

氏名（本籍）	岸久司（和歌山県）
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第21号
学位授与年月日	平成8年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	成熟雌ハムスターの性腺刺激ホルモン分泌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 豊田裕 副査 岩手大学 助教授 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

哺乳類の卵巢機能は、下垂体前葉から分泌される2つの性腺刺激ホルモンである、卵胞刺激ホルモン（FSH）と黄体形成ホルモン（LH）、によって調節されている。卵巢では、FSH と LH の協同作用によって卵胞が発育し、発育した卵胞からは、エストラジオール（E2）、インヒビン（INH）が分泌され、それらのフィードバック作用によって LH と FSH の分泌が調節されている。また、E2は、視床下部・下垂体前葉に作用して、LH と FSH の大量放出（サージ）を誘発し、この LH サージにより卵巢では、成熟卵胞が排卵する。排卵後に形成された、黄体から分泌されるプロゲステロン（P4）も性腺刺激ホルモン分泌調節に抑制的に働くと考えられている。

本研究は、雌ハムスターにおける INH、E2 および P4 の性腺刺激ホルモン分泌調節に果たす役割を明らかにすることを目的として、初めにハムスターにおける発情周期中の血中 INH 濃度の変化を詳細に検討した。次いで INH、E2 および P4 に対する特異的な抗体を応用して、内因性のホルモンを免疫学的に中和する方法により、3つの卵巢ホルモンの生理学的役割を明らかにしたものである。

正常発情周期中のハムスターの血中 INH 濃度の変化は、血中 FSH 濃度との間で負の相関を示した。また、INHと同様に、卵胞の顆粒層細胞から分泌される、E2 の血中濃度変化は、発情周期中に3つのピークを形成し、血中 INH 濃度の変化とは異なる変化を示し

た。特に2つ目のピークを形成するday3の夜から day4の朝までの間に、血中 E2 濃度が明らかに低下する事実を初めて明らかにした。また、卵巣での成熟卵胞数の変化がこの血中E2濃度の変化とよく一致することから、E2 の分泌源は、健全な大型成熟卵胞の顆粒層細胞であろうと推察された。一方、血中 INH は、大型成熟卵胞が排卵し、卵巣には未だ小型の健全卵胞しか存在しない時期にすでに増加する事実、あるいは、大型卵胞に変性像がみられる時期にも低下しない事実から、大型成熟卵胞に加えて小型卵胞あるいは、変性過程の初期にある卵胞の顆粒層細胞も INH の分泌源であろうと推察された。

抗 INH 血清を発情周期の day2 に投与して、内因性INHを免疫学的に中和すると、血中 FSH 濃度の急激な上昇がみられ、次回排卵時には過排卵が誘起された。抗INH血清による、この様な排卵数の増加効果は、投与する抗血清の量に依存し、投与する抗血清の量を増加すると、血中 FSH 濃度の上昇期間が延長した。このことから、INHは、発育卵胞数の情報担体として下垂体に伝達され、FSH の分泌量を調節する役割を有するものと推察された。

抗 E2 血清を発情周期の day3 に投与して、内因性 E2 を免疫学的に中和すると、一過性に軽度の血中 FSH 濃度の上昇、および発情周期を通じての基底レベルの血中 LH 濃度の上昇がみられた。また、抗 E2 血清投与後、LH および FSH サージが 24時間遅延し、次回排卵も 1日遅延した。しかし、排卵数の著しい増加は認められなかった。この結果から、発情周期の day3 にみられる血中 E2 濃度の上昇が、LH および FSHサージの発現に重要な意味を有することを再確認し、さらに、基底レベルの LH 分泌調節に抑制的な役割を有する事実を明らかにした。

発情周期の各時期に、抗 INH 血清を投与すると、発情周期のいずれの時期でも血中 FSH 濃度が上昇する事実が判明した。INH の抗血清に加えて、E2の抗血清を投与した場合には、血中 FSH 濃度が、さらに上昇することから、E2は、FSH 分泌抑制に関して、INH と相加的作用を有する事実が判明した。抗 E2 血清を抗 INH 血清とともに用いると、抗 INH 血清投与以上に血中 FSH 濃度が上昇し、ほぼ卵巣摘出群の血中 FSH 濃度の上昇に匹敵して上昇したことから、FSH 分泌を調節する主要な因子は INH であり、E2 がそれに相加的役割を有しているものと考えられた。発情周期の day1、あるいは day2 に、抗 INH 血清および抗 E2 血清を併用して投与することにより、基底レベルの血中 LH 濃度の上昇が認められたが、卵巣を摘出した動物のレベルと比べるとはるかに低い値であった。しかし、抗 INH および抗 E2 血清に加えて、P4の単クローン抗体を投与することで、血中 LH 濃度は、卵巣を摘出した動物のレベルにまで上昇したことから、ハムスターでは、day1 と day2 においては、基底レベルの LH 分泌を調節する因子として、P4が重要な役割を演じている事実を明らかにした。

