

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (農学 )	氏名	北坂 浩也
学位授与の要件	学位規則第4条第1・2項該当		
論 文 題 目 排卵過程における黄体化制御および卵成熟に関する fibronectin の機能解析			
論文審査担当者			
主 査	教 授	島田 昌之	
審査委員	教 授	前田 照夫	
審査委員	教 授	吉村 幸則	
審査委員	准教授	矢中 規之	
〔論文審査の要旨〕			
<p>本論文は、排卵期に卵胞内で局在性が大きく変化するファイブロネクチンに着眼し、それが顆粒層細胞の黄体化、卵丘細胞層の膨潤および卵成熟に果たす役割を解析し、卵の新たな体外培養法を開発することで家畜の生殖工学技術やヒトの高度生殖補助医療に貢献することを旨とした研究である。</p> <p>まず、第一章において、卵巣における卵胞発育、黄体化、排卵および卵の減数分裂進行について、本論文の学術的な研究背景が説明されていた。さらに、黄体形成不全や卵成熟不全により、家畜の生産性低下やヒトの不妊症の原因となること等の研究の社会的背景が記載されていた。これらの背景から、申請者が卵巣機能について、多くの研究がある内分泌的視点ではなく、細胞外マトリクスに着眼した理由が述べられ、細胞外マトリクスの変化が排卵現象に与える影響を解析する研究計画が示されていた。</p> <p>第二章から第四章において、実施した研究内容について、その目的、方法、結果、および考察が明瞭に示されていた。その各章における成果は以下の通りである。</p>			
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. マウスをモデルとして、卵胞発育、排卵過程におけるファイブロネクチンとその受容体であるインテグリンの局在変化および機能的変化について解析し、ファイブロネクチンが排卵期特異的に顆粒層細胞間と卵丘細胞間および卵表面に浸潤することを明らかとした。さらに、ファイブロネクチンが活性化する focal adhesion kinase (FAK) に着眼し、FAK のリン酸化が排卵過程で誘起されていることを見出した。このリン酸化はファイブロネクチンと EGF-like factor の両者により最大化されること、このリン酸化が顆粒層細胞の黄体化と卵丘細胞の膨潤を引き起こすことを示した。</li> <li>2. 排卵過程でファイブロネクチンが卵表面にも局在することから、その生理的意義を検討するため、マウスから回収した卵をファイブロネクチン添加培地で培養し、タイムラプス蛍光顕微鏡で減数分裂進行の詳細を経時的に観察した。その結果、ファイブロネクチン添加により極体放出が早期化するだけでなく、紡錘体の安定性が高まることが明らかとなった。この紡錘体形成は、FAK 抑制剤により認められなくなるが、既知の減数分裂進行因子と報告されている MPF や MAP kinase 活性に影響はなかった。</li> <li>3. マウス卵で明らかとなったファイブロネクチンの作用が、ヒト卵でも同様に認められるか否かを検証するため、高度生殖補助医療において採卵された未成熟卵 (GV 期卵、</li> </ol>			

MI 期卵) を患者同意と病院内倫理委員会の審査を経て、ファイブロネクチン添加実験に供試した。その結果、ヒト卵においてもファイブロネクチン添加が極体放出を促進し、かつ紡錘体の安定化に寄与していることを解明した。

第五章では、総合考察として、第二章の研究成果である「EGF-like factor とファイブロネクチンによる両者の刺激が顆粒層細胞の黄体化を引き起こす」という知見は、既存の内分泌学的な黄体化の理解では不明であった細胞構造の変化の仕組みを解明した新知見であることが記載されていた。また、第三章および四章における「卵の蛍光タイムラプス顕微鏡による詳細な解析が、紡錘体の安定化にファイブロネクチンが必須であることを明らかとした」研究成果は、卵の減数分裂のメカニズム解明のみでなく、新たな卵の体外成熟培養系を構築するという生殖工学技術に大きく貢献するものであることが示されていた。

これらの研究成果は、卵巣におけるファイブロネクチンの機能を解明しただけでなく、卵の減数分裂や顆粒層細胞の黄体化など、ヒトの不妊治療や畜産業の繁殖成績向上に直結する研究成果であり、関連分野に大きなインパクトを与えるものと判断された。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。