

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

坂口 健一郎

主論文の題目
および
掲載・審査委員名

題 目 The Rat Oocyte Synthesises Melatonin
(ラットの卵母細胞はメラトニンを合成する)

掲載誌 Reproduction, Fertility and Development 2013; 25: 674-682

主査 平田 和明
副査 鈴木 登
副査 河村 和弘

[論文の要旨・価値] メラトニンは松果体で産生されるインドールアミンであり、アリルアルキルアミン N-アセチルトランスフェラーゼ (AANAT)やアセチルセロトニン O-メチルトランスフェラーゼ (ASMT) の2つの酵素による一連の反応でセロトニンからメラトニンが合成される。メラトニンは直接的に卵巣機能に影響を及ぼすとされており、申請者らのグループはメラトニンが卵巣内で合成される可能性を研究してきた。今回、ラットを用いて AANAT や ASMT などの酵素の卵巣における発現の有無を検討した。方法：ラットの松果体をポジティブコントロールとして、卵巣の AANAT と ASMT の発現を RT-PCR、ウエスタンブロット、免疫染色で検討し、さらに卵母細胞におけるセロトニン代謝とメラトニン産生を検討した。結果：RT-PCR では、松果体同様に AANATmRNA と ASMTmRNA が検出された。ウエスタンブロットでは、AANAT に相当する 24kDa のタンパク質のバンドが検出された。免疫組織染色では、AANAT の免疫活性が卵母細胞、黄体、卵巣髄質で認められた。これらは、卵母細胞にメラトニン合成酵素である AANAT が発現することを示す。また、卵母細胞をセロトニン添加と無添加で培養した結果、メラトニンのピークは添加群で高かった。ELISA 法の定量では、メラトニン産生量は培養時間とセロトニン投与量に依存して有意に増加した。結論：卵巣内においてメラトニンが合成されることが示された。また、ラット卵母細胞においてセロトニンからメラトニンが合成されると推定された。酸化ストレスは卵母細胞発育や成熟を抑制すると考えられており、本研究は卵細胞自身が抗酸化作用を有するメラトニンを合成し、受精や一連の胚発育を促している可能性を示した意義深い研究であると評価した。

[審査概要] 審査委員会では坂口氏から、本研究の目的、方法、結果、考察について PC プロジェクターを用いて約 20 分間の発表後、本研究および関連領域に関する質疑応答が行われた。質問は、①メラトニンの人と動物への作用の差異について②卵胞の大きさによるメラトニン量の差③メラトニンによる卵母細胞の機能低下抑制機構について④ヒト卵胞におけるメラトニンの合成について⑤ AANAT と ASMT の発現の差異等、多くの質問があり一部不十分な点が見受けられたが、概ね適切な回答で対応していた。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 本研究および関連領域に関しての専門的知識ならびに独立した研究者としての研究遂行能力を有すると判断された。研究発表は落ち着いた、明解なプレゼンテーションであった。英語読解力は英文文献の一部の和訳により十分な読解力を有すると判断した。審査には真摯な態度で臨まれ、誠実で礼儀正しく、学位授与に十分値する人物であると認められた。