以上のことから、申請者は、次の様な仮説を提唱するに至った。すなわち、「卵巣では、卵胞の発育が開始すると、発育した卵胞数の情報担体として INH を分泌し、下垂体からの FSH 分泌を抑制して、卵巣での過剰数の卵胞発育を抑制する。ついで、発育した卵胞が成熟して排卵可能な状態に達すると E2 を分泌し、LH サージを誘発して排卵にいたる」とするものである。

審 査 結 果 の 要 旨

下垂体からの卵胞刺激ホルモン (FSH) および黄体形成ホルモン (LH) の分泌は、視床下部から分泌される性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) による促進作用と性腺から分泌される性腺ホルモンによるフィードバック作用によって調節されている。性腺から分泌され、FSH と LH の分泌調節に関与するホルモンとしては、従来からステロイドホルモンが唯一のものであると考えられてきたが、ステロイドホルモンの作用のみでは説明が困難な生理的現象があることが報告されてきた。この様な背景の中で、1970年代にそれまで仮説にすぎなかったインヒビンの存在が明らかにされ、外因性にインヒビン様物質を投与した研究結果などから、インヒビンは、特に FSH 分泌抑制に重要な役割を演じている事実が次第に明らかにされてきた。性腺ホルモンとして、ステロイドホルモンに加えて、インヒビンの存在が実証されたことから、これまで考えられていた FSH と LH の分泌調節機構を見直し、新たな調節機構の概念を確立する必要性が強く求められている。

本研究は、成熟雌ハムスターをモデル動物として、従来から知られているエストラジオールとプロジェステロンに加えて、新しい卵巣ホルモンであるインヒビンによる FSH と LH の分泌調節機構を初めて明らかにしたものである。本研究では、初めにハムスターにおけるインヒビンのラジオイムノアッセイ法を確立し、その方法を用いて発情周期中の成熟ハムスターのインヒビン分泌変化を明らかにし、血中 FSH とインヒビンの間に明瞭な負の相関のある事実を明らかにした。また、これまで FSH と LH の分泌調節に関する研究手法としては、性腺を摘出した動物に外因性にホルモンを投与し、その後の FSH と LH の分泌変化を調べることにより、投与したホルモンの作用を考察する方法が主流であった。しかし、この様な方法では、生理的狀態下において、それぞれのホルモンがどのように作用しているのか、あるいは、各種生理的狀態下においてそれぞれのホルモンによる作用がどのように変化しているかを詳細に検討することは困難であった。本研究では、この点を解消する新しい研究手法として、性腺を摘出するのではなく、それぞれのホルモンに対する特異的な抗血清あるいは、単クローン抗体を生体に直接投与することにより、選択的に内因性のホルモンを免疫学的に中和し、その後の欠損症状からそれぞれのホルモンの生理的作用を明らかにしたものである。また、卵巣において卵胞の発育が開始すると卵胞の顆粒層細胞は、速やかにインヒビンの分泌を開始し、引き続き卵胞が成熟するに伴ってエストラジオールの分泌を開始することから、卵胞顆粒層細胞を同一分泌源とする2つのホルモンの分泌様式が異なる事実を明らかにした。さらに、抗インヒビン血清により、内因性インヒビンの作用を中和すると、直ちに下垂体から FSH の分泌亢進が起こり、卵巣では過剰数の卵胞の発育が促進され過排卵に至ることを明らかにした。一方、エストラジオールの抗血清により、内因性のエストラジオールの作用を中和すると排卵前に起こる LH の大量放出 (サージ) が抑制され排卵日が一日遅延することを明らかにした。この様な実験結果から、下垂体からの FSH と LH の分泌調節機構につい

て、申請者は、次の様な仮説を提唱するに至った。すなわち、「卵巢では、卵胞の発育が開始すると発育した卵胞数の情報担体としてインヒビンを分泌し、下垂体に伝達することにより下垂体からのFSH分泌を抑制的に調節して、卵巢での過剰数の卵胞発育を抑制する。ついで、発育した卵胞が成熟して排卵可能な状態に達するとエストロジールを分泌し、視床下部・下垂体に伝達してLHサージを誘発し排卵にいたる」とするものである。

以上の研究成果は、これまで定説として考えられてきた性腺刺激ホルモンの分泌調節機構に新たな卵巢ホルモンであるインヒビンの作用を加えて再構築したものであり、生殖生理学上極めて重要な内容である。また、インヒビンが種に固有な排卵数を調節する上で最も重要な鍵を握るホルモンであることを明らかにしたものであり、哺乳類の生殖生理学上最も基本的な問題の解決につながる内容である。さらに、近い将来、排卵数の調節因子としてのインヒビンの作用を応用することにより、優秀な血統の家畜増産のための有用な過排卵誘起方法の開発への基礎データとなる内容である。

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価値あるものと認めた。