

氏 名 (本籍)	永 田 俊 一 (福 岡 県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博乙第21号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年3月13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	成熟雄ウマのインヒビン及び性ステロイドホルモン 分泌機構とアナボリックステロイド投与による生殖 機能の変化に関する研究
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 山 田 純 三 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

本研究は、雄ウマの精巣ホルモンの分泌調節機構の解明とアナボリックステロイドが生殖機能に及ぼす影響を内分泌学的に解明したものである。

1. アセトリル・n-ヘキサン 分配脱脂法を用いた血中エストラジオール定量法の開発

低濃度の血中エストラジオール- 17β 濃度を、測定するための血液の脱脂法を検討し、アセトリルを用いてn-ヘキサンと分配することにより、迅速で回収率の高い脱脂方法を確立した。本研究で開発した脱脂法を用いることにより、短時間で血清（血漿）から抗原抗体反応抑制物質を除去することが可能である。

2. 雄ウマのインヒビン分泌

インヒビンのラジオイムノアッセイと免疫組織化学的手法を用いて、成熟雄ウマの精巣内におけるインヒビン発現部位を明らかにすることを目的とした研究を行った。その結果、雄ウマ精巣中には、生物活性を有するインヒビンが存在することが判明した。さらに、末梢血中インヒビンの主な分泌源は精巣のセルトリ細胞およびライデッヒ細胞であることを初めて明らかにした。

3. 雄ウマの精巣ホルモンおよび性腺刺激ホルモン濃度の季節変動とヒト絨毛性

性腺刺激ホルモン (hCG) 負荷による変化

雄ウマにおけるインヒビンの分泌調節機構と他の精巣ホルモン及び性腺刺激ホルモンとの関係を調べる目的で、種雄馬を用いて、血中インヒビン、テストステロン、エストラジオール- 17β 、卵胞刺激ホルモン (FSH) および黄体形成ホルモン (LH) 濃度の季節変動及びhCG投与による変化を詳しく調査し、各ホルモンの濃度変化の関係を明らかにした。その結

果、インヒピンは、他のホルモン同様、繁殖期に高く非繁殖期に低下する明らかな季節変動を示すことが判明した。また、インヒピンは、LHの刺激により分泌が促進されることが明らかとなった。

4. ガスクロマトグラフ質量分析法を用いた雄ウマ精巣エストロジェンの定性分析

本研究では、雄ウマの精巣に存在するエストロジェンの種類を同定するために、高感度で特異性が高く定性分析が可能なガスクロマトグラフ質量分析法を用いて、雄ウマの精巣抽出液に含まれるエストロジェンの解析を行った。その結果、雄ウマ精巣内の主なエストロジェンは、エストラジオール- 17β (E2) およびエストロン (E1) で、他のエストロジェンは検出されなかった。精巣内のE2/E1比率の平均は、1.0以上で、全体的にE2が多く検出された。これらの結果から、雄ウマの精巣で合成され、生殖機構に最も生理学的な意義を有するエストロジェンは、E2であることが判明した。

5. アナボリックステロイド投与が馬の繁殖能力に及ぼす影響

人の運動選手や競走馬のドーピング薬物として問題になっているアナボリックステロイド剤がウマの繁殖能力に及ぼす影響を検討した。代表的なアナボリックステロイド剤であるデカン酸ナンドロロンを長期間連続投与（3ヶ月間）することにより、去勢馬と雌馬において顕著な雄性行動が発現した。血中LH濃度は、すべての実験馬で著しく低下したが、FSH濃度は、雄と雌ウマでは、大きな変化は認められなかった。雌の血中インヒピンおよびプロジェステロン濃度、雄の血中インヒピンおよびテストステロン濃度は、すべての個体で著しく低下した。投与馬の精巣は、同年齢馬の約1/2の重量であった。これらの精巣組織の精細管内には、発達した精細胞および精子形成像は見られず、セルトリ細胞と未発達な精細胞のみが存在した。また、精細管周囲のライデッヒ細胞のほとんどが消失していた。免疫染色の結果、インヒピン α 鎖は、セルトリ細胞内に局在が認められたが、ステロイド合成酵素の局在は認められなかった。以上の結果からアナボリックステロイド剤を長期間に渡り使用した場合には、下垂体からのLH分泌が抑制されることにより、性腺の内分泌機能が低下して、繁殖機能に障害が生じることが判明した。

