

氏名（本籍）	南保泰雄（東京都）
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博乙第31号
学位授与年月日	平成11年9月21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	インヒビンによる雌ウマの卵胞刺激ホルモン分泌 および卵胞発育調節機構に関する研究
審査委員	主査 東京農工大学 教授 田谷一善 副査 帯広畜産大学 教授 佐藤邦忠 副査 岩手大学 教授 三宅陽一 副査 東京農工大学 教授 金田義宏 副査 岐阜大学 教授 鈴木義孝

論文の内容の要旨

ウマは、典型的な長日性季節繁殖動物である。雌ウマは、繁殖期に卵巢で卵胞が発育し、約22日周期で排卵を繰り返す。ウマ生産現場では、繁殖雌ウマの卵巢内での卵胞発育状態を直腸検査や超音波画像診断装置を用いて検査し、交配適期を判定して雄馬との交配を行っているが、卵胞発育障害や原因不明の不受胎がしばしば発生し、ウマの生産率低下の原因となっている。しかし、このような雌ウマの卵胞発育機構に関する基礎的な知見は乏しく、未だ不明な部分が多い。本研究は、他の哺乳類とは異なるウマ特有の繁殖生理学的現象の中で未だ未解明な部分の多い雌ウマの卵胞発育調節機構について内分泌学的解析を行ったものである。

1. 妊娠後半期における母体卵巢機能と胎子性腺機能

妊娠後半期から泌乳初期における母体の卵巢での卵胞発育を調べる目的で、血中インヒビン濃度を測定した結果、ウマの妊娠後半期に母体血中インヒビン濃度が上昇する事実を明らかにした。しかし、妊娠後半期の母体卵巢では、大型卵胞の発育が認められないことから、母体血中に上昇するインヒビンの分泌源について検索した結果、1) 母体卵巢中のインヒビン含有量は極めて低値であること、2) 胎盤抽出液中には、インヒビンが検出されないこと、3) 胎子性腺抽出液中および血中に多量のインヒビンが検出されること、ならびに、4) 胎子精巣と卵巢の間質細胞には、インヒビン α 鎖の局在が認められることなどの事実から、胎子性腺がインヒビンの主要な分泌源であることを明らかにした。

2. 分娩前後および分娩後排卵に至るまでの卵巢機能

雌ウマの繁殖特性の一つとして、分娩後2週間以内に発情し、排卵（分娩後発情・排卵）することから、雄ウマと交配して受胎することが可能である。この分娩後排卵は、ウマ生産にとって極めて重要であるが、分娩後の急速な卵胞発育については、未

だ未解明な部分が多い。本研究の結果から、分娩後排卵のための卵胞発育は分娩前後の母体卵巣中で開始すること、ならびに、卵胞発育に伴って血中インヒビン濃度の上昇が認められる事実を明らかにした。分娩時期には、胎子性腺からのインヒビン分泌は低下していることから、妊娠末期および周産期において、血中インヒビン濃度を測定することにより、卵胞発育のモニターが可能である事実を明らかにした。すなわち、本法を用いることにより、これまで困難とされてきた妊娠末期から周産期における卵胞発育のモニターが可能であることを明らかにしたものである。以上の結果から、今後、ウマ生産現場において、周産期の母体血中インヒビン濃度の測定が、卵胞発育のモニター法として有用な手段となりうるものと推察された。

3. FSH 分泌抑制による分娩後排卵日の調節法

ウマでは、分娩後早期にインヒビン活性物質（ステロイド除去卵胞液（SF-eFF））を静脈内に連続5日間投与すると、分娩後排卵に至る卵胞の発育が抑制され、排卵日がインヒビン活性物質投与量に依存して遅延する事実を明らかにした。インヒビン活性物質連続投与期間中には、血中 FSH 濃度は基底レベルに抑制されるが、投与終了後血中 FSH 濃度の急激な上昇が起こり、これを受けた卵巣では、速やかに卵胞が発育して排卵することから、ウマの分娩後排卵時においても インヒビンが FSH 分泌調節を介した卵胞発育の調節に重要な役割を演じていることが判明した。以上の結果から、本法を応用することにより、分娩後排卵日の人為調節が可能であろうと推察された。

4. インヒビンの受動免疫中和による過剰排卵誘起法

雌ウマでは、他の家畜と異なり通常の外因性ホルモンの投与による方法では、過剰排卵の誘起が極めて困難であることが知られている。本研究では、雌ウマでの発情前期にインヒビンの受動免疫法により内因性インヒビンの作用を中和した結果、FSH 分泌の亢進が認められ、次いで多数の卵胞発育が誘発され、最終的に過剰排卵が誘起される事実を明らかにした。これらの結果は、雌ウマにおいても、内因性インヒビンを免疫学的に中和することにより、最高6個にも及ぶ過剰排卵を誘起できる事実を初めて明らかにしたものである。本研究の結果から、内因性インヒビン活性中和法は、未だウマでは確立されていない過剰排卵誘起法となり得る可能性を示したものである。

