

氏名(本籍)	近藤昌弘(神奈川県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第108号		
学位授与年月日	平成14年3月13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	Study on inhibin secretions from gonads and placentae in non-human primates (霊長類の性腺および胎盤におけるインヒビン分泌に関する研究)		
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 加茂前秀夫
	副査	岐阜大学	教授 坪田敏男

## 論文の内容の要旨

チンパンジー(*Pan troglodytes*)およびニホンザル(*Macaca fuscata*)は、希少野生動物として保護されている種であると共に、ヒトとの遺伝子相同性が高く、医学分野においてヒトの貴重なモデル動物として使用されている。

本研究は、霊長類の雌雄性腺および胎盤におけるインヒビンの分泌機構を明らかにすることを目的として、血液中および組織中のインヒビン濃度、免疫組織化学による組織中のインヒビン $\alpha$ 鎖、 $\beta$ A鎖および $\beta$ B鎖の局在性について検討したものである。

第1章では、緒論として、インヒビンの構造、生理作用および測定方法、チンパンジーとニホンザルの特徴、医学的利用の有用性および野生動物としての希少性について記述し、本研究の目的を述べた。

第2章では、本研究に共通する実験材料と方法について記述した。

第3章では、雄チンパンジーの性成熟過程におけるインヒビンAおよびインヒビンBの内分泌的性状を明らかにするために、0-5歳(春機発動前期)、6-10歳(春機発動期)、11-15歳(性成熟期)および16歳以上の4グループにおいて、それぞれの血液中インヒビンAおよびインヒビンB濃度を測定した。その結果、血中インヒビンB濃度は、加齢に伴って高値を示し、6-10歳以上のグループでは0-5歳のグループに比べ

有意に高い値を示した。一方、インヒビンAは、インヒビンBに比べて濃度は相対的に低く、年齢毎の変化では、加齢との相関を示さなかった。血液中各種ホルモン濃度の間の相関関係を調べた結果、インヒビンBは、性成熟（7歳齢）後にはFSHと逆相関を示した。また、インヒビンBは、テストステロンと正の相関を示した。以上の結果から、雄チンパンジーでは血液中の主要なインヒビンの分泌型は、インヒビンBであることが判明した。また、インヒビンBは、性成熟後はFSHの分泌抑制に関与するが、春機発動以前では、FSHの調節に関与しないものと推察された。

第4章では、雌チンパンジーのインヒビンおよびアクチビン分泌について検討した。

#### 1) 正常月経周期

卵胞期ではインヒビンB濃度が、黄体期ではインヒビンA濃度がそれぞれ高値を示した。この結果から、ヒトと同様に、インヒビンBは主として卵胞から、インヒビンAは主として黄体から分泌されるものと推察された。

#### 2) 妊娠期

血液中インヒビンB濃度は、妊娠期を通して月経周期のレベルより低値を示した。血液中インヒビンA濃度は、妊娠初期に黄体期と同レベルを示したが、その後は、低下し、卵胞期のレベルで推移した。胎盤ホモジネート中のインヒビンAとインヒビンB濃度を測定した結果、インヒビンAは測定可能であったが、インヒビンBは検出限界以下であった。また、胎盤ホモジネート中のインヒビンを生物活性測定法にて測定した結果、標準曲線に対して平行性を示した。免疫組織化学的検索を行った結果、胎盤で合胞体性栄養膜にインヒビン $\alpha$ 、 $\beta A$ 、 $\beta B$ 鎖の局在が認められた。以上の結果から、チンパンジーの妊娠期では、インヒビンAが生物活性を持つインヒビンとして胎盤から分泌されていると考えられたが、ヒトやニホンザルで認められたようなインヒビン濃度の大量分泌は認められなかった。この様に、チンパンジーの妊娠期における、インヒビンの分泌パターンは、ヒトやニホンザルと異なっていることが判明した。また、血中アクチビン濃度は、ヒトやニホンザルと比較して妊娠後期に急激な上昇が認められ、アクチビンの分泌パターンも、チンパンジーおよびヒトの間で明らかに異なることが判明した。さらに、血中アクチビン濃度は、分娩後も急激な低下が認められないことから、分泌源は、胎盤以外の器官が含まれるものと推察された。

第5章では、雄ニホンザルの繁殖季節に伴うインヒビン分泌に関する知見をまとめた。血液中インヒビンBおよびテストステロン濃度は、非繁殖期である5月-8月に比較して繁殖季節である9月-4月に高値を示した。成熟雄ニホンザル精巣の免疫組織化学による検索の結果、インヒビン $\alpha$ 鎖と $\beta B$ 鎖は、セルトリー細胞にのみ局在することが判明した。以上の結果から、成熟雄ニホンザルでは、インヒビンBが主要なインヒビンの分泌型であり、セルトリー細胞が分泌細胞であろうと推察された。従って、雄ニホンザルでは、ヒトと同様にテストステロンがライディヒ細胞機能の指標であるのに対して、インヒビンはセルトリー細胞機能の指標となるものと推察された。

