

氏 名	BUI THI TRA MI
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5535号
学位授与の日付	平成29年 3月24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	Promoting effects of vascular endothelial growth factor (VEGF) on the competence of porcine oocytes derived from small follicles (血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) による小卵胞由来ブタ卵母細胞の成熟能促進効果)
論文審査委員	教授 国枝哲夫 教授 舟橋弘晃 教授 木村康二 准教授 若井拓哉

### 学位論文内容の要旨

*In vitro* maturation (IVM) systems involving porcine oocytes for *in vitro* embryo production must be improved to provide a fundamental research platform for developing human reproductive techniques and for studying reproductive disease. Cumulus oocyte complexes (COCs) derived from large or middle follicles (LF: >6 mm diameter; MF: 3 – 6 mm diameter) have been known to have a higher developmental competence as compared with those derived from small follicles (SF: <3 mm diameter), whereas SF is the majority in ovaries. Vascular endothelial growth factor (VEGF) was considered as a valuable biochemical marker of oocyte maturation. In this thesis, experiments were carried out to investigate if supplementation of IVM medium with VEGF during the first 20 h of IVM will enhance the meiotic and developmental competences of SF-derived oocytes.

In the first experiment, the amount of VEGF was significantly higher in the IVM medium cultured MF- and SF-derived COCs. When SF-derived COCs were exposed to 200 ng/ml VEGF during the first 20-h period of IVM, the meiotic and developmental competences were significantly improved and were similar with that of MF-derived oocytes.

In the second experiment, when transcript levels of VEGF, VEGF receptor and some genes associated with the oocyte quality were examined in MF- and SF-derived cumulus cells 20 h after the start of IVM, it was demonstrated that supplementation of IVM medium with VEGF increased transcript levels of PTGS-2 and HAS-2 and might influence the quality of the oocytes.

In the third experiment, when the effect of an inhibitor of VEGF receptor, axitinib, on the meiotic competence of SF- and MF-derived oocytes was examined, the result showed that VEGF played an important role to maintain the viability of surrounding cumulus cells, and that an inadequate signal transduction of VEGF in the presence of axitinib during IVM somehow disturbed the arrest of oocytes at the GV stage and reduced the meiotic competence of the metaphase II stage.

In conclusion, the supplementation of VEGF, especially at 200 ng/ml during the first 20 h of IVM, has a promoting effect on the meiotic and developmental competences of SF-derived oocytes by maintaining healthy transcripts in the surrounding cumulus cells. Controlling this signal transduction will improve the efficiency in embryo production *in vitro* from not only MF-derived but also SF-derived oocytes in the fields of mammalian production.

## 論文審査結果の要旨

本提出論文は、哺乳動物の卵巣中に多数存在するものの、これまで胚の体外生産のために利用されてこなかった直径3 mm以下の小卵胞由来卵母細胞の体外成熟能及び体外発生能の改善を目的として、卵母細胞の成熟能に影響することが知られているVEGFに着目し、その因子の働きと添加による改善効果の検証に関する研究成果をまとめたものである。

先ず、卵母細胞の成熟能に影響することが知られているVEGFに着目し、これまでよく検討されている直径3~6 mmの中卵胞由来卵丘細胞-卵母細胞塊と小卵胞由来のそれらのVEGF分泌能の違いを明らかにするとともに、その分泌能の低い小卵胞由来卵丘細胞-卵母細胞塊の体外成熟培地にVEGFを200 ng/ml添加することでその卵母細胞の体外成熟能と体外発生能を中卵胞由来卵母細胞並みに改善できることを明らかにした。さらに、VEGF受容体の特異的阻害剤であるAxitinibを体外成熟培地に添加すると卵丘細胞-卵母細胞塊の卵丘細胞でアポトーシスが有意に誘起され、卵母細胞の体外成熟能を有意に低下させたことから、VEGFは卵丘細胞のアポトーシス阻止因子として働くことで卵母細胞の体外成熟能や体外発生能を維持していることを明らかにした。これらの成果は、種々の生殖補助技術で利用される哺乳動物雌性生殖細胞の効率的な準備と利用に極めて有益な情報を提供する。

以上の知見は、実用的かつ効率的なブタ小中卵胞由来卵母細胞の利用技術として、さらにそれに係わる基礎資料として、高く評価できる。また、本提出論文が明らかにした知見は、人類にとって重要な肉資源の一つであるブタの改良増殖効率の改善に役立ち、産業上も極めて意義深い。

以上のことから、本学位審査委員会は、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、本論文は、博士（農学）の学位に値すると判断した。