

（様式6-C） C. 学位論文（Thesis）で発表論文のない場合

岩宗 政幸 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目      MicroRNA-376a Regulates 78-Kilodalton Glucose-Regulated Protein  
Expression in Rat Granulosa Cells  
（ラット顆粒膜細胞においてmiR-376aはGRP78の発現を調節する）

学位論文（Thesis）

発表予定論文

MicroRNA-376a Regulates 78-Kilodalton Glucose-Regulated Protein  
Expression in Rat Granulosa Cells  
Molecular Endocrinology（投稿中）

Masayuki Iwamune, Kazuto Nakamura, Yoshikazu Kitahara, Takashi Minegishi

論文の要旨及び判定理由

LH(黄体形成ホルモン)は、排卵の制御や卵の成熟を促し、配偶子形成と妊娠成立に中心的な役割を果たしている。LH受容体の発現を増強させる働きのあるGRP78を調節する因子としてmiRNAに着目し、発現制御のメカニズムを明らかとし、排卵障害の治療に応用することを、本研究では目的としている。

miRNAはmRNAの転写後の制御に関与しており、主に、翻訳の抑制やmRNAの分解を引き起こす。排卵周期モデルのラット卵巢でmiRNAマイクロアレイを施行し、有意な変動を起こすmiRNAが44個抽出された。これらのmiRNAのうちGRP78-mRNAの3'非翻訳領域に結合しうるmiRNAはmiR-144、miR-376a、miR-451の3つであった。これらをターゲットとして研究を進めた。

in vivoでは各miRNAはマイクロアレイの結果と同様に有意な変動をみせたが、in vitro（顆粒膜細胞の初代培養系）では、miR-376aのみin vivoと同様の変動をみせた。そのため、miR-376aにさらにターゲットを絞った。

顆粒膜細胞初代培養系において、miR-376aを強発現させた場合とmiR-376aをinhibitした場合、GRP78のmRNAレベルでは前者と後者とでは差はみられなかったが、タンパクレベルでは前者でGRP78の発現低下がみられ、後者で発現増強が確認された。このことからmiR-376aはmRNAの発現変化を起こさず、タンパクの発現を調節することが示された。

最後に、GRP78-mRNAのmiR-376a結合部位を特定するため、Luciferase Assayを行った。miR-376aの結合部位（GRP78-mRNAの2439～2459番目）を含む場合、miR-376aによってluciferinの翻訳抑制が起こり、コントロールと比較して約50%の活性低下がみられた。このことからGRP78-mRNAの2439～2459番目にmiR-376aが結合することが示された。

以上よりmiR-376aがGRP78の発現調節に関与していることが明らかとなり、これにより排卵障害の原因解明に新たな視点を提供したと認められ、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

（平成26年2月14日）

審査委員

|    |                                 |       |   |
|----|---------------------------------|-------|---|
| 主査 | 群馬大学教授（医学系研究科）<br>臓器病態内科学分野担任   | 倉林 正彦 | 印 |
| 副査 | 群馬大学教授（医学系研究科）<br>泌尿器科学分野担任     | 鈴木 和浩 | 印 |
| 副査 | 群馬大学教授（生体調節研究所）<br>代謝シグナル解析分野担任 | 北村 忠弘 | 印 |

（様式6, 2頁目）

最終試験の結果の要旨

- （1） miRNAの臨床応用に関して
- （2） 不妊症の遺伝子治療の可能性について

試問し満足すべき解答を得た。

（平成26年2月14日）

試験委員

群馬大学教授（医学系研究科）  
産科婦人科学分野担任                      峯岸 敬                      印

群馬大学教授（医学系研究科）  
臓器病態内科学分野担任                      倉林 正彦                      印

試験科目

主専攻分野                      産科婦人科学                      A

副専攻分野                      臓器病態内科学                      A