

氏名(本国籍)	中山 広之 (愛知県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第564号
学位授与年月日	平成23年3月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	ニワトリの下垂体におけるカルシトニンの内分泌生理学的研究
審査委員会	主査 静岡大学 教授 森 誠 副査 岐阜大学 教授 川島 光夫 副査 岐阜大学 准教授 岩澤 淳

論文の内容の要旨

ニワトリの下垂体前葉と後葉におけるカルシトニンの役割について、内分泌生理学的研究がなされた。

ニワトリにおいて、下垂体前葉から放出されるホルモンの一つである副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) は、副腎に作用して副腎皮質細胞からコルチコステロンの分泌を促進する。コルチコステロンは糖質コルチコイドの一つであり、ニワトリにおいてその作用の一つとして小腸からのカルシウムの吸収を高めることが報告されている。下垂体後葉から放出されるバソトシン (AVT) は放卵時に下垂体後葉から放出され、卵殻腺部の平滑筋を収縮させることで放卵を引き起こすとみなされている。カルシトニンは鳥類においては主に鰓後腺から分泌されるペプチドホルモンで骨からのカルシウムの溶出(骨吸収)を抑制し、腎臓におけるカルシウム排出を促進する。カルシトニンは卵殻腺部においては卵殻形成時に顕著に作用することが報告されており、放卵周期における卵殻形成との関連が考えられている。しかしながら、カルシトニンが放卵に関係して下垂体前葉からの ACTH 放出や下垂体後葉からの AVT 放出に影響を及ぼすかどうかは不明である。そこで本研究では、ニワトリの下垂体におけるカルシトニンの内分泌生理学的役割を明らかにしようとした。

下垂体前葉と後葉にカルシトニン受容体が存在するかどうかを検討するため、産卵鶏の下垂体前葉と後葉の細胞膜画分を調製し、 ^{125}I カルシトニンとの結合実験を行った。その結果、下垂体前葉と後葉の細胞膜画分にはカルシトニンに特異的に結合する物質が存在することが明らかとなった。この物質はカルシトニンに対し結合特異性、結合可逆性、結合飽和性を示し、高い結合親和性と限定的な結合容量を有する物質が存在するものと推察され、ニワトリの下垂体前葉と後葉の細胞膜画分にはカルシトニンの受容体とみなしうる結合物質が存在することを明らかにした。これらのことから、

カルシトニンとはニワトリの下垂体前葉と後葉に直接作用するものと思われる。産卵鶏と休産鶏では、下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合親和性は産卵鶏の方が休産鶏よりも高く、最大結合容量は逆に産卵鶏の方が休産鶏よりも小さいことを明らかにした。したがって、産卵の有無という生理状態の違いにより下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合性は変化するものと推察された。

産卵鶏と休産鶏では卵巣機能の程度が異なり、卵巣から分泌される性ステロイドホルモンの量も異なる。血中の性ステロイドホルモン濃度は産卵鶏の方が休産鶏よりも高く、ニワトリの下垂体前葉にはエストラジオール-17 β 、プロジェステロンおよびテストステロンの受容体が存在し、後葉にはエストラジオール-17 β の受容体が存在することが明らかにされている。これらのことから、産卵鶏において性ステロイドホルモンが下垂体前葉と後葉に作用し、カルシトニン受容体の結合性に影響を及ぼしていることが推察された。そこで、休産鶏にエストラジオール-17 β 、プロジェステロンおよびジヒドロテストステロンを投与した場合の下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合性について検討した。休産鶏にエストラジオール-17 β とプロジェステロンを投与すると下垂体前葉のカルシトニン受容体の結合親和性は上昇し、最大結合容量は低下した。また、エストラジオール-17 β は下垂体後葉のカルシトニン受容体の結合親和性を上昇させ、最大結合容量は低下させた。これらのことから、エストラジオール-17 β は下垂体前葉と後葉においてカルシトニンの作用を高め、プロジェステロンは下垂体前葉においてカルシトニンの作用を高めるものと推察された。

カルシトニンはニワトリの下垂体前葉と後葉に直接作用することが推察されたが、これらの組織におけるカルシトニンの作用意義は明らかではない。そこで、下垂体前葉のACTH分泌に及ぼすカルシトニンの効果について検討した。カルシトニンを単独で培養液に加えた場合は培養液中のACTH量はほとんど増加しなかった。副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)とともにカルシトニンを加えた場合はCRHのみを加えた場合と比べ、ACTH分泌量に対するCRHの50%有効量は有意な差が認められなかったが、ACTH分泌の最大量は増加した。これらのことから、カルシトニンは下垂体前葉に直接作用し、CRHによるACTH分泌能を増大させるものと思われた。休産鶏にカルシトニンを投与すると、血中AVT濃度は増加した。このとき下垂体後葉のカルシトニン受容体の結合親和性は上昇し、最大結合容量は減少した。このことから、カルシトニンは下垂体後葉に直接作用し、AVT放出を促す効果があるものと推察された。

ニワトリの放卵周期のいずれの時期にカルシトニンが下垂体前葉と後葉に顕著に作用するかを明らかにするために、放卵前のいろいろな時期に下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合性について検討した。その結果、下垂体前葉のカルシトニン受容体は放卵の3時間前に結合親和性が上昇し、最大結合容量は逆に減少した。下垂体後葉のカルシトニン受容体の結合親和性は放卵前30分に上昇し、最大結合容量は放卵直前に減少した。このことから、カルシトニンは下垂体前葉において放卵前3時間、後葉において放卵直前に顕著に作用するものと推察された。

