

氏名	作本 亮介
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2069号
学位授与の日付	平成12年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	STUDIES ON TUMOR NECROSIS FACTOR- α AND ITS RECEPTOR IN BOVINE CORPUS LUTEUM (ウシ黄体における腫瘍壊死因子ならびにそのレセプターに 関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 教授 丹羽 皓二 教授 近藤 康博

学位論文内容の要旨

腫瘍壊死因子 (TNF α) は主にマクロファージで産生されることの知られるサイトカインの一つである。近年、雌性生殖機構、特に黄体退行機構への TNF α の関与が注目されているが、その詳細は明らかでない。本研究では、ウシ黄体における TNF α の生理的役割を知るための基礎研究として、発情周期ならびに妊娠期におけるウシ黄体の TNF α およびその特異的なレセプターについて多角的に検討するとともに、局所機能調節因子としての TNF α の生理的役割を知るために、ウシ黄体の内分泌機能におよぼす TNF α の影響について調べた。その結果、発情周期を通じて、ウシ黄体に TNF α ならびにその mRNA が存在し、TNF α の濃度は黄体期後期に高いこと、さらに TNF α に特異的なレセプターの存在することが明らかとなった。また、TNF α は黄体期後期だけでなく、初期および中期黄体より得た培養ウシ黄体細胞のプロスタグランジン (PG) F2 α ならびに PGE2 産生を促進することが明らかとなり、その作用は細胞内 phospholipase A2 ならびに mitogen-activated protein kinase の活性化を介することが明らかとなった。一方、妊娠期を通じて TNF α mRNA ならびに TNF α レセプターの存在することが明らかとなった。以上の結果から、TNF α は黄体退行機構だけでなく、発情周期および妊娠期を通じてのウシ黄体機能調節に関与する可能性が示唆された。また、ウシ黄体由来血管内皮細胞にも特異的な TNF α レセプターが存在し、培養細胞のエンドセリン-1 および PGE2 分泌量が TNF α により増加したことから、TNF α は黄体内局所機能調節因子として、黄体細胞だけでなく、血管内皮細胞の内分泌機能にも作用して、オートクラインならびにパラクライン的にウシ黄体機能調節に関与することが示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ黄体における腫瘍壊死因子 (TNF α) の生理的役割を知るための基礎研究として実施された一連の実験から得られた以下のような成果をまとめたものである。

1) 発情周期各期にあるウシから採取した黄体の TNF α および TNF α レセプター (TNF-R) について蛋白レベルおよび遺伝子レベルで検討した。その結果、黄体内の TNF α mRNA 発現は発情周期を通じて有意な変化は見られなかったが、TNF α の濃度は発情周期にともなって増加し、後期に高い値を示した。また、発情周期を通じて黄体に TNF-R mRNA の発現が見られ、さらに TNF α に特異的な結合部位の存在することが明らかとなった。また、培養黄体細胞のプロスタグランジン (PG) F2 α ならびに PGE2 分泌が、TNF α により有意に促進された。2) 妊娠黄体における TNF α および TNF-R について検討した。その結果、いずれのステージの妊娠黄体にも TNF α mRNA の発現が見られたが、その発現にステージによる差は認められなかった。また、いずれのステージの妊娠黄体にも TNF α に特異的な結合部位が存在し、その濃度は妊娠初期ならびに後期に高く、中期に低かった。3) 黄体の約 50% 以上を構成する血管内皮細胞における TNF-R ならびにその生理的意義について検討した。その結果、ウシ黄体から単離した血管内皮細胞に 2 つの異なる親和性をもつ TNF-R ならびにその mRNA の存在することが示された。さらに、培養細胞のエンドセリン-1ならびに PGE2 分泌量が TNF α 処理により濃度依存的に増加することが明らかとなった。4) TNF α の黄体細胞内シグナル伝達機構について検討した。その結果、TNF α による黄体細胞の PGF2 α 分泌促進効果は、phospholipase A2 ならびに mitogen activated protein kinase の特異的阻害剤により濃度依存的に抑制された。以上の研究から、発情周期だけでなく妊娠期を通じてウシ黄体に TNF α ならびにその特異的なレセプターの存在することが明らかとなり、TNF α は局所調節因子として、黄体退行機構だけでなく、発情周期、妊娠期を通じてのウシ黄体機能調節にも関与することが示唆された。また、黄体由来血管内皮細胞にも特異的な TNF-R の存在することが明らかとなったことから、TNF α は黄体細胞のみならず血管内皮細胞の内分泌機能にも作用して、オートクラインならびにパラクライン的に黄体機能調節に関与す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調節における TNF α の生理作用の解明に寄与するのみならず、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(農学)の学位に値するものと判断した。