

(様式6-A) A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

諏訪 裕人氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

## 題 目

Retinoic acid enhances progesterone production via the cAMP/PKA signaling pathway in immature rat granulosa cells

(レチノイン酸はサイクリックAMP/プロテインキナーゼAシグナル経路を介して未熟ラット顆粒膜細胞のプロゲステロン産生を増加させる)

Biochemistry and Biophysics Reports 8: 62-67, 2016

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

## 論文の要旨及び判定理由

ビタミンA誘導体であるレチノイン酸は、胚の発生や卵の成熟に重要な役割を果たしている。また、レチノイン酸は種々のステロイド産生細胞においてステロイド産生を正に制御していることが報告されている。近年、Kipp等により初期の卵胞発育に重要な因子であるアクチビンが、レチノイン酸経路を介して卵巣顆粒膜細胞の増殖を促進しているとの報告がなされた。このため、本研究では、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培養系を用いて、レチノイン酸が顆粒膜細胞におけるステロイド産生に及ぼす影響を検討した。以前の実験で、この細胞にはFSHレセプターが発現していることを示しているが、今回はこの細胞がレチノイン酸受容体mRNAを発現していることをRT-PCR法を用いて確認している。

レチノイン酸を添加した群では、非添加群と比べて培養液中のプロゲステロンの産生量が増加した。このため、レチノイン酸がプロゲステロン産生に関わる*Star*、*Cyp11a1*、 $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD) の各mRNA発現に及ぼす影響を定量的RT-PCR法を用いて検討し、レチノイン酸は $3\beta$ -HSDのmRNA発現には影響しないが、*Star*、*Cyp11a1*のmRNA発現を増強させ、ステロイド合成の律速段階にある酵素を誘導していることが理解された。一般にこれらの酵素はcAMPで誘導されることが知られているため、cAMP/プロテインキナーゼA系を検討すると、本培養系でレチノイン酸は細胞内cAMPを増加させ、cAMP response-element binding protein (CREB) をリン酸化させることが示された。プロテインキナーゼAの阻害剤であるH-89の共添加によってレチノイン酸による*Star*、*Cyp11a1*のmRNA発現増強効果及びプロゲステロン産生増加効果が打ち消されることから、レチノイン酸はcAMP/プロテインキナーゼA経路を介して顆粒膜細胞のプロゲステロン産生を増強するものと考えられた。

本研究では、レチノイン酸が未熟顆粒膜細胞におけるプロゲステロン産生に及ぼす効果とそのメカニズムを明らかにし、卵巣機能修飾因子としてのレチノイン酸の新たな意義を提供したと認

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29年1月5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） 生体構造学分野担任	松崎 利行	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