The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tyrosin Phosphorylation of STAT3 by Leptin through Leptin Receptor in Mouse Metaphase 2 Stage Oocyte
Author(s)	松岡, 徹
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42828
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【80】

氏　　名	松（まつ）　岡（おか）　徹（てつ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15766　号
学位授与年月日	平成12年10月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学　位　論　文　名	Tyrosin Phosphorylation of STAT3 by leptin through Leptin Receptor in Mouse Metaphase 2 Stage Oocyte （マウスM2期卵におけるレプチン受容体を介したSTAT3のリン酸化）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　村田　雄二 （副査） 教　授　奥山　明彦　　教　授　遠山　正彌

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】レプチンは1994年に遺伝性肥満マウスであるOB/OBマウスから見いだされた肥満原因遺伝子産物である。OB/OBマウスは肥満のモデルマウスとして肥満、過食、高血糖、高インスリン血症、インスリン抵抗性、不妊を特徴とするマウスとして知られている。マウスでは脂肪細胞、人では脂肪細胞および胎盤が主な産生部位として知られている。この物質は視床下部に作用して食欲中枢を制御することが知られた。また、1995年にレプチンの受容体がクローニングされた。一方、レプチン受容体は細胞外および細胞質内ドメインをもつ167Kdの膜貫通型の構造を持ち、その細胞質内領域はIL6ファミリー受容体二量体の1つであるGP130と高い相同性をもち、両者の間ににその機能を発揮するのに重要な構造が共通であることからいわゆるサイトカインファミリーの1つであることが示された。レプチン受容体の変異体は機能的なものはlong formとshort form、主に2つあることが知られている。現在までの知見から、レプチンの受容体が全身に分布しており、レプチンの作用部位が全身にあること、卵巣にもその作用点があることから、レプチンそのものが生殖現象に大きく関わることが推測された。今回、マウスの未受精卵においてレプチン受容体の発現を遺伝子レベルおよび蛋白レベルで検討し、更にレプチンが卵子において、その生理作用を有するかどうか、すなわちレプチンの主な信号伝達経路とされているJak-STATの系を作動するかどうかを検討した。

【方法】マウス未受精卵は6－8週のCD1雌マウスから採取された。過排卵雌マウスの卵巣から成熟を開始する前、卵核胞崩壊前（GV期）の卵子および卵管から成熟卵（M2期）を用いた。(1) マウス未受精卵のレプチンおよびレプチン受容体のmRNAの発現をRT-PCR法で検討した。レプチン受容体に対するプライマーはlong formに特異的なプライマーを用いた。2）レプチン受容体の蛋白レベルでの発現を、受容体細胞内領域を特異的に認識する抗体を用いてウエスタンブロット法にて検討した。(3) 同じ抗体を用いて共焦点レーザー顕微鏡による免疫蛍光染色をし、GV期卵子およびM2期卵でのその局在について検討した。(4) 卵胞内生理的濃度である15ng/mlのレプチンの存在下で30分成熟卵（M2期）を培養し、レプチンの主な情報伝達系と考えられているSTAT3のチロシンリン酸化を検討した。

【成績】(1) マウス未受精卵（GV期、M2期）ではレプチン受容体のlong formのmRNAの発現を認めた。一方、レプチンのmRNAの発現は認めなかった。(2) レプチン受容体の蛋白レベルでの発現はGV期卵、M2期卵共に認められた。その発現量はGV期では少なく、M2期でより多いことを確認した。共焦点レーザー顕微鏡による免疫蛍光染色でもそれぞれの卵に発現し、受容体の局在の違いを確認した。(4) ヒト卵胞液中のレプチン濃度（15ng/ml）の

存在下で、M2期卵でSTAT3のチロシンリン酸化が行われたことを確認した。
【総括】マウス未受精卵では、レプチン受容体のlong formが存在し、卵子もレプチンの直接的な標的となりうることが示唆された。また、レプチンによりSTAT3が活性化される経路が存在することが示された。すなわちマウス未受精卵で、レプチンがその受容体を通して何らかの生理作用を有する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、肥満遺伝子産物であるレプチンが末梢レベルでも卵子に対しても生理的作用が存在するかどうかを解明することを目的としている。最初にレプチンあるいはレプチン受容体がマウスの未受精卵に存在するかをmRNAレベルそして蛋白レベルで存在するか否かを検討した結果、レプチン受容体が存在することを証明した。さらにレプチンが卵子に作用することの証明としてSTAT3のチロシンリン酸化を検討した。この結果から実際にシグナル伝達が行われ、レプチンが卵子の成熟に対し重要な役割を担う可能性があることを初めて報告した。本研究の成果は、レプチンが生殖機構にも重要な役割を担うことを証明するものであり、不妊症特に排卵障害の病態の解明に新たな展開の可能性を示唆するものであり、学位の授与に値すると考えられる。