤停滞発症牛の胎盤節を組織学的な特徴を明らかにする目的で、胎盤停滞牛ならびに正常牛の胎盤節組織切片を HE 染色および MG 染色により染色後観察した。また胎盤節組織におけるアポトーシスの局在についても単鎖 DNA (ssDNA) の免疫染色により検討した。ウシ胎盤節の組織所見について、HE 染色および MG 染色いずれの染色法においても、胎盤節における胎子側組織の母体側組織への陥入が、胎盤停滞牛において正常牛よりも深い傾向が認められた。正常牛の母体側胎盤組織において ssDNA 陽性を示す細胞が認められたが、胎盤停滞牛の胎盤節組織において ssDNA 陽性細胞は認められなかった。正常牛の ssDNA 陽性細胞が占める割合 (ssDNA 陽性率) は、母体側組織において胎盤停滞牛と比較して有意に高かった。

以上の結果から、分娩直後の母体側胎盤節組織における FAS mRNA 発現ならびに ssDNA 陽性率が胎盤停滞牛において正常牛よりも低いことが明らかとなり、母体側胎盤において FAS を介したアポトーシスが胎膜の正常な排出には必要であり、アポトーシスが何らかの原因により阻害されることによって、胎盤停滞の発生する可能性が示めされた。

論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ胎盤停滞の発生機序を解明するための基礎的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。

ウシ胎盤停滞の発生機序を明らかにする目的で、1) ウシ胎盤節組織におけるインターロイキン (IL)-8 mRNA 発現量および組織中 IL-8 濃度、2) ウシ胎盤節組織における *matrix metalloproteinase (MMP)* -1 および *MMP-13* mRNA 発現量、3) ウシ胎盤節組織におけるアポトーシス関連因子の発現、4) ウシ胎盤節組織の形態およびウシ胎盤節組織において、アポトーシスの指標となる単鎖 DNA (ssDNA) の局在について検討した。その結果、*IL-8* mRNA 発現、*IL-8* 濃度および *MMP-1* ならびに *MMP-13* mRNA 発現量は正常牛と胎盤停滞牛の間に有意な差は見られなかった。分娩直後の母体側胎盤節組織における *FAS* mRNA 発現が胎盤停滞牛において正常牛よりも低いことが明らかとなった。組織学的な所見において、胎盤節における胎子側組織の母体側組織への陥入が、胎盤停滞牛において正常牛よりも深い傾向が認められた。また、免疫染色より胎盤停滞牛の胎盤節組織において ssDNA 陽性を示す細胞が認められず、正常牛の母体側胎盤節組織において ssDNA 陽性細胞が占める割合は、胎盤停滞牛と比較して有意に高かった。これらの本研究の結果より、胎盤停滞の発生と *IL-8* ならびに *MMP-1* および *MMP-13* の関連を明らかにすることはできなかったが、母体側胎盤において *FAS* を介したアポトーシスが胎膜の正常な排出には必要であることが示された。このアポトーシスが何らかの原因により正常に誘導されない際、胎盤停滞に陥る可能性が示唆された。

これらの知見は胎盤停滞の発生機構の解明に寄与するだけでなく、発生を予防するための基礎材料として極めて意義深いものである。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) に値するものと判断した。