本研究の成果は、雄ウマの生殖生理学の一端を解明したものであり、哺乳類の生殖生理学の中で大きな位置を占める季節繁殖動物の雄の性腺機能の調節機構に新しい知見を加える極めて重要な内容である。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、雄ウマの精巣ホルモンの分泌調節機構の解明とアナボリックステロイドが生殖機能に及ぼす影響を内分泌学的に解明したものである。

1. アセトニトリル・n-ヘキサン 分配脱脂法を用いた血中エストラジオール定量法の開発

低濃度の血中エストラジオール- 17β 濃度を、測定するための血液の脱脂法を検討し、アセトニトリルを用いてn-ヘキサンと分配することにより、迅速で回収率の高い脱脂方法を確立した。本研究で開発した脱脂方法を用いることにより、短時間で血清（血漿）から抗原抗体反応抑制物質を除去することが可能である。

2. 雄ウマのインヒビン分泌

インヒビンのラジオイムノアッセイと免疫組織化学的手法を用いて、成熟雄ウマの精巣内におけるインヒビン発現部位を明らかにすることを目的とした研究を行った。その結果、雄ウマ精巣中には、生物活性を有するインヒビンが存在することが判明した。さらに、末梢血中インヒビンの主な分泌源は精巣のセルトリ細胞およびライデッヒ細胞であることを初めて明らかにした。

3. 雄ウマの精巣ホルモンおよび性腺刺激ホルモン濃度の季節変動とヒト絨毛

性性腺刺激ホルモン (hCG) 負荷による変化

雄ウマにおけるインヒビンの分泌調節機構と他の精巣ホルモン及び性腺刺激ホルモンとの関係を調べる目的で、種雄馬を用いて、血中インヒビン、テストステロン、エストラジオール- 17β 、卵胞刺激ホルモン (FSH) および黄体形成ホルモン (LH) 濃度の季節変動及びhCG投与による変化を詳しく調査し、各ホルモンの濃度変化の関係を明らかにした。その結果、インヒビンは、他のホルモン同様、繁殖期に高く非繁殖期に低下する明確な季節変動を示すことが判明した。また、インヒビンは、LHの刺激により分泌が促進されることが明らかとなった。

4. ガスクロマトグラフ質量分析法を用いた雄ウマ精巣エストロジェンの定性分析

本研究では、雄ウマの精巣に存在するエストロジェンの種類を同定するために、高感度で特異性が高く定性分析が可能なガスクロマトグラフ質量分析法を用いて、雄ウマの精巣抽出液に含まれるエストロジェンの解析を行った。その結果、雄ウマ精巣内の主なエストロジェンは、エストラジオール- 17β (E2) およびエストロン (E1) で、他のエストロジェンは検出されなかった。精巣内のE2/E1比率の平均は、1.0以上で、全体的にE2が多く検出された。これらの結果から、雄ウマの精巣で合成され、生殖機構に最も生理学的な意義を有するエストロジェンは、E2であることが判明した。

5. アナボリックステロイド投与が馬の繁殖能力に及ぼす影響

人の運動選手や競走馬のドーピング薬物として問題になっているアナボリックステロイド剤がウマの繁殖能力に及ぼす影響を検討した。代表的なアナボリックステロイド剤であるデカン酸ナンドロロンを長期間連続投与 (3ヶ月間) することにより、去勢馬と雌馬において顕著な雄性行動が発現した。血中LH濃度は、すべての実験馬で著しく低下したが、FSH濃度は、雄と雌ウマでは、大きな変化は認められなかった。雌の血中インヒビンおよびプロジェステロン濃度、雄の血中インヒビンおよびテストステロン濃度は、すべての個体で著しく低下した。投与馬の精巣は、同年齢馬の約1/2の重量であった。これらの精巣組織の精細管内には、発達した精細胞および精子形成像は見られず、セルトリ細胞と未発達な精細胞のみが存在した。また、精細管周囲のライデッヒ細胞のほとんどが消失していた。免疫染色の結果、インヒビン α 鎖は、セルトリ細胞内に局在が認められたが、ステロイド合成酵素の局在は認められなかった。以上の結果からアナボリックステロイド剤を長期間に渡り使用した場合には、下垂体からのLH分泌が抑制されることにより、性腺の内分泌機能が低下して、繁殖機能に障害が生じることが判明した。

本研究の成果は、雄ウマの生殖生理学の一端を解明したものであり、哺乳類の生殖生理学の中で大きな位置を占める季節繁殖動物の雄の性腺機能の調節機構に新しい知見を加え

る極めて重要な内容である。

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獣医学研究科の学位論文として十分に価値あるものと認めた。