



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

絶食及び再給餌時における雌ラット下垂体黄体形成
ホルモン分泌の動態とその変化の機構に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小松, 弘幸 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2318

氏名(本国籍)	小松弘幸 (秋田県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博乙第73号
学位授与年月日	平成15年9月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	絶食及び再給餌時における雌ラット下垂体黄体形成ホルモン分泌の動態とその変化の機構に関する研究
審査委員会	主査 信州大学 教授 小野珠乙 副査 信州大学 教授 濱野光市 副査 静岡大学 教授 森 誠 副査 岐阜大学 教授 伊藤慎一 副査 信州大学 助教授 鏡味 裕

論文の内容の要旨

本論文は雌ラットの LH 分泌に及ぼす絶食及び再給餌の影響及び絶食による LH 分泌抑制に関与する神経伝達物質を検索することにより、低栄養による生殖機能低下の抑制メカニズムの解明とその対処法を研究したものである。本論文の内容は、3報の学術原著論文として公表されている。その内容は次のように要約される。低栄養による生殖機能低下は生存に対する適応であり、給餌に伴い素早く回復する。マウスでは制限給餌を行うことによって、春期発動は遅れるものの寿命及び生殖可能期間が延長する。適度な制限給餌はこの様な利点もあるが、家畜等の産業動物の場合、生殖機能の阻害は妊娠から出産までのサイクル及びその間隔が延長することで経済的損失が容易に増加する。この様な点からもその抑制メカニズムの解明とその対処法を研究することには大きな意義がある。パルス状黄体形成ホルモン (LH) 分泌は生殖機能の良い指標となることが知られている。そこで、本研究は雌ラットの LH 分泌に及ぼす絶食及び再給餌の影響及び絶食による LH 分泌抑制に関与する神経伝達物質の検索を行った。

第一に、48 時間絶食およびそれに引き続く 24 時間の再給餌期間中 LH 分泌動態を卵巣除去—エストロゲン投与雌ラットを用い経時的に観察した。頸静脈カテーテル経由で 10 分ごとに 6 時間連続採血を行った。血中 LH はラジオイムノアッセイで、グルコースはグルコースオキシダーゼ法にてそれぞれ測定した。LH パルスの検出はパルサープログラムで行った。自由給餌群の LH レベルは午後に増加し午前中に低下するという日内変動パターンを示した。

絶食群の LH 濃度はその開始 6~12 時間後から低下が見られ、その後の絶食期間を通じて低値のままであった。再給餌は LH パルス素早く回復させたが、6 時間以降でより高頻度に見られた。再給餌群のパルスは翌朝再び、高頻度で見られたが自由給餌群のそれは低頻度であった。絶食継続群の LH 分泌抑制は 3 日後でわずかに緩和されていた。絶食及び再給餌に関連する消化器官からの情報入力 LH 分泌変化に対する主要因であると思われる。また、その機構に明暗周期が関与することも示唆された。この因子の候補として、明暗周期、LH 分泌および摂食周期調節に関与する物質が考えられた。そこでこれらの要件を満たす神経伝達物質としてヒスタミン (HA) を選択し、次章で絶食による LH 分泌に及ぼす神経性 HA の役割を検討した。

第二に、48 時間絶食または自由給餌動物の LH パルスに及ぼす HA、H1 および H2 受容体拮抗剤 (クロロフェニラミン及びラニチジン) 脳室 (ICV) 内投与の影響を OVX-E₂ ラットを用いて検討した。採血は 3 時間 6 分ごとに行い、HA、H1 および H2 受容体拮抗剤 (1 μ g/ μ l) のいずれか 10 μ l を採血開始の 1 時間後に 60 分かけて ICV 内へ連続投与した。

