

氏名	香西 圭輔
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5172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	Seasonal changes in luteal function and regulatory mechanisms of functional luteolysis in the mare (ウマ黄体機能の季節的变化および機能的黄体退行調節機構に関する研究)
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

多くの哺乳動物において、排卵後の卵巣に形成される黄体は妊娠の成立・維持に必須のプロゲステロン ( $P_4$ ) を分泌する一過性の内分泌器官である。黄体機能調節機構に関する知見を広げることは、黄体機能の異常を原因とする不妊症の原因解明ならびに治療法の確立に繋がり、家畜の生産効率向上に寄与すると考えられるが、ウマ黄体機能調節機構に関しては未だ不明な点が多く残されている。季節繁殖動物であるウマの黄体機能調節機構を研究する上で、季節間における黄体機能の違いを知ることは重要である。本研究では、季節間の黄体機能の違いを  $P_4$  合成能に着目し検討するとともに、機能的黄体退行調節機構について、 $P_4$  代謝酵素活性を有する *aldo-keto reductase (AKR) 1C23* に着目し、解明を試みた。

1) ウマは長日性季節繁殖動物であり、春季から夏季にかけて繁殖を行い、秋季から冬季にかけて排卵周期が停止するとされている。ウマ黄体機能に及ぼす季節の影響を明らかにする目的で、黄体組織中  $P_4$  濃度ならびに *luteinizing hormone receptor (LHR)*、*steroidogenic acute regulatory protein (StAR)*、*P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450<sub>scc</sub>)* および *3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (3 $\beta$ -HSD) mRNA* 発現を指標として季節間における黄体機能の違いを検討した。黄体は4月、7月、9-10月、12月および1-2月に採取した。いずれの時期においても黄体組織中  $P_4$  濃度は中期黄体において最も高かったため、比較には中期黄体を用いた。中期黄体組織中  $P_4$  濃度は1-2月において、4月、7月および12月と比べ有意に高かった。*LHR* mRNA 発現量は他の時期に比べ1-2月において有意に高かった。*StAR* mRNA 発現量は4月において12月と比べ、7月において9-10月および12月と比べ有意に高かった。*P450<sub>scc</sub>* mRNA 発現量は4月において9-10月および12月と比べ、また7月および1-2月において12月と比べ有意に高かった。*3 $\beta$ -HSD* mRNA 発現量は4月において9-10月および12月と比べ有意に高かった。黄体組織中  $P_4$  濃度の変化は *LHR* mRNA 発現量の変化と一致し、さらに *StAR*、*P450<sub>scc</sub>* および *3 $\beta$ -HSD* mRNA 発現量の変化とも関連していたことから、ウマ黄体における  $P_4$  合成能の季節的变化は  $P_4$  合成関連タンパク質 mRNA 発現量の変化に起因することが示唆された。

2) 妊娠が不成立の場合、黄体は退行し、次の発情周期が回帰する。黄体の退行は機能的および構造的退行の2つの局面からなることが知られている。げっ歯類の黄体において、*20 $\alpha$ -HSD* が  $P_4$  を生物活性のない *20 $\alpha$ -dihydroprogesterone (20 $\alpha$ -OHP)* に代謝することで機能的退行を誘導する一方で、ウマ黄体の機能的退行調節機構は分かっていない。ウマにおいて、*AKR1C23* が *20 $\alpha$ -HSD* 活性を有することが知られている。ウマ黄体の機能的退行調節機構を明らかにする目的で、黄体期を通じたウマ黄体における *AKR1C23* 発現を調べた。1) の結果を考慮し、繁殖期である4-7月に採取した黄体組織を用いた。黄体組織中  $P_4$  濃度は黄体中期において最も高く、黄体後期および黄体退行期にかけて有意に減少した。*3 $\beta$ -HSD* mRNA 発現量は黄体初期および黄体中期において黄体後期および黄体退行期に比べ有意に高かった一方、*3 $\beta$ -HSD* タンパク質発現量は黄体後期において黄体退行期に比べ有意に高かった。黄体組織中 *20 $\alpha$ -OHP* 濃度は黄体後期において他の時期に比べ有意に高かった。*AKR1C23* mRNA 発現量は黄体後期において黄体初期および黄体中期に比べ有意に高く、*AKR1C23* タンパク質発現量もまた黄体後期において黄体初期に比べ有意に高かった。以上のことから、ウマ黄体の機能的退行には *AKR1C23* による  $P_4$  の *20 $\alpha$ -OHP* への代謝が関与している可能性が示された。

本研究において、季節間で黄体機能に差が見られたことから、研究の目的に応じて実験に用いる黄体組織を採取する時期を考慮する必要があることが示唆された。ウマの繁殖期である4-7月に採取した黄体組織を用いた実験の結果、ウマ黄体の機能的退行調節機構の一つとして、*AKR1C23* による  $P_4$  の *20 $\alpha$ -OHP* への代謝が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

季節繁殖動物であるウマの黄体機能調節機構を研究する上で、季節間の黄体機能の違いを知ることは重要である。本論文は、ウマ黄体機能の季節的变化ならびに機能的黄体退行調節機構の解明を目的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。

1) ウマ黄体機能の季節的变化を明らかにする目的で、黄体組織中プロジェステロン ( $P_4$ ) 濃度および  $P_4$  合成関連タンパク質(luteinizing hormone receptor, steroidogenic acute regulatory protein, P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme,  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD)) 遺伝子発現を季節間で比較した。比較には黄体組織中  $P_4$  濃度の最も高い中期黄体を用いた。黄体組織中  $P_4$  濃度および  $P_4$  合成関連タンパク質遺伝子発現量に季節間で差が見られたことから、黄体機能は季節的变化を示すことが示唆された。

2) ウマ黄体の機能的退行機構の解明を目的として、黄体期を通じた黄体組織中  $20\alpha$ -dihydroprogesterone ( $20\alpha$ -OHP) 濃度および aldo-keto reductase (AKR) 1C23 発現を調べた。1) の結果を考慮し、繁殖期である 4-7 月に採取した黄体組織を用いた。黄体組織中  $P_4$  濃度は黄体中期において最も高く、黄体後期および黄体退行期にかけて減少した。 $3\beta$ -HSD mRNA 発現量は黄体初期および黄体中期において黄体後期および黄体退行期に比べ高かった一方、 $3\beta$ -HSD タンパク質発現量は黄体後期において黄体退行期に比べ高かった。黄体組織中  $20\alpha$ -OHP 濃度は黄体後期において他の時期に比べ高かった。 $AKR1C23$  mRNA 発現量は黄体後期において黄体初期および黄体中期に比べ高く、 $AKR1C23$  タンパク質発現量は黄体後期において黄体初期に比べ高かった。本研究の結果より、 $AKR1C23$  による  $P_4$  の  $20\alpha$ -OHP への代謝が機能的黄体退行に寄与する可能性が示された。

これらの知見は今後のウマ黄体機能研究に欠かせない重要な基礎資料となるだけでなく、黄体に起因する不妊症の治療法ならびに黄体寿命の人為的制御技術の開発に寄与する基礎資料として、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。