

## 博士論文審査の結果の要旨

氏名	Islam Md Aminul
学位名	博士 (医工学)
学位番号	甲 第1号
論文題目	Study on the effect of heat stress on mammary epithelial cells and its prevention (暑熱ストレスが乳腺上皮細胞に及ぼす影響とその予防に関する研究)
論文審査委員	主査 教授 米倉 真一 教授 片山 茂 教授 下里 剛士 准教授 森 政之 教授 杉野 利久 (広島大学)

(博士論文審査の結果の要旨)

世界的に温暖化が進行しており、暑熱ストレスに起因する乳牛の乳量減少等の影響が、熱帯、亜熱帯地域のみならず、我が国を含む広い地域へ拡大しており、温暖化の進行に適応する生産安定技術が求められている。暑熱による乳量の低下は、乾物摂取量が減ることが要因であると考えられてきたが、乾物摂取量の低下は暑熱ストレスによる乳量減少の 35-50%しか説明できないことが明らかとなり、他の要因の解明が求められている。暑熱刺激が直接的に乳腺上皮細胞の生理に影響を及ぼしているという仮説の基、本論文では異なる温度の熱刺激が乳腺上皮細胞の生理に及ぼす影響や、暑熱刺激によるダメージを緩和する方法について検討を行っている。得られた成果は以下の2点に集約され、学位論文として纏められている。

- ① 乳腺上皮細胞は通常 37°C で培養されるが、39°C の弱い熱刺激や 41°C の強い熱刺激によって乳腺上皮細胞の生理に、どのような変化があるのか検討した。その結果、41°C の強い熱刺激によって小胞体ストレス応答機構 (UPR: Unfolded Protein Response) の 1 つ PERK-CHOP 経路が活性化し、細胞死が誘発されることを明らかにした。一方、39°C の弱い熱刺激によって細胞死は発生せず、UPR の 1 つ IRE1-XBP1 経路が活性化し、ミルクタンパク質である  $\beta$ -casein 遺伝子やタイトジャンクション形成に関与する遺伝子発現が上昇することを見出した。さらに 39°C の弱い熱刺激によるこれら効果は温度受容体の 1 つ TRPV4 を介するものであることを明らかにした。以上、温度刺激の強度によって異なる UPR 経路が活性化すること、その結果、細胞死またはミルクタンパク質発現の上昇といった真逆の応答をすることを見出した。
- ② 天然アミノ酸の 1 つである 5-aminolevulinic acid (5-ALA) に、強い熱刺激による乳腺上皮細胞死に対して保護効果があるのか検証した。5-ALA を熱刺激前に培地に添加することで、強い熱刺激による乳腺上皮細胞のアポトーシスの割合が有意に減少することを見出した。また 5-ALA の事前添加により、強い熱刺激による PERK-CHOP 経路の活性化が抑制され、酸化ストレス応答が亢進していることを見出した。

審査委員会は、これらの成果が原著論文として査読付き学術誌に 2 編公表されていることを確認した。乳腺上皮細胞の数と乳量との間には負の相関性があることが報告されていることから、本研究成果は熱刺激そのものが乳腺上皮細胞死を誘導し、その結果、乳量が減少することを示唆するものである。特に、5-ALA が暑熱ストレス対策として乳牛の飼料添加剤として活用出来る可能性を提唱した点について高く評価した。以上踏まえ、審査委員会は、本論文は博士論文として十分な内容を有するものであると判断し、「合格」と判定した。

(公表主要論文名)

1. Md Aminul Islam, Moeko Mizusawa, Mst Mamuna Sharmin, Satoko Hayashi, Shinichi Yonekura. TRPV4 Increases the Expression of Tight Junction Protein-Encoding Genes via XBP1 in Mammary Epithelial Cells. *Animals*, volume 10, pages 1174 (2020 年 7 月発行に掲載)

2. Md Aminul Islam, Yoko Noguchi, Shin Taniguchi, Shinichi Yonekura.  
Protective effects of 5-aminolevulinic acid on heat stress in bovine mammary epithelial cells.  
*Animal Bioscience*, volume 34, pages 1006-1013 (2021年6月発行に掲載)