以上本研究の結果から、下垂体前葉では卵殻形成終了時の放卵3時間前にカルシトニン受容体の結合親和性が高まり、カルシトニンは下垂体前葉に顕著に作用する。下垂体前葉におけるカルシトニンの作用はCRHによるACTH分泌を増大させ、その結果、血中のコルチコステロン濃度は増加し、コルチコステロンは卵殻形成時に減少した血中カルシウムイオンを回復させるのに関与していると考えられた。卵殻形成が終了し放卵直前には、カルシトニンは下垂体後葉にも作用して放卵誘起するAVTの放出を刺激する。さらにエストラジオール-17 β は下垂体前葉と後葉において、またプロジェステロンは下垂体前葉においてカルシトニンの作用を高めるのではないかと考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

ニワトリにおいて、下垂体前葉から放出されるホルモンの一つである副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) は副腎に作用して副腎皮質細胞からのコルチコステロンの分泌を促す。コルチコステロンは糖質コルチコイドの一つであり、ニワトリにおいてその作用の一つとして小腸からのカルシウムの吸収を高めることが報告されている。下垂体後葉から放出されるバソトシンは放卵時に下垂体後葉から放出され、卵殻腺部の平滑筋を収縮させることで放卵を引き起こすとされている。カルシトニンは鳥類においては主に鰓後腺から分泌されるペプチドホルモンで骨からのカルシウムの溶出を抑制し、腎臓におけるカルシウム排出を促進する。カルシトニンは卵殻腺部においては卵殻形成時に顕著に作用していることが報告されており、放卵周期における卵殻形成との関連が考えられている。しかしながら、カルシトニンが放卵に関係して下垂体前葉からの副腎皮質刺激ホルモン放出や下垂体後葉からのバソトシン放出に影響を及ぼすかどうかは不明である。

そこで本博士論文は、下垂体前葉と後葉にカルシトニン受容体が存在するかどうかを検討するため、産卵鶏の下垂体前葉と後葉の細胞膜画分を調製し、 $[^{125}\text{I}]$ カルシトニンとの結合実験を行った。その結果、下垂体前葉と後葉の細胞膜画分にはカルシトニンの受容体とみなしうる結合物質が存在することが明らかとなった。産卵鶏と休産鶏では、下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合親和性は産卵鶏の方が休産鶏よりも高く、最大結合容量は逆に産卵鶏の方が休産鶏よりも小さいことが明らかとなった。したがって、産卵の有無という生理状態の違いにより下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合性は変化するものと推察された。

産卵鶏と休産鶏では、卵巣機能の程度が異なっており、卵巣から分泌される性ステロイドホルモンの量も異なっている。そこで、休産鶏にエストラジオール- 17β とプロジェステロンを投与すると、下垂体前葉のカルシトニン受容体の結合親和性は上昇し、最大結合容量は低下した。また、エストラジオール- 17β は下垂体後葉のカルシトニン受容体の結合親和性を上昇させ、最大結合容量は低下させた。これらのことから、エストラジオール- 17β は下垂体前葉と後葉においてカルシトニンの作用を高め、プロジェステロンは下垂体前葉においてカルシトニンの作用を高めるものと推察された。

下垂体前葉の ACTH 分泌に及ぼすカルシトニンの効果について検討した。カルシトニンを単独で培養液に加えた場合は培養液中の ACTH 量はほとんど増加しなかった。副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) とともにカルシトニンを加えた場合は、ACTH 分泌の最大量は増加した。これらのことから、カルシトニンは下垂体前葉に直接作用し、CRH による ACTH 分泌能を増大させるものと思われた。休産鶏にカルシトニンを投与すると、血中バソトシン濃度は増加した。このとき下垂体後葉のカルシトニン受容体の結合親和性は上昇し、最大結合容量は減少した。このことから、カルシトニンは下垂体後葉に直接作用しバソトシン放出を促す効果があるものと推察された。

放卵周期のいずれの時期にカルシトニンが下垂体前葉と後葉に顕著に作用するかを明らかにするために、放卵前のいろいろな時期に下垂体前葉と後葉のカルシトニン受容体の結合性について検討した。その結果、カルシトニンは下垂体前葉において放卵前3時間、後葉において放卵直前に顕著に作用するものと推察された。

学術論文や本論文を通して中山広之は、カルシウム代謝に関わるホルモンの一つであるカルシトニンが卵殻形成終了時に下垂体前葉において CRH による ACTH 分泌を高め、放卵時に下垂体後葉においてバソトシン分泌を促進することにより、カルシトニンが卵殻形成終了と放卵とをつなぐ役割をしていることを示唆した。このように、本博士論文は鳥類のみならず哺乳類のカルシウム代謝ホルモンの一つであるカルシトニンの内分泌学や繁殖生理学に貢献する基礎研究として高く評価されている。

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があるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文は以下の通りである。

- Calcitonin receptor binding in the hen neurohypophysis before and after oviposition. *Poult. Sci.* 2010, 89: 1473-1480, H. Nakayama, K. Nakagawa-Mizuyachi, T. Takahashi, and M. Kawashima.
- Effect of calcitonin on adrenocorticotrophic hormone secretion stimulated by corticotropin-releasing hormone in the hen anterior pituitary. *Anim. Sci. J.* In press, H. Nakayama, T. Takahashi, K. Nakagawa-Mizuyachi, and M. Kawashima.
- Calcitonin receptor binding in the hen anterior pituitary during an oviposition cycle. *Anim. Sci. J.* In press, H. Nakayama, T. Takahashi, K. Nakagawa-Mizuyachi, and M. Kawashima.