また、別の OVX-E₂ ラットを用い自由給餌及び絶食群の視床下部中部から後部にかけての HA の分布を免疫組織学的に染色し比較した。HA の ICV 内投与は投与期間中、自由給餌動物の平均 LH 濃度を有意に抑制した。絶食群における HA 投与の影響ははっきりとしなかった。絶食群への H1 および H2 受容体の拮抗剤投与は自由給餌ラットで見られるような LH パルスパターンに回復させなかった。自由給餌群の平均 LH 濃度、パルス頻度及びパルス振幅のいずれもが H1 及び H2 受容体拮抗剤投与の影響を受けなかった。更に、絶食によって視床下部中部から後部にかけてのいずれの部位においても HA 陽性顆粒およびその分布に明らかな変化は見られなかった。これらの結果は HA が絶食及び自由給餌ラットのパルス状 LH 分泌に関与しないことを示す。絶食による LH 分泌抑制を引き起こすための予想されるシグナルとしては胃の飢餓収縮、光周期や摂食周期に伴う内因性 LH 分泌リズムの変化が考えられる。現時点でこの抑制シグナル全体像をはっきり示すことはできないが、胃の飢餓収縮が末梢からの合図となり LH 分泌抑制を引き起こし、光周期に伴う正常摂食周期の乱れがこの抑制を増強するように働くと考えられる。絶食 48 時間後の LH 分泌抑制解除シグナルとしては再給餌、胃壁拡張により迷走神経を上行するインパルス、血糖値の上昇などが挙げられる。第 1 の可能性として再給餌に伴う胃壁の伸展刺激が迷走神経を介して LH パルスの回復シグナルとして脳内への入力される経路、第 2 の可能性として吸収されたグルコースが血中を通り延髄に存在するグルコースセンサーを介して脳内に入力される経路が考えられるが、どちらが優先されるかは現時点では不明である。これらのシグナルが脳内に入力され、結果として LH 分泌を抑制する。また、HA はこの神経回路に関与しないと思われる。

栄養障害による生殖機能抑制機構を解明は畜産学だけでなく健康科学、栄養学、基礎生物学、医学薬学等においても必須と思われる。本研究による新知見は、今後の研究に不可欠な基盤となるはずである。

審 査 結 果 の 要 旨

平成 15 年 5 月 27 日 (火) に信州大学農学部において審査委員を含む関連教官、学生の出席のもと、小松弘幸氏の博士論文公開発表会が行われ、引き続き質疑応答が行われた。小松弘幸氏の博士論文の概要は以下のように要約される。

雌ラットの LH 分泌に及ぼす絶食及び再給餌の影響及び絶食による LH 分泌抑制に関与する神経伝達物質の検索により、低栄養による生殖機能低下の抑制メカニズムの解明とその対処法を研究した。最初に、48 時間絶食およびそれに引き続く 24 時間の再給餌期間中 LH 分泌動態を卵巣除去—エストロゲン投与雌ラットを用い経時的に観察し、自由給餌群の LH レベルは午後に増加し午前中に低下するという日内変動パターンを明らかにした。絶食群の LH 濃度はその開始 6-12 時間後から低下が見られ、その後の絶食期間を通じて低値のままであり、再給餌は LH パルスを素早く回復させたが、6 時間以降でより高頻度に見られることを示した。

再給餌群のパルスは翌朝再び、高頻度で見られるが自由給餌群のそれは低頻度であること、および、絶食継続群の LH 分泌抑制は 3 日後でわずかに緩和されることを観察した。絶食及び再給餌に関連する消化器官からの情報入力 LH 分泌変化に対する主要因であり、その機構に明暗周期が関与することを示唆した。この因子の候補として、明暗周期、LH 分泌および摂食周期調節に関与する物質を考えた。そこでこれらの要件を満たす神経伝達物質としてヒスタミン (HA) を選択し、絶食による LH 分泌に及ぼす神経性 HA の役割を検討した。すなわち、48 時間絶食または自由給餌 OVX-E₂ ラットを用いて、LH パルスに及ぼす HA、H1 および H2 受容体拮抗剤 (クロロフェニラミン及びラニチジン) 脳室 (ICV) 内投与の影響を検討した。採血は 3 時間 6 分ごとに行い、HA、H1 および H2 受容体拮抗剤 (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) のいずれか 10 μl を採血開始の 1 時間後に 60 分かけて ICV 内へ連続投与した。また、別の OVX-E₂ ラットを用い自由給餌及び絶食群の視床下部中部から後部にかけての HA の分布を免疫組織学的に染色し比較した。HA の ICV 内投与は投与期間中、自由給餌動物の平均 LH 濃度を有意に抑制することを明らかにした。しかし、絶食群への H1 および H2 受容体の拮抗剤投与は自由給餌ラットで見られるような LH パルスパターンに回復させなかったことから、絶食群における HA 投与の影響をはっきりと証明することはできなかった。自由給餌群の平均 LH 濃度、パルス頻度及びパルス振幅のいずれもが H1 及び H2 受容体拮抗剤投与の影響を受けず、更に、絶食によって視床下部中部

