

氏名	阿部 洋典
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5171号
学位授与の日付	平成27年 3月25日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Study on Luteolysis Mechanisms via Lymphatic Vessels in Cow (リンパ管を介したウシ黄体退行に関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 教授 齋藤 昇 准教授 木村 康二

学位論文内容の要旨

哺乳類において排卵後の卵巣に形成される黄体は、妊娠が成立しなかった際に卵巣上から消滅する（黄体退行）。短時間のうちに黄体退行を確実に達成することは、哺乳類が繰り返し繁殖の機会を得る上で極めて重要な生殖戦略である。これまで黄体退行は、黄体細胞のアポトーシスならびにマクロファージの貪食作用によって達成されると説明されてきた。しかし、ウシにおいてプロスタグランジン F2 α (PGF) 製剤投与により人為的に黄体退行を誘導すると、生理的な黄体退行（4-5 日）と比較して極めて短時間（約 24 時間）で黄体組織の消失が達成されるにも関わらず、退行中の黄体内に観察されるマクロファージ数は生理的な黄体退行時をほぼ同程度である。この事実は、未知の黄体退行機構の存在を示唆している。本研究では、血管系に次ぐ「細胞や分子の輸送経路」として知られるリンパ管を介した黄体退行経路が存在すると仮説を立て、その証明と制御機構の解明を試みた。

屠畜場において、黄体を有する卵巣から走行するリンパ管を屠殺直後に結紮し、研究室に持ち帰った。黄体の肉眼的所見により、黄体ステージを初期黄体・形成期・中期・後期・退行期に分類した。ステロイド産生細胞マーカーとして知られる 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) 抗体陽性を黄体細胞の指標とし、リンパ液中に含まれる黄体細胞と黄体周期の関連を解析した。またリンパ液中に見出された 3 β -HSD 陽性細胞が黄体内リンパ管を介して流出した細胞であることを証明する目的で、黄体組織から組織切片を作成しリンパ管内皮細胞マーカーである LYVE-1 抗体ならびに 3 β -HSD 抗体を用いた蛍光二重染色を行った。その結果、黄体内リンパ管腔ならびに卵巣由来リンパ液中に 3 β -HSD 陽性細胞が観察されたことから、リンパ管を介した黄体細胞の移動が明らかとなった。また、リンパ液中の黄体細胞は退行期に急激に増加したことから、リンパ管を介した黄体退行機構の存在が強く示された。

黄体細胞がリンパ管へ流出するためには、黄体細胞の黄体組織からの離脱が必須である。本研究ではがん細胞の転移においてがん組織からの細胞の離脱に関与することが知られている matrix metalloproteinases (MMPs) が黄体細胞流出に関与すると仮説を立て、黄体細胞における MMPs 発現とその発現調節機構の解明を試みた。培養中期黄体細胞に黄体退行のトリガーと知られる PGF、退行期に黄体へ浸潤したマクロファージが分泌するインターフェロン γ (IFNG) ならびに腫瘍壊死因子 (TNF) を単独または組み合わせて添加し、黄体細胞における MMPs mRNA 発現に及ぼす影響を検討した。PGF および IFNG は黄体細胞における MMP-1 ならびに MMP-9 mRNA 発現を刺激した。MMP-1 はコラーゲンゼタイプ 1 と呼ばれ、黄体における主要な結合組織であるコラーゲンタイプ 1 を分解する。このことから、黄体細胞により分泌された MMP-1 が黄体細胞周囲に存在するコラーゲンタイプ 1 を分解することにより、局所的な黄体細胞の離脱を誘導するメカニズムの存在が示された。

以上のように、本研究はリンパ管を介した黄体退行という新規の黄体退行機構の存在を明らかにした。また、黄体細胞流出は黄体退行のトリガーである PGF と黄体内に浸潤したマクロファージ分泌する IFNG が局所的な黄体細胞の組織からの離脱を誘導することで起こることを示唆した。

論文審査結果の要旨

哺乳動物において排卵後の卵巣に形成される黄体は、非妊娠時に急速に消失する (黄体退行)。多くの生理学の教科書では、黄体退行は黄体を構成する黄体細胞のアポトーシスとマクロファージによる貪食によって達成されると説明されている。これら従来の経路に加え、本論文では新規の黄体退行経路としてリンパ管を介した黄体細胞流出を見出し、その仕組みの解明を試みている。以下にその研究概要を報告する。

1) ウシ卵巣から走行するリンパ液にステロイド産生細胞を見出し、免疫組織化学的手法により黄体内リンパ管腔に存在するステロイド産生細胞を確認したことから、リンパ管を介した黄体細胞流出現象を発見した。リンパ液中の黄体細胞数の変化を黄体周期と関連付けて解析したところ、黄体退行時に急激に増加した。以上の結果から、リンパ管を介した黄体退行経路が存在していると結論付けた。

2) 黄体細胞がリンパ管へ流出するためには黄体組織から黄体細胞が脱接着する必要がある。本論文では結合組織分解活性を持つ matrix metalloproteinases (MMPs) が黄体細胞流出に関与すると仮説を立て、ウシにおける黄体退行誘導因子と知られるプロスタグランジン F2 α ならびにインターフェロン γ が黄体細胞における MMPs mRNA 発現を刺激することを明らかにした。この結果は、「黄体退行誘導因子が黄体細胞からの MMPs 分泌を刺激し、MMPs が黄体細胞周囲に存在する結合組織を局所的に分解することで細胞遊離を誘導する」という黄体細胞流出メカニズムの存在を示唆している。

新たな黄体退行機構の発見とその仕組みに関する知見は、家畜繁殖制御技術を開発する上で非常に有益である。これらの知見は生殖生理学における新たな研究分野を開拓するだけでなく、世界で初めて器官形態の維持におけるリンパ管の役割を明らかにしたという点においても生物学的に重要な発見であったと言える。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資料を審査し、本論文が博士学位 (農学) に値するものと判断した。