

氏名	伊藤 さやか		
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	6210	号
学位授与の日付	2020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4条第1項該当)		
学位論文の題目	Study on the mechanism of dynamic changes in the number of ciliated and non-ciliated cells in the bovine oviduct (ウシ卵管上皮の繊毛・非繊毛細胞の増減機構の解明に関する研究)		
論文審査委員	教授 西野 直樹	教授 舟橋 弘晃	教授 木村 康二
学位論文内容の要旨			
<p>卵管は、受精の場であるとともに配偶子や初期胚の輸送経路である。卵管上皮は繊毛および非繊毛細胞から構成されており、繊毛細胞の割合は排卵前後に増加する一方、非繊毛細胞の割合は黄体期に増加する。この周期的な細胞の割合の変化は卵管機能の制御において重要な役割を担うが、このメカニズムは明らかでない。本研究ではウシ卵管上皮における、繊毛・非繊毛細胞数の調節メカニズムを解明する研究の一環として、ウシ卵管上皮細胞の増殖と死による卵管上皮の更新機構ならびに、<i>in vivo</i> および <i>in vitro</i> における非繊毛細胞から繊毛細胞への繊毛形成過程を検討した。</p> <p>ウシ卵管上皮における細胞増殖および死と繊毛細胞の割合変化の関係を調べたところ、膨大部ならびに峡部において発情周期を通じて上皮細胞の増殖と死が確認され、特に膨大部において繊毛細胞の割合の増加と共に細胞増殖が活発に起こることが明らかとなった。細胞増殖が繊毛および非繊毛細胞のどちらで誘導されているか調べたところ、増殖している細胞は全て非繊毛細胞マーカー陽性であった。これらのことから、卵管上皮組織は発情周期に合わせて更新されていることが明らかとなった。また、卵管の繊毛細胞は非繊毛細胞から生じる可能性が示された。続いてウシ卵管上皮細胞における繊毛形成過程を明らかにするために、ウシ卵管上皮構成細胞の詳細な解析を行った。その結果、卵管上皮細胞は形態学的には繊毛細胞と非繊毛細胞に分類されるが、免疫組織学的分類では繊毛形成過程にある少なくとも7つの段階の細胞が存在することが明らかとなった。また、これらの細胞の数は発情周期に合わせて変化しており、繊毛細胞が最も必要とされる排卵前後に合わせて繊毛形成している事が示唆された。最後に、培養ウシ卵管上皮細胞における繊毛形成過程を調べ、<i>in vivo</i> の結果より推測された経路と比較した。その結果、培養ウシ卵管上皮細胞における繊毛形成関連因子の発現は生体内の状況とは異なっていた。また、培養時間の経過につれ、<i>in vivo</i> では見られない細胞が確認されたことから、今回用いた培養方法は繊毛形成過程の解明に不適切であったと考えられる。ウシ卵管上皮細胞の繊毛形成過程の全貌を明らかにするためには、<i>in vivo</i> を完全に反映する体外培養法の作出と共に更なる検討が必要である。</p> <p>本研究より、卵管上皮は形態学的には繊毛細胞と非繊毛細胞に大別されるが、非繊毛細胞中には少なくとも繊毛形成過程にある7段階の細胞が存在することが示唆された。卵管上皮は発情周期を通じたりモデリング時に、これらの多様な卵管上皮細胞の構成を変化させ、卵管内での様々な現象に応じた最適な環境を提供していると考えられる。また、<i>in vitro</i> のウシ卵管上皮細胞でみられる繊毛形成過程は <i>in vivo</i> とは異なるため、繊毛形成過程の解明には <i>in vivo</i> を正確に再現できる培養系の確立が必要である。</p>			

論文審査結果の要旨

卵管は異なる卵巢と子宮の間をつなぐ管ではなくその中では様々な生殖現象が行われている。卵管膨大部では受精が、狭部では精子の受精能獲得が生じ、これらのイベントには卵管上皮細胞が大きく関与している。卵管上皮は絨毛細胞ならびに非絨毛細胞の2種類から構成されており、絨毛細胞は細胞表面に存在する無数の絨毛を動かすことで卵管液の流れを生み出し初期胚の輸送を行う一方で、非絨毛細胞は初期胚の生存や発育に必要な物資を分泌している。このように、卵管機能は主に上皮細胞により制御される。卵管内での現象に適した微細環境を整えるために、卵管上皮細胞は発情周期に合わせて形態的・機能的に劇的な変化を起こす。本論文では、ウシ卵管上皮における絨毛・非絨毛細胞の性周期に依存した細胞数の増減機構の解明を目的として研究を実施している。研究の中で細胞増殖は非絨毛細胞にのみで見られること、また細胞の更新が発情周期に合わせて生じていることが新たに明らかとなった。また絨毛細胞は非絨毛細胞から生じる可能性が示された。続いてウシ卵管上皮細胞における絨毛形成過程を明らかにするために、ウシ卵管上皮構成細胞の詳細な解析を免疫組織化学染色法を用いて実施している。非絨毛細胞には免疫組織学的分類では絨毛形成過程にある少なくとも7つの段階の細胞が存在することが明らかとなり、絨毛形成過程モデルを示した。また、これらの細胞の数は発情周期に合わせて変化しており、絨毛細胞が最も必要とされる排卵前後に合わせて絨毛形成している事が明らかとなった。培養ウシ卵管上皮細胞における絨毛形成過程についてこの体内で得られた結果と比較したところ、絨毛形成関連因子の発現は生体内の状況とは大きく異なることを明らかにし、現在用いられている体外培養系に対して問題提起をしている。本論文の結果は、近年注目を集めている卵管の機能発現が絨毛細胞・非絨毛細胞の数的バランスにより制御されていること、絨毛細胞が複雑な過程を経て非絨毛細胞から生み出されること等これまでにない新しい知見を明らかにしており、現在問題となっている家畜の受胎率低下やヒトの異所性妊娠の発生のメカニズム解明に本論文の結果は大いに貢献すると期待される。