

氏名・本籍	中西 寛弥 (兵庫県)
学位の種類	博士 (生命システム科学)
学位記番号	博甲 第67号
学位授与の日付	令和5年3月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	マウス顆粒膜細胞に発現する脂質転写因子SREBPの賦活化メカニ ズムとその機能に関する基礎的研究
学位論文審査委員	主査 准教授 山下 泰尚 副査 教授 齋藤 靖和 教授 稲垣 匡子 准教授 阿部 靖之

## 学位論文の要旨

第1章では、排卵不全症の一つである黄体化未破裂卵胞症候群(LUF)とCholesterol (Cho)新規合成を介して産生されるプロゲステロン(P4)との関係について以下のように論述している。LUFは、健常な女性の約10%と高頻度に発症し、その原因は排卵誘導に重要なP4シグナルと関連する。哺乳動物では、FSHが顆粒膜細胞(GC)を刺激し、卵胞発育が誘導され、その後LHがGCを刺激するとEGF-like factor刺激によりChoを基質にP4合成され、成熟卵子が排卵される。これまでChoは肝臓から運搬されと考えられてきたが、マウスGCにおけるトランスクリプトーム解析結果から、肝臓で脂質合成を司る転写因子*Srebp*が高発現することを見出した。肝臓では血中のCho濃度が低下すると、不活性型SREBP(fsSREBP)が正の制御因子SCAPと結合し、活性型SREBP(nSREBP)が核移行し、Cho新規合成酵素群(DNEs)の発現を介してChoが新規合成される。一方、Cho濃度が増加するとfsSREBP-SCAPに負の制御因子INSIGが結合しnSREBPの核移行が阻害され、Cho新規合成が抑制される。したがって、卵巣においてもSREBP, SCAP, INSIGが誘導するCho新規合成メカニズムにより卵胞発育や排卵が誘導されると仮説を立て以下の検討を行った。

第2章では、まず未成熟な雌マウスに卵胞発育を誘導するeCGを投与し、48時間後に排卵を誘導するhCGを投与し、GCにおけるfsSREBP, SCAP, INSIGの発現を調べた。その結果、eCG刺激後にこれら全てが高発現し、fsSREBP, SCAPの発現はhCG刺激後まで高値を示した。一方INSIGの発現はhCG投与後急激に低下した。次にSREBPとINSIGの関係を調べた結果、eCG刺激後のGCではfsSREBP-SCAP-INSIGの三量体を形成したが、hCG刺激後ではfsSREBP-SCAPの二量体であった。eCG刺激後のGCではfsSREBPのみが検出されたが、hCG刺激後にはnSREBPのみが検出され、これらが核に局在し、DNEs(*Hmgcr*, *Cyp51*, *Dhcr7*)mRNA発現とCho量が増加した。SREBPの役割を調べる目的で、hCG投与マウス(hCG区)とhCG+SREBP活性化阻害剤(Fato)投与マウス(hCG+Fato区)で比較解析した。hCG+Fato区のGCでは、nSREBP, DNEs mRNA発現, Cho量, P4量, 排卵数が有意に減少した。以上の結果から、卵胞発育期のGCではSREBP, SCAP, INSIGが三量体を形成しChoは合成されないが、排卵刺激後、

INSIGが消失しnSREBPが核移行する結果、Choが新規合成され、これを基にP4が産生され排卵が誘導されることを明らかにした。

第3章では、排卵刺激後のINSIG消失機序を検討した。肝臓ではinsulin刺激によりGLUT4が細胞膜へ移行しGlucose(Glu)が代謝されATPが産生されると、AMPKが不活性化しINSIGが急速に消失する。そこで、LH後のGCで発現するEGF-like factorによりAMPKが不活性化し、INSIGが消失するかを検討した。マウスにeCGを投与し48時間後に、hCGを投与し、GCにおけるGLUT4発現と細胞内局在、Glu量、ATP量の測定および活性型AMPK(pAMPK)を比較解析した。この結果、eCG刺激後に比べhCG刺激後のGCでGLUT4の発現上昇と細胞膜へ局在が認められ、Glu量とATP量が有意に増加するとともにpAMPKとINSIGが有意に減少したが、これらはEGFR阻害剤投与により抑制された。次にhCG区とhCG+AMPK活性化剤(AICAR)投与マウス(hCG+AICAR区)を用いてfSREBPとINSIG発現、nSREBPの核移行、Cho量、P4量を比較解析した。その結果、hCG区と比べhCG+AICAR区ではINSIG消失とnSREBPの核移行、Cho量、P4量と排卵数が有意に抑制された。以上のことから、排卵刺激後のGCではEGFR依存的にGLUT4が膜移行し、細胞内GluとATP量の増加に伴いAMPKが不活性化する結果、INSIG消失とnSREBPが核移行し、P4合成が亢進され、排卵が誘導されることを明らかにした。

第4章では、先行研究から卵巣におけるGlu代謝と脂質の役割をまとめ、Glu依存的に賦活化するSREBPによる脂質合成が雌性生殖に果たす役割を考察した。さらに、第2章と第3章の結果からSREBP, SCAP, INSIGの発現不足やSREBP活性化機序の破綻がP4産生低下を伴うLUFの発症原因になりうると示唆され、これらを標的としたLUFに対する新しい予防法や治療法を提案した。