

Abstract of Thesis/Dissertation

Applicant

Doctoral Program of Animal Science and Agriculture

Graduate School of Animal and Veterinary Sciences and Agriculture

Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

Student ID: 20180006Name of Applicant: MUKANGWA MEMORY

Signature of Applicant: _____

Title : Glucocorticoid production and action in bovine luteinized granulosa cells
(ウシ黄体化顆粒膜細胞における糖質コルチコイド産生と作用)

Abstract

黄体化顆粒層細胞 (LGC) において progesterone (P4) と cortisol, および黄体化の指標である pentraxin 3 (PTX3), regulator of G protein signaling 2 (RGS2) と vanin 2 (VNN2) の発現はともに上昇するが, それらの関係性についてはよく分かっていない。そこで本研究では P4 と cortisol が互いの生産に及ぼす影響と, これらのステロイドが上記の遺伝子発現に与える影響をウシ LGC の培養系を用いて調べた。Chapter 3 ではウシ顆粒層細胞の黄体化に伴う機能的, 形態的变化と cortisol 生産機序について調べた。直径 2-5 mm の卵胞から吸引採取した顆粒層細胞を 10%ウシ胎児血清を含む DMEM/F-12 培養液で 14 日まで培養した。P4 生産とそれに関与する steroidogenic acute regulatory protein (STAR), cholesterol side-chain cleavage enzyme (CYP11A1), および 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (HSD3B1) の発現は培養開始後 10 日まで増加し, その後高いレベルで推移した。P4 から cortisol への変換を仲介する 2つの酵素のうち 21-hydroxylase (CYP21A2) の発現は低く, 4 日以降にさらに低下した。Cortisol 生産の最終段階を担う 11 β -hydroxylase (CYP11B1) の発現は認められなかった。

また培養期間中に高い P4 の生産が認められたにも関わらず、P4 からの cortisol 生産は認められなかった。一方で cortisone から cortisol への変換を仲介する 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (*HSD11B1*) の発現は2日目に顕著に増加した後、8日目にかけて減少し、その後はほぼ一定に保たれた。Cortisol 生産は *HSD11B1* の基質である cortisone を培地中に加えた時のみに認められた。LGC で副腎皮質において cortisol 合成を刺激する主要な因子である ACTH と angiotensin II (Ang II) の受容体の発現が認められたことから、これらの因子が LGC の cortisol 生産に与える影響を6日目の LGC を用いて調べた。ACTH、もしくは Ang II による 24 時間の処置は LGC の P4 生産を抑制したが、cortisol 生産に関与する *CYP21A2*, *CYP11B1*, *HSD11B1* のいずれの発現にも影響を与えなかった。Chapter 4 では P4 が cortisol の生産および黄体化関連因子発現に与える影響を調べた。6日目、もしくは12日目の LGC を trilostane (P4 合成阻害剤), norgestrol acetate (NA, 合成プロジェスタージェン), もしくは P4 の存在下で 24 時間培養した。Trilostane により P4 生産が阻害された結果 *HSD11B1*, *HSD3B1*, *PTX3*, *RGS2*, および *VNN2* の発現と cortisol の生産の増加が認められた一方、*STAR* 発現の低下が認められた。NA もしくは P4 の同時添加は容量依存的に trilostane の効果を低減させ、*HSD11B1*, *HSD3B1*, *PTX3*, *RGS2*, および *VNN2* の発現と cortisol の生産を低下させ、*STAR* と *HSD11B2* の発現を増加させた。Chapter 5 では cortisol が P4 の生産および黄体化関連因子発現に与える影響を調べた。cortisol は容量依存的に *HSD11B1*, *HSD3B1*, *PTX3*, *RGS2*, および *VNN2* の発現を増加させ、*STAR* と *HSD11B2* の発現を低下させたが、P4 合成には影響を与えなかった。以上のことから、1) ウシ LGC は局所で生産される P4 を基質とした cortisol 生産は行えないが、副腎皮質由来の cortisone を基質とした *HSD11B1* による cortisol 生産を行っていること、2) プロジェスタージェンは *HSD11B1* の発現を抑えることで局所的な cortisol の生産を抑制すること、3) プロジェスタージェンと cortisol は *STAR*, *HSD3B1*, *HSD11B1*, *HSD11B2*, *PTX3*, *RGS2*, および *VNN2* の発現を異な

る方向に調節することが明らかになった。このことは黄体化の過程で P4 と cortisol が共に顆粒層細胞で生産され、自己分泌的に黄体機能の調節を行っていることを示唆するものである。

- Notes
1. Fill in the Japanese translation for an English in the ().
 2. Abstract should be between 1,800 and 2,200 characters in Japanese, or be between 1,000 and 1,400 words in English.
 3. Do not include figures and tables.
 4. Abstract can be longer than one page.