

(様式6)

中尾光資郎氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題目 TNF- $\alpha$  Suppressed FSH-Induced LH Receptor Expression Through Transcriptional Regulation in Rat Granulosa Cells.

(TNF- $\alpha$ はラット顆粒膜細胞におけるFSH誘導性LH受容体発現を転写活性を介して抑制する)

Endocrinology, 156(9), 3192-3202, 2015

Kohshiro Nakao, Hiroshi Kishi, Fumiharu Imai, Hiroto Suwa, Takashi Hirakawa, Takashi Minegishi

#### 論文の要旨及び判定理由

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )は炎症存在下で主に産生され、細胞増殖・分化・アポトーシス等に関わるサイトカインである。TNF- $\alpha$ は卵巣顆粒膜細胞においても生理的に産生され、排卵や卵の成熟に関与している。また、多嚢胞性卵巣症候群を罹患する患者卵巣中や子宮内膜症を罹患する患者腹水中には高濃度のTNF- $\alpha$ が存在すると報告されており、これら疾患は排卵障害が原因となっており、高濃度のTNF- $\alpha$ がその一因とも考えられる。LH受容体はゴナドトロピンに反応し、卵成熟・排卵・ステロイド合成といった機能に関して重要な働きを持っており、本研究はLH受容体発現に及ぼすTNF- $\alpha$ の影響を検討したものである。

本研究は幼若雌ラットにdiethylstilbestrol (DES : 合成エストロゲン)を投与した後、卵巣から単離した顆粒膜細胞を用いている。この細胞はLH受容体発現のない未熟顆粒膜細胞であり、FSHを作用させることでLH受容体の発現が誘導される。この顆粒膜細胞にFSHとTNF- $\alpha$ を添加することによるLH受容体発現への影響を分析し、報告している。

顆粒膜細胞においてFSH単独群に比してFSH、TNF- $\alpha$ 添加群はLH受容体mRNA発現が減弱しており、細胞膜蛋白レベルでも同様の発現減弱を確認されている。次にLH受容体mRNAプロモーター領域 (5'末端非翻訳領域-1379/+1bp) を含むluciferase vectorを用いluciferase assayを行ったところ、FSH添加にて上昇したluciferase活性はFSH及びTNF- $\alpha$ の添加により減弱することから、TNF- $\alpha$ はFSH存在下でLH受容体mRNA転写活性を減弱させ、LH受容体発現を減少させると報告している。また、LH受容体発現減弱に寄与するシグナル伝達因子の検索を行ったところ、LH受容体発現に寄与するPKA, PI3K-Aktに関与するタンパクのリン酸化には変化を認めず、TNF- $\alpha$ 添加により核内へ移行したp65がLH受容体プロモーター領域に結合していることを確認している。さらにNF- $\kappa$ B阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)阻害剤を用いたところ、TNF- $\alpha$ によるLH受容体発現の減弱が抑制され、TNF- $\alpha$ によるLH受容体発現の減弱にはNF- $\kappa$ BおよびHDACによるLH受容体プロモーター領域への影響が関与していることを示している。

以上よりTNF- $\alpha$ がLH受容体発現を減弱する機構についてNF- $\kappa$ BならびにHDACの関与をはじめて明らかにしており、卵巣機能局所調節因子としてのTNF- $\alpha$ に関する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。

(審査年月日 平成27年9月28日)

審査委員

主査 群馬大学教授（医学系研究科）  
泌尿器科学分野担任 鈴木 和浩 印

副査 群馬大学教授（医学系研究科）  
分子細胞生物学分野担任 石崎 泰樹 印

副査 群馬大学教授（医学系研究科）  
臨床薬理学分野担任 山本 康次郎 印

（様式6，2頁目）

最終試験の結果の要旨

卵巣におけるTNF- $\alpha$ の生理的意義について、および卵巣機能調節に対するTNF- $\alpha$ の臨床応用について

試問し満足すべき解答を得た。

（試験年月日 平成27年9月28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）  
分子細胞生物学分野担任 石崎 泰樹 印

試験科目

主専攻分野 産科婦人科学 A

副専攻分野 分子細胞生物学 A