以上の研究成果は、他の哺乳類とは異なる繁殖特性を有する雌ウマの卵巣機能について、従来から卵胞発育の指標として用いられてきたステロイドホルモンに、新しい卵巣ホルモンであるインヒビンを加えて考察したものである。その中でも、ウマの繁殖生理学上、最も特徴的な現象である分娩後排卵における卵胞発育について、妊娠後半期から、周産期における内分泌学的機構を明らかにしたものである。本研究による成果は、これまで不明の点が多かった雌ウマの卵胞発育機構について、内分泌学的に解明すると共に、哺乳類の卵巣機能について総合的に理解する上での貴重な知見を提供するものである。さらに、本研究により得られた成果は、近い将来ウマ生産現場において応用される可能性の高い内容である。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、哺乳類の中で多くの繁殖学的特色を有し、しかも未解明の現象の多い雌ウマの卵巣機能調節機構を解明することを目的として、実験内分泌学的検討を行ったものである。研究に際しては、ウマ生産上最も重要な現象の一つである分娩後排卵時における卵胞発育調節機構について詳細な基礎的および応用的検討を行ったものである。

1. 妊娠後半期における母体卵巣機能と胎子性腺機能

妊娠後半期から泌乳初期における母体の卵巣での卵胞発育を調べる目的で、血中インヒビン濃度を測定した結果、ウマの妊娠後半期に母体血中インヒビン濃度が上昇する事実を明らかにした。しかし、妊娠後半期の母体卵巣では、大型卵胞の発育が認められないことから、母体血中に上昇するインヒビンの分泌源について検索した結果、1) 母体卵巣中のインヒビン含有量は極めて低値であること、2) 胎盤抽出液中には、インヒビンが検出されないこと、3) 胎子性腺抽出液中および血中に多量のインヒビンが検出されること、ならびに、4) 胎子精巣と卵巣の間質細胞には、インヒビン α 鎖の局在が認められることなどの事実から、胎子性腺がインヒビンの主要な分泌源であることを明らかにした。

2. 分娩前後および分娩後排卵に至るまでの卵巣機能

雌ウマの繁殖特性の一つとして、分娩後2週間以内に発情し、排卵（分娩後発情・排卵）することから、雄ウマと交配して受胎することが可能である。この分娩後排卵は、ウマ生産にとって極めて重要であるが、分娩後の急速な卵胞発育については、未だ未解明な部分が多い。本研究の結果から、分娩後排卵のための卵胞発育は分娩前後の母体卵巣中で開始すること、ならびに、卵胞発育に伴って血中インヒビン濃度の上昇が認められる事実を明らかにした。分娩時期には、胎子性腺からのインヒビン分泌は低下していることから、妊娠末期および周産期において、血中インヒビン濃度を測定することにより、卵胞発育のモニターが可能である事実を明らかにした。すなわち、本法を用いることにより、これまで困難とされてきた妊娠末期から周産期における卵胞発育のモニターが可能であることを明らかにしたものである。以上の結果から、今後、ウマ生産現場において、周産期の母体血中インヒビン濃度の測定が、卵胞発育のモニター法として有用な手段となり得るものと推察された。

3. FSH 分泌抑制による分娩後排卵日の調節法

ウマでは、分娩後早期にインヒビン活性物質（ステロイド除去卵胞液（SF-eFF））を静脈内に連続5日間投与すると、分娩後排卵に至る卵胞の発育が抑制され、排卵日がインヒビン活性物質投与量に依存して遅延する事実を明らかにした。インヒビン活性物質連続投与期間中には、血中FSH濃度は基底レベルに抑制されるが、投与終了後血中FSH濃度の急激な上昇が起これ、これを受けた卵巣では、速やかに卵胞が発育して排卵することから、ウマの分娩後排卵時においてもインヒビンがFSH分泌調節を介した卵胞発育の調節に重要な役割を演じていることが判明した。以上の結果から、本法を応用することにより、分娩後排卵日の人為的調節が可能であろうと推察された。

4. インヒビンの受動免疫中和による過剰排卵誘起法

雌ウマでは、他の家畜と異なり通常の外因性ホルモンの投与による方法では、過剰排卵の誘起が極めて困難であることが知られている。本研究では、雌ウマの発情前期にインヒビンの受動免疫法により内因性インヒビンの作用を中和した結果、FSH分泌の亢進が認められ、次いで多数の卵胞発育が誘発され、最終的に過剰排卵が誘起される事実を明らかにした。これらの結果は、雌ウマにおいても、内因性インヒビンを免疫学的に中和することにより、最

高6個にも及ぶ過剰排卵を誘起できる事実を初めて明らかにしたものである。本研究の結果から、内因性インヒビン活性中和法は、未だウマでは確立されていない過剰排卵誘起法となり得る可能性を示したものである。

以上の研究成果から、分娩後排卵に至る卵胞発育は、周産期からすでに開始している事実が判明した。また、分娩後排卵日の人為的調節法として、インヒビンを用いた内因性FSH分泌抑制法応用の可能性を明らかにした。さらに、これまで人為的な過剰排卵誘起が困難とされていた雌ウマの内因性インヒビンを中和することにより過剰排卵誘起が可能ある事実を明らかにした。

