

氏名	Fadhillah		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学術		
学位授与番号	博甲第 5629 号		
学位授与の日付	平成29年 9月29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	Roles of low oxygen condition and hypoxia-inducible factor 1 α during luteinization of bovine granulosa cells (ウシ顆粒膜細胞の黄体化における低酸素および低酸素誘導因子 1 α の役割)		
論文審査委員	教授 齋藤 昇	教授 舟橋 弘晃	教授 木村 康二
学位論文内容の概要			
<p>Progesterone (P4) is a hormone which is essential for establishing the pregnancy. During luteinization, the follicular cells start to produce a large amount of progesterone. At the same time, this process is occurred under low oxygen condition. The present study investigated the possible roles of low oxygen tension and hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α) transcription factor on P4 synthesis during luteinization in bovine granulosa cells. A model of luteinizing GCs was conducted by the induction by insulin and forskolin for 24 h. Low oxygen condition was induced by a lower oxygen tension (10% O₂) and a hypoxia-mimicking chemical (cobalt chloride, CoCl₂). P4 production as well as mRNA and protein expression of StAR, P450scc, and 3β-HSD, a key protein and enzymes involved in P4 synthesis, were then measured in luteinizing GCs. Either 10% O₂ or 100 μM CoCl₂ increased HIF-1α protein expression in luteinizing GCs. After the upregulation of HIF-1α, there was an increase in P4 production and in the gene and protein expression levels of StAR in luteinizing GCs cultured under 10% O₂ and luteinizing GCs treated with CoCl₂. Further, to confirm whether HIF-1α mediates low oxygen condition-induced P4 synthesis, the luteinizing GCs were treated with echinomycin, a small-molecule inhibitor of HIF-1's DNA-binding activity. Echinomycin attenuated the effects of CoCl₂ and of low oxygen tension (10% O₂) on P4 production and StAR expression in luteinizing GCs. Overall, these data provide an insight on the effect of low oxygen condition and HIF-1α in promoting P4 synthesis on granulosa cells during luteinization which is important for formation of corpus luteum.</p>			

論文審査結果の要旨

ウシの黄体は妊娠に必須のプロゲステロン(P4)を分泌する重要な一過性の内分泌器官である。卵胞における顆粒膜細胞はLH等の刺激を受けて黄体細胞に分化(黄体化)することが知られている。発情周期において卵胞はその成長に合わせて、その周辺に栄養・酸素の供給のための毛細血管網が形成されるが、排卵・黄体形成初期において、血管の狭窄・崩壊が生じ、顆粒膜細胞の黄体化の時期は低酸素状態にあると考えられている。本研究ではこの低酸素状態がウシ顆粒膜細胞の黄体化に及ぼす影響について検討している。最初の実験において、顆粒膜細胞の黄体化に培養酸素濃度がそのP4分泌やその合成に関わる酵素(StAR, 3 β -HSD)の発現に及ぼす影響について検討している。その結果、低酸素濃度(10%)培養条件は、顆粒膜細胞のP4分泌には影響を及ぼさないが、黄体化顆粒膜細胞のP4分泌を有意に上昇させた。同様に低酸素濃度はStAR, 3 β -HSDの遺伝子発現ならびにタンパク質発現を上昇させた。以上の結果から、低酸素環境が顆粒膜細胞の黄体化の過程を促進することが明らかとなった。次に、低酸素環境で細胞の様々な反応を引き起こすkey factorとなっているHIF-1 α が顆粒膜細胞の黄体化、すなわちP4分泌やその合成に関わる酵素群(StAR, 3 β -HSD, P450_{scc})の発現に及ぼす影響について検討している。低酸素状態を模倣すると報告されている塩化コバルト(CoCl₂)を培養に加えると黄体化顆粒膜細胞でのHIF-1 α 発現を上昇させ、P4分泌も増加することが示された。この時、同時にStARの発現も増加した。また、HIF-1 α のDNA結合を阻害するエキノマイシンを添加するとCoCl₂や低酸素(10%)で見られるP4やStAR発現の上昇効果は消滅した。以上の結果から、低酸素は顆粒膜細胞の黄体化に重要であること、さらにこれにはHIF-1 α が関与することが示された。

本研究においてウシ顆粒膜細胞の黄体化に低酸素環境が関わることを明らかにしたことは、生殖内分泌学上重要な情報であるとともに、家畜のみならずヒトの不妊研究の基礎知見として極めて意義深いものである。本学位審査委員会はこれらの成果をまとめた本論文ならびに参考文献を総合的に審査し、本論文が博士学位(学術)に値するものと判断した。