

氏名	小島 史也
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第5408号
学位授与の日付	平成28年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科地球生命物質科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Roles of transcription factor Runx3 in the regulation of ovarian functions in female mice (雌マウス卵巣機能制御における転写因子 Runx3 の役割)
論文審査委員	教授 高橋 純夫 教授 竹内 栄 教授 坂本 竜哉

学位論文内容の要旨

Runxファミリーに属する転写因子は runt ドメインをもち、哺乳類では Runx1, Runx2, Runx3 の3つが同定されている。Runx1 と Runx2 は卵巣内の黄体化した顆粒膜細胞で発現し、排卵や黄体化などの卵巣機能制御に関与していることが知られている。その一方、Runx3 をノックアウトしたマウス (Runx3^{-/-}マウス) の雌は無排卵で不妊であり、子宮は退化的である。これらの結果から、Runx3 が卵巣機能の制御に関与することが示唆されてきたが、その詳細は不明であった。そこで本研究は Runx3^{-/-}マウスを用いて、雌マウスの生殖機能の制御機構における Runx3 の役割を明らかにすることを目的とした。

マウス卵巣および視床下部における Runx3 mRNA 発現部位の解析

卵巣および視床下部における Runx3 mRNA 発現を解析した。卵巣においては、卵胞顆粒膜細胞に Runx3 mRNA は発現していた。また、視床下部においては、前腹側室周囲核 (AVPV) と弓状核 (ARC) を含む領域において Runx3 mRNA は発現していた。これらの結果から Runx3 は卵巣ならびに視床下部機能の制御に関与することがわかった。

マウスの卵胞発達およびステロイド産生における Runx3 欠損の影響の解析

Runx3^{-/-}マウスを用いて卵胞発達における Runx3 の役割を解析した。Runx3^{-/-}マウス卵巣において、野生型に比較して一次卵胞および胞状卵胞数は減少し、その一方で二次卵胞数は増加し、卵胞発達の遅延が明らかになった。またステロイド合成酵素遺伝子の mRNA 発現量が減少しており、顆粒膜細胞の Estradiol-17β (E2) 産生能が低下していることが示唆された。これらの結果から Runx3 は卵胞発達および発情ホルモン産生の制御に関与することが示唆された。

マウスの排卵制御における Runx3 欠損の影響の解析

8 週齢の Runx3^{-/-}マウスを用いて視床下部において排卵制御に関わる遺伝子の発現について解析をおこなった。その結果、視床下部の kisspeptin や生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) および下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン遺伝子の mRNA 発現量が変化していることがわかった。また卵巣におけるステロイド合成酵素遺伝子の発現が低下していた。さらに Runx3^{-/-}マウスと野生型マウス間の卵巣交換移植実験をおこなったところ、Runx3^{-/-}マウスの卵巣を野生型マウスに移植すると排卵が誘起された。その一方、野生型マウスの卵巣を Runx3^{-/-}マウスに移植しても、排卵は誘起されなかった。これらの結果から、視床下部における排卵に関わる生殖腺刺激ホルモン分泌機構の制御に Runx3 は関与することが示唆された。

卵胞顆粒膜細胞における Runx3 標的遺伝子候補の解析

卵胞顆粒膜細胞における Runx3 の標的遺伝子を解明するために、顆粒膜細胞がん細胞株 OV3121 細胞を用いて Runx3 過剰発現による成長因子等の遺伝子発現の変化について解析をおこなった。OV3121 細胞に Runx3 を過剰発現すると activin や inhibin のサブユニットの遺伝子である *Inhbb* mRNA 発現量が増加することがわかった。このことから Runx3 は *Inhbb* mRNA 発現制御に関与していることが示唆された。

以上の解析から、Runx3 は、卵巣において卵胞発達、ステロイド産生の制御に関わるとともに、視床下部においては、排卵に関与する生殖腺刺激ホルモン分泌機構の制御に関わることがわかった。

論文審査結果の要旨

Runx ファミリーに属する転写因子は runt ドメインをもち、哺乳類では Runx1, Runx2, Runx3 が同定されている。Runx3 をノックアウトしたマウス (*Runx3*^{-/-}マウス) の雌は無排卵で不妊であり、子宮は退化的である。これらの結果から、Runx3 が卵巣機能の制御に関与することが示唆されてきたが、その詳細は不明であった。本研究は *Runx3*^{-/-}マウスを用いて、雌マウスの生殖機能の制御機構における Runx3 の役割を明らかにすることを目的とした。

マウス卵巣および視床下部における Runx3 mRNA 発現部位の解析

卵巣においては、卵胞顆粒膜細胞に Runx3 mRNA は発現していた。視床下部においては、前腹側室周囲核 (AVPV) と弓状核 (ARC) を含む領域において Runx3 mRNA は発現していた。これらの結果から Runx3 は卵巣ならびに視床下部機能の制御に関与することがわかった。

マウスの卵胞発達およびステロイドホルモン産生における Runx3 欠損の影響の解析

Runx3^{-/-}マウス卵巣において、野生型に比較して一次卵胞および胞状卵胞数は減少し、二次卵胞数は増加し、卵胞発達に遅延がみとめられた。またステロイド合成酵素遺伝子の mRNA 発現量が減少し、顆粒膜細胞の発情ホルモン産生能が低下していた。これらの結果から卵胞発達および発情ホルモン産生の制御への Runx3 の関与が示唆された。

マウスの排卵制御における Runx3 欠損の影響の解析

8週齢の *Runx3*^{-/-}マウスを用いて視床下部における排卵制御に関わる遺伝子の発現について解析した。視床下部のキスペプチンや生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンおよび下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン遺伝子の mRNA 発現が変化していた。また卵巣におけるステロイド合成酵素遺伝子の発現が低下していた。さらに *Runx3*^{-/-}マウスと野生型マウス間の卵巣交換移植をおこなったところ、*Runx3*^{-/-}マウスの卵巣を野生型マウスに移植すると排卵が誘起されたが、野生型マウスの卵巣を *Runx3*^{-/-}マウスに移植しても、排卵は誘起されなかった。これらの結果から、視床下部における排卵に関わる生殖腺刺激ホルモン分泌機構の制御に Runx3 が関与することが示唆された。

卵胞顆粒膜細胞における Runx3 標的遺伝子の解析

卵胞顆粒膜細胞における Runx3 の標的遺伝子を解明するために、顆粒膜細胞がん細胞株 OV3121 細胞を用いて Runx3 過剰発現による遺伝子発現の変化を解析した。OV3121 細胞に Runx3 を過剰発現すると、アクチビンやインヒビンのサブユニット遺伝子のなかで *Inhbb* の mRNA 発現が増加した。これらの結果から Runx3 は *Inhbb* の発現制御に関与していることが示唆された。

本研究から、Runx3 は、卵巣においては卵胞発達、ステロイドホルモン産生の制御に関わり、視床下部においては排卵に関与する生殖腺刺激ホルモン分泌機構の制御に関与することがわかった。本研究成果は内分泌学分野の発展に貢献するものであり高く評価できる。よって学位審査委員会は本論文が学位論文に値すると判定した。