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獣医学研究科の学位論文として十分価値のある内容であるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) Nambo, Y., Nagata, S., Oikawa, M., Yoshihara, T., Tsunoda, N., Kohsaka, T., Taniyama, H., Watanabe, G. and Taya, K. High concentrations of immunoreactive inhibin in the plasma of mares and fetal gonads during the second half of pregnancy. *Reproduction, Fertility and Development*. 8, 1137-1145, 1996.
- 2) Nambo, Y., Kaneko, H., Nagata, S., Oikawa, M., Yoshihara, T., Nagamine, N., Watanabe, G. and Taya, K. Effect of passive immunization against inhibin on FSH secretion, folliculogenesis and ovulation rate during the follicular phase of the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. 50, 545-557, 1998.

既発表学術論文

- 1) Nambo, Y., Oikawa, M., Yoshihara, T., Kuwano, A. and Katayama, Y. Age-related morphometrical changes of arteries of uterine wall in mares. *Journal of Veterinary Medicine. Series A*. 42, 383-387, 1995.
- 2) Nambo, Y., Oikawa, M., Yoshihara, T., Kuwano, A., Hobo, S., Nagata, S., Watanabe, G. and Taya, K. Effects of transport stress on concentrations of LH and FSH in plasma of mares: A preliminary study. *Journal of Equine Science*. 7, 1-5, 1996.
- 3) 永田俊一・近藤昌弘・金子浩之・荒木一司・南保泰雄・及川正明・渡辺元・田谷一善 アセトニトリル・n-ヘキサン分配法を用いた低濃度の血中エストラジオール-17 β 測定のための簡便な脱脂法 *Journal of Reproduction and Development*. 42, j43-j49, 1996.
- 4) 小形芳美・高橋浩吉・阿部浩之・三澤隆・加藤敏英・酒井淳一・大崎和栄・南保泰雄・中田健・中尾敏彦 黒毛和種牛の妊娠末期における血清中胎盤系ステロイド濃度と出生子牛の体重および活力 *Journal of Reproduction and Development*. 42, j85-j89, 1996.

- 5) 角田修男・町田登・永田俊一・長嶺夏子・南保泰雄・及川正明・谷山弘行・渡辺元・田谷一善 ウマの胎子性腺における間質細胞の形態計測 *Journal of Reproduction and Development*. 42, j91 - j95, 1996.
- 6) Okada, T., Yuguchi, K., Kiso, Y., Morikawa, Y., Nambo, Y., Oikawa, M. and Sasaki, F. A case of a pony with Cushing's disease. *Journal of Veterinary Medical Science*. 59, 707-710, 1997.
- 7) Okada, T., Shimomuro, T., Oikawa, M., Nambo, Y., Kiso, Y., Morikawa, Y., Liptrap, R. M., Yamashiro, S., Little, P. B. and Sasaki, F. Immunocytochemical localization of adrenocorticotrophic hormone-immunoreactive cells of the pars intermedia in Thoroughbreds. *American Journal of Veterinary Research*. 58, 920-924, 1997.
- 8) Tan, J. H., Nambo, Y., Oikawa, M., Kiso, Y. and Sasaki, F. Immunocytochemical differences in adenohipophyseal cells among adult Mongolian pony mares, stallion, and geldings. *American Journal of Veterinary Research*. 59, 262-266, 1998.
- 9) Nagata, S., Miyake, Y-I., Nambo, Y., Nagamine, N., Watanabe, G., Tsunoda, N., Taniyama, H., Hondo, E., Yamada, J. and Taya, K. Inhibin secretion in the stallion. *Equine Veterinary Journal*. 30, 98-103, 1998.
- 10) Nagata, S., Tsunoda, N., Nagamine, N., Tanaka, Y., Taniyama, H., Nambo, Y., Watanabe, G. and Taya, K. Testicular inhibin in the stallion: Cellular source and seasonal changes in its secretion. *Biology of Reproduction*. 59, 62-68, 1998.
- 11) Nagamine, N., Nambo, Y., Nagata, S., Nagaoka, K., Tsunoda, N., Taniyama, H., Tanaka, Y., Tohei, A., Watanabe, G. and Taya, K. Inhibin secretion in the mare: Localization of inhibin α , β_A and β_B subunits in the ovary. *Biology of Reproduction*. 59, 1392-1398, 1998.
- 12) Hondo, E., Murabayashi, H., Hoshiba, H., Kitamura, N., Yamanouchi, K., Nambo, Y., Kobayashi, T., Kurohmaru, M. and Yamada, J. Morphological studies on testicular development in the horse. *Journal of Reproduction and Development*. 44, 377-383, 1998.
- 13) Nagata, S., Kurosawa, M., Mima, K., Nambo, Y., Fujii, Y., Watanabe, G. and Taya, K. Effects of anabolic steroid (19-nortestosterone) on the secretion of testicular hormones in the stallion. *Journal of Reproduction and Fertility*. 115, 373-379, 1999.