

氏名	LEE SEUNGHYUNG
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第4158号
学位授与の日付	平成22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 MECHANISMS OF PROSTAGLANDIN F _{2α} ACTION IN BOVINE LUTEAL ENDOTHELIAL CELLS (ウシ黄体由来血管内皮細胞におけるプロスタグランジン F _{2α} の作用機構に関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 准教授 阿部浅樹 准教授 アコスタ アヤラ トマス

学位論文内容の要旨

Prostaglandin F_{2α} (PGF) のウシ黄体退行作用は、PGF が活性酸素 (ROS) の発生を刺激することによって示されているが、その作用機序は明らかにされていない。本研究では、PGF による黄体退行のメカニズムを明らかにするために、PGF のウシ黄体由来血管内皮細胞 (LEC) における ROS 発生刺激作用について培養系を用いて検討した。

1) LEC における一酸化窒素合成酵素 (NOS) に及ぼす PGF の影響を明らかにする目的で、ウシ中期黄体より単離した細胞が LEC であることおよび PGF receptor (*FPr*) が発現していることを確認し、NOS の mRNA、protein 発現および活性に及ぼす PGF の影響について検討した。その結果、*FPr* は黄体組織切片の血管内皮細胞および培養 LEC に発現していることが明らかになり、PGF は培養 LEC の eNOS mRNA および protein の発現に影響を及ぼさなかったが、iNOS mRNA および protein 発現量を有意に増加させた。

2) PGF の黄体退行機構における PGF と ROS の関係を明らかにする目的で、LEC における活性酸素分解酵素 (SOD) mRNA、protein 発現および活性に及ぼす PGF、hydrogen peroxide (H₂O₂) および NONOate の影響を 2 時間または 24 時間で調べた。その結果、2 時間培養した LEC における PGF、H₂O₂ および NONOate は培養 LEC の SOD mRNA および protein の発現量ならびに活性を有意に増加した。一方、24 時間培養した LEC における PGF、H₂O₂ および NONOate は SOD mRNA および protein 発現量を有意に抑制した。さらに、ROS および SOD は PGF 産生を有意に増加した。

我々の過去の報告でウシ培養黄体細胞において NO は P₄ 分泌を抑制し、apoptosis を誘導することが示されており、さらに本研究の結果と併せて考えると、子宮から分泌される PGF は LEC の NO 合成を刺激することにより黄体細胞の P₄ 分泌を抑制し、黄体退行を促進する可能性が示された。さらに、PGF および ROS は LEC の SOD 発現と活性を抑制することによって細胞内 ROS が蓄積され、黄体細胞の apoptosis を誘導することが示唆された。また、ROS は LEC の PGF 分泌を刺激することから、LEC において PGF と ROS の間にはポジティブフィードバック機構が存在し黄体退行を促進することが示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ黄体退行機構の完全解明にむけて、ウシ黄体由来血管内細胞(LEC)における prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF)の活性酸素種(ROS)の発生制御機構を解明するために実施された以下の実験の成果をまとめたものである。

1) LECにおけるPGFの一酸化酵素(NO)刺激機構を明らかにする目的で、LECにおけるPGF-receptor (FPr)の発現を検討するとともに、NO合成酵素である inducible NOS (iNOS)および endothelial NOS (eNOS)の mRNA およびタンパク発現量に及ぼすPGFの影響を調べた。その結果、免疫組織化学的にFPr抗体に対する陽性反応が黄体組織切片上の血管内皮細胞に認められ、また培養LECにも陽性反応が見られた。PGFは培養LECのeNOS mRNA およびタンパクの発現量に影響を及ぼさなかったが、iNOSの mRNA およびタンパク発現を有意に増加させた。

2) LECにおけるPGFのROS制御機構を明らかにする目的で、LECにおける活性酸素分解酵素(SOD)の mRNA, タンパク発現および活性に及ぼすPGF, hydrogen peroxide (H_2O_2)およびNOの影響を培養LECを用いて調べた。2時間刺激区ではPGF, H_2O_2 およびNONOateの添加によって培養LECのSOD mRNA, タンパクの発現量ならびに活性は有意に増加したが、24時間培養区ではSOD mRNA およびタンパク発現量ともに有意に減少した。さらに、PGF産生に及ぼす H_2O_2 , NONOate およびSODの影響を検討した結果、ROSおよびSODはPGF産生を有意に増加させた。

以上より、黄体退行時に子宮から分泌されるPGFはLECのiNOS発現を増加させることによってNO合成を増加させ黄体退行を誘起する可能性が示された。また、PGFおよびROSは、細胞内のSOD発現と活性を一過性に上げるもののその後失われ、細胞内ROSが蓄積されることによって黄体退行が促進する可能性が示唆された。

これらの知見は、ウシを含む哺乳動物の黄体退行機構のメカニズムの解明に寄与するだけでなく、黄体退行の人為的制御による新しい生殖制御技術開発のための基礎資料としても意義がある。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(学術)の学位に値するものと判断した。