

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学 術)	氏名	S.A.Masudul Hoque
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
論 文 題 目			
Study on Mitochondria Functions in Granulosa Cells during Follicular Development Process (卵胞発育期における顆粒膜細胞のミトコンドリア機能に関する研究)			
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	都築 政起	
審査委員	准教授	矢中 規之	
審査委員	助 教	星野 由美	
〔論文審査の要旨〕			
<p>本論文は、前半が卵巣の卵胞発育過程における顆粒膜細胞の増殖について、ミトコンドリアにおけるエネルギー生産機構（ミトコンドリア代謝）に焦点を当て、その代謝の活性化機構と活性低下の仕組みを解明した基礎研究である。後半は、この基礎研究成果を家畜の繁殖管理法の開発へと展開することを目指した応用研究となっている。</p> <p>第1章において、本論文の学術的な研究背景となる哺乳類におけるメスの生殖機構が説明されていた。さらに、卵巣機能の低下は、家畜の繁殖障害の主要因となるだけでなく、ヒトの不妊症の原因であるという社会的背景が記載されていた。また、顆粒膜細胞のミトコンドリア代謝を解析する本研究の新規性と進歩性も説明されていた。</p> <p>第2章から第5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> <p>2章：幼若（3週齢）雌マウスにFSH製剤を投与して卵胞発育を促す卵巣刺激系をモデルとして、卵胞発育期に顆粒膜細胞のミトコンドリア電位活性の上昇、ATP産生量の増加および細胞増殖の活性化が生じていることを示した。さらに、この顆粒膜細胞の増殖過程で、ミトコンドリアDNAの増幅、ミトコンドリアDNA由来のmRNA発現とタンパク質への翻訳も活性化することを初めて明らかとした。</p> <p>3章：卵胞発育期の顆粒膜細胞におけるミトコンドリアの遺伝子発現とタンパク質合成機構について詳細に検討し、ミトコンドリア特異的に働くRNA合成酵素と転写因子がFSH（卵胞刺激ホルモン）刺激により増加することを明らかとした。さらに、顆粒膜細胞の体外培養系を用いて、ミトコンドリアにおけるタンパク質合成を特異的に抑制する実験を行い、ミトコンドリアでのタンパク質合成がATP産生だけでなく、顆粒膜細胞の増殖と分化にも必須であることを示した。</p> <p>4章：ミトコンドリアにおける電子伝達系の活性化は、ATP産生と同時に活性酸素種（ROS）を副産物として合成することから、卵胞発育期の顆粒膜細胞におけるROSの作用を抗酸化因子（PQQ）の影響を解析することで解明を試みた。その結果、ROSは卵胞発育期にFSH刺激により有意に増加し、その時、ミトコンドリアDNAの分解が生じていた。体外培養系にPQQを添加した時、ミトコンドリア特異的転写因子とRNA合成</p>			

酵素量が無添加区に比較して有意に増加し、ミトコンドリアにおける遺伝子発現量とタンパク質合成量およびATP量の上昇と細胞分裂の活性化も認められた。

5章：マウスへのPQQ飲水投与試験において、発達する卵胞数の増加、エストロゲン値の上昇、排卵卵数の増加が認められた。この卵の成熟率、受精率、胚盤胞期胚への発達率は正常であり、PQQと卵巣刺激法を組み合わせることで、多数の成熟卵を得ることが可能となった。さらに、自然周期における交配試験において、PQQ投与区は分娩当たりの産子数が有意に増加した。

第6章では、総合考察として、顆粒膜細胞のミトコンドリア機能が細胞増殖を担保すること、ミトコンドリア機能の亢進にミトコンドリア内の遺伝子発現とタンパク質合成が必須であること、ROSがそれらの限定要因であること、という本研究で初めて明らかとなった卵胞発育・生存メカニズムが記載されていた。さらに、抗酸化因子投与により多数の成熟卵と産子が得られるとの知見から、今後、畜産分野に応用していくストラテジーも記述されていた。

これらの研究成果は、顆粒膜細胞の細胞増殖と生存メカニズムを解明しただけでなく、多数の成熟卵を得る方法や産子数を増加させる手法の開発という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（学術）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。