腫瘍壞死因子 (TNFα) は主にマクロファージで産生されることの知られるサイトカイ
ンの一つである。近年、雌性生殖機能、特に黄体退行機構への TNFα の関与が注目
されているが、その詳細は明らかでない。本研究では、ウシ黄体における TNFα の生
理的役割を知るための基礎研究として、発情期合いに妊娠期におけるウシ黄体の
TNFα およびその特異的なレセプターについて多角的に検討するとともに、局所機能
調節因子としての TNFα の生理的役割を知るために、ウシ黄体の内分泌機能におよ
ぼす TNFα の影響について調べた。その結果、発情期を通じて、ウシ黄体に
TNFα ならびにその mRNA が存在し、TNFα の濃度は黄体期後期に高いこと、さら
に TNFα に特異的なレセプターの存在することが明らかとなった。また、TNFα は黄
体期後期だけでなく、初期および中期黄体より得た培養ウシ黄体細胞のプロスタグラン
ジン (PG) F2α ならびに PGE2 産生を促進することが明らかとなり、その作用は細胞
内 phospholipase A2 ならびに mitogen-activated protein kinase の活性化を介す
ることが明らかとなった。一方、妊娠期を通じて TNFα mRNA ならびに TNFα レセ
プターの存在することが明らかとなった。以上の結果から、TNFα は黄体退行機構だけ
でなく、発情期および妊娠期を通じてのウシ黄体機能調節に関与する可能性が示唆
された。また、ウシ黄体由来血管内皮細胞にも特異的な TNFα レセプターが存在し、
培養細胞のエンドセリン-1 および PGE2 分泌量が TNFα により増加したことから、
TNFα は黄体内局所機能調節因子として、黄体細胞だけでなく、血管内皮細胞の内
分泌機能にも作用して、オートクライアならびにパラクライア的にウシ黄体機能調節に関
与することが示唆された。
論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ黄体における腫瘍壊死因子（TNFα）の生理的役割を知るための基礎研究として実施された一連の実験から得られた以下のような成果をまとめたものである。

1）発情周期各期にあるウシから採取した黄体のTNFαおよびTNFαレセプター（TNF-R）について蛋白レベルおよび遺伝子レベルで検討した。その結果、黄体内のTNFαmRNA発現は発情周期を通じて有意な変化は見られなかったが、TNFαの濃度は発情周期にともなって増加し、後期に高い値を示した。また、発情周期を通じて黄体にTNF-RmRNAの発現が見られ、さらにTNFαに特異的な結合部位の存在することが明らかとなった。培養黄体細胞のプロスタグランジン（PG）F2αならびにPGE2分泌が、TNFαにより有意に促進された。2）妊娠黄体におけるTNFαおよびTNF-Rについて検討した。その結果、いずれのステージの妊娠黄体にもTNFαmRNAの発現が見られたが、その発現にステージによる差は認められなかった。また、いずれのステージの妊娠黄体にもTNFαに特異的な結合部位が存在し、その濃度は妊娠初期ならびに後期に高く、中期に低かった。3）黄体の約50％以上を構成する血管内皮細胞におけるTNF-Rならびにその生理的意義について検討した。その結果、ウシ黄体から単離した血管内皮細胞に2つの異なる親和性をもつTNF-RならびにそのmRNAの存在することが示された。さらに、培養細胞のエンドセリン－1ならびにPGE2分泌量がTNFα処理により濃度依存的に増加することが明らかとなった。4）TNFαの黄体細胞内シグナル伝達機構について検討した。その結果、TNFαによる黄体細胞のPGF2α分泌促進効果は、phospholipase A2ならびにmitogen activated protein kinaseの特異的阻害剤により濃度依存的に抑制された。以上の研究から、発情周期だけでなく妊娠期を通じてウシ黄体にTNFαならびにその特異的なレセプターの存在することが明らかとなり、TNFαは局所調節因子として、黄体退行機構だけでなく、発情周期、妊娠期を通じてのウシ黄体機能調節にも関与することが示唆された。また、黄体由来血管内皮細胞にも特異的なTNF-Rの存在することが明らかとなったことから、TNFαは黄体細胞のみならず血管内皮細胞の内分泌機能にも作用して、オートクライオンならびにパラクライオン的に黄体機能調節に関与することが示唆された。

これらの知見は、ウシを含む哺乳動物の黄体機能調節におけるTNFαの生理作用の解明に寄与するのみならず、卵巣の機能性疾患に起因する不妊症の診断、治療法の開発の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文献を総合的に審査し、本論文が博士(農学)の学位に値するものと判断した。