から後部にかけてのいずれの部位においても HA 陽性顆粒およびその分布に明らかな変化は観察されなかった。これらの結果から HA が絶食及び自由給餌ラットのパルス状 LH 分泌に関与しないことを本論文で明らかにした。

絶食による LH 分泌抑制を引き起こすための予想されるシグナルとしては胃の飢餓収縮、光周期や摂食周期に伴う内因性 LH 分泌リズムの変化が考えられる。本論文でこの抑制シグナル全体像をはっきり示すことはできないが、胃の飢餓収縮が末梢からの合図となり LH 分泌抑制を引き起こし、光周期に伴う正常摂食周期の乱れがこの抑制を増強するように働くと考えられる。絶食 48 時間後の LH 分泌抑制解除シグナルとしては再給餌、胃壁拡張により迷走神経を上行するインパルス、血糖値の上昇などが挙げられる。第 1 の可能性として再給餌に伴う胃壁の伸展刺激が迷走神経を介して LH パルスの回復シグナルとして脳内への入力される経路、第 2 の可能性として吸収されたグルコースが血中を通り延髄に存在するグルコースセンサーを介して脳内に入力される経路を提案したが、どちらが優先されるかは本論文及び関連研究で得られた結果からは決定することはできない。いずれにしても、これらのシグナルが脳内に入力され、結果として LH 分泌を抑制すると考えられるが、HA はこの神経回路に関与しないことを示唆した。栄養障害による生殖機能抑制機構を解明する上で、本研究で得られた新知見は不可欠な基盤となるはずである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1. Hiroyuki KOMATSU, Aki MIYAMURA, Takashi SHIBANO and Katuaki ÔTA (2000). Chronological Study on Changes in Luteinizing Hormone Release during Fasting and Refeeding in Ovariectomized Estrogen-primed Rats. *Animal Science Journal*. 71(3), 239-249.
2. Hiroyuki KOMATSU, Takashi SHIBANO and Katuaki ÔTA (2000). On the Possibility of Participation of Histamine Neurons in Suppression of Luteinizing Hormone Secretion by Fasting in Rats. *Animal Science Journal*. 71(4), 400-408.
3. Hiroyuki KOMATSU, Katuaki ÔTA and Tamao ONO (2003). Lack of effect of intracerebroventricular infusion of H1 or H2 histamine receptor antagonists on luteinizing hormone secretion in fed or fasted rats. *Mammal Study*. 28, (in press).

既発表学術論文

1. Hiroshi KAGAMI, Jun YASUDA, Takahiro TAGAMI, Mitsuru NAITO, Yuko MATSUBARA, Takashi HARUMI, Takamasa NOGUCHI, Yasuhiro YAMAMOTO, Taikai TAKAHASHI, Junichi MATSUYAMA, Hiroyuki KOMATSU and Tamao ONO (2002). Effect of the strain combination of the donor and recipient on the production efficiency of W-bearing sperm in mixed-sex germline chimeric chickens. *Animal Science Journal*. 73, 453-456.
2. 小松弘幸・植垣馨子・田島玄太郎・小野珠乙・太田克明. (2003). 摂食制限が泌乳ラットの下垂体黄体形成ホルモン含量および体組成に与える影響. *北信越畜産学会* 86, 9-17.
3. 宮村亜紀・小松弘幸・田島玄太郎・小野珠乙・太田克明. (2003). 摂食制限が離乳後の泌乳ラットの黄体形成ホルモン分泌に及ぼす影響. *北信越畜産学会報* 86, 19-25.