

氏名	吉岡 伸
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4978号
学位授与の日付	平成26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	Study on the proliferation of bovine luteal steroidogenic cells (ウシ黄体ステロイド合成細胞の増殖能に関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 准教授 アコスタ アヤラ トマス 准教授 畑生 俊光

### 学位論文内容の要旨

The rapid growth of the corpus luteum (CL) after ovulation is believed to be mainly due to an increase in the size of luteal cells (hypertrophy) rather than an increase in their number. However, the relationship between luteal growth and the proliferation of luteal steroidogenic cells (LSCs) is not fully understood. One goal of the present study was to determine whether LSCs proliferate during CL growth. A second goal was to determine whether luteinizing hormone (LH), which is known to have roles in the proliferation and differentiation of follicular cells, also affects the proliferation of LSCs. KI-67 (a cell proliferation marker) was expressed during the early, developing and mid luteal stages and some KI-67-positive cells co-expressed 3 $\beta$ -HSD (a steroidogenic marker). DNA content in LSCs isolated from the developing CL increased much more rapidly (indicating rapid growth) than did DNA content in LSCs isolated from the mid CL. The cell cycle-progressive genes *CCND2* (cyclin D2) and *CCNE1* (cyclin E1) mRNA were expressed more strongly in the small luteal cells than in the large luteal cells. LH decreased the rate of increase of DNA in LSCs isolated from the mid luteal stage but not in LSCs from the developing stage. LH suppressed *CCND2* expression in LSCs from the mid luteal stage but not from the developing luteal stage. Furthermore, LH receptor (*LHCGR*) mRNA expression was higher at the mid luteal stage than at the developing luteal stage.

The overall results suggest that the growth of the bovine CL is due to not only hypertrophy of LSCs but also an increase in their number, and that the proliferative ability of luteal steroidogenic cells decreases between the developing and mid luteal stages.

## 論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ黄体の形成機構に関する基礎的な知見を得るための基礎繁殖学的研究として実施された以下の実験成果をまとめたものである。

排卵後に形成される黄体は妊娠の成立と維持に必須のプロゲステロンを分泌する重要な内分泌器官である。また黄体の成長は非常に早く、僅か 10 日間でその重量が 10-20 倍に増大することが知られている。この黄体の急激な成長は、黄体細胞の肥大に依ると考えられてきたが、詳細は明らかにされていない。最初に発情周期各期のウシ黄体における増殖細胞の有無を検討するため、細胞増殖マーカーである KI-67 発現を検討した。その結果、黄体初期および黄体形成期において多くの KI-67 陽性細胞が確認され、黄体中期においても KI-67 陽性細胞が確認された。次に KI-67 陽性細胞が黄体細胞であるかを調べるために、黄体細胞マーカーである HSD3B と KI-67 の二重染色を行ったところ、それぞれのタンパク質を共発現する細胞が認められた。次に培養黄体細胞を用いて細胞増殖試験を行ったところ、黄体形成期および黄体中期のいずれの周期から単離した黄体細胞も増殖したが、黄体形成期から単離した黄体細胞の増殖スピードが有意に高かった。また、細胞周期を促進する CCND2 および CCNE1 等の遺伝子発現も黄体形成期で有意に高かった。これらのことから、黄体の成長には黄体細胞の肥大と増殖の両方が関わっていること、黄体細胞の増殖能は黄体形成期まで維持されることが示唆された。次に増殖する黄体細胞が顆粒層細胞由来である大型黄体細胞なのか、卵胞内膜細胞由来である小型黄体細胞なのかを検討するため、培養後の黄体細胞を大きさに従って分離し、大型および小型黄体細胞における細胞周期関連遺伝子発現を調べた。その結果、小型黄体細胞において、細胞周期を促進する遺伝子発現の高発現することが示された。

これらの知見はウシ黄体の形成機構を理解するために貢献するものである。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。