第6章では、雌ニホンザルのインヒビンとアクチビン分泌に関する知見をまとめた。

#### 1) 正常月経周期

血中インヒビンA濃度は、黄体期で高く、血中インヒビンB濃度は、卵胞期で高い傾向を示した。

#### 2) 妊娠期

血中インヒビンA、インヒビンBおよびアクチビンA濃度は、ともに妊娠120-160日に最高値を示し、分娩によりいずれのホルモンも急激に低下した。免疫組織化学的

検索により、インヒビン $\alpha$ 鎖、 $\beta$ A鎖、および $\beta$ B鎖は、いずれも胎盤の合胞体性栄養膜細胞に局在することから、胎盤でのインヒビンおよびアクチビンの分泌細胞は、合胞体性栄養膜細胞であろうと推察された。

### 3) 泌乳期

泌乳期間中における血中インヒビン濃度は、正常月経周期中の基底レベルと差のない低値で推移した。血中FSH、LH、エストラジオールおよびプロゲステロン濃度も、泌乳期を通して低値で推移した。泌乳中の血液中コルチゾール濃度は、非繁殖期に比べ有意に高い値を示した。以上の結果から、ニホンザルにおいて泌乳期間中に卵胞発育が抑制され排卵が停止するのは、子ザルによる吸乳刺激によって放出される副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモンや $\beta$ -エンドルフィンが性腺刺激ホルモン放出ホルモン分泌を抑制し、これによりLHのパルス状分泌が抑制され、結果として卵巣での卵胞発育と排卵が抑制されるものと推察された。

以上の結果から、月経周期中の雌では、チンパンジー、ニホンザルおよびヒトで内分泌学的に多くの類似性が明らかとなった。一方、妊娠期においては、インヒビン分泌様式に、3種間で大きく異なることが判明した。これらの差異は、それぞれの種の妊娠期間、胎盤形成時期や胎盤の形態が異なることに起因するものであり、進化の過程におけるそれぞれの種の繁殖戦略によるものと推察された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、雌雄チンパンジーとニホンザルを用いて性腺および胎盤におけるインヒビン分泌について内分泌学的に研究し、ヒトとの共通点と相違点について考察した。

### 1. 雄チンパンジーにおけるインヒビン分泌

雄チンパンジーを生後5年ごと、すなわち、0-5歳（春機発動前期）、6-10歳（春機発動期）、11-15歳（性成熟期）および16歳以上の4グループに分け、それぞれの血液中インヒビンAおよびインヒビンB濃度を測定した結果、血中インヒビンB濃度は、加齢に伴って高値を示し、6-10歳以上のグループでは0-5歳のグループに比べ有意に高い値を示した。血液中各種ホルモン濃度との相関関係を調べた結果、インヒビンBは、性成熟（7歳齢）後にはFSHと逆相関を示した。以上の結果から、雄チンパンジーでは血液中の主要なインヒビンの分泌型は、インヒビンBであることが判明した。また、インヒビンBは、性成熟後はFSHの分泌抑制に関与するが、春機発動以前では、FSHの調節に関与しないものと推察された。

### 2. 雌チンパンジーにおけるインヒビンおよびアクチビン分泌

正常月経周期中の血液中インヒビン濃度を測定した結果、卵胞期ではインヒビンB濃度が、黄体期ではインヒビンA濃度がそれぞれ高値を示した。この結果から、ヒトと同様に、インヒビンBは主として卵胞から、インヒビンAは主として黄体から分泌されるものと推察された。

血液中インヒビンB濃度は、妊娠期を通して月経周期のレベルより低値を示した。血液中インヒビンA濃度は、妊娠初期に黄体期と同レベルを示したが、その後は、低下し、卵胞期のレベルで推移した。胎盤ホモジネート中のインヒビンAとインヒビンB濃度を測定した結果、インヒビンAは、標準曲線に対し平行性を示したが、イン

ヒビンBは検出限界以下であった。また、胎盤ホモジネート中のインヒビンを生物活性測定法にて測定した結果、標準曲線に対して平行性を示した。また、胎盤で合胞体性栄養膜にインヒビン $\alpha$ 、 $\beta A$ 、 $\beta B$ 鎖の局在が認められた。以上の結果から、チンパンジーの妊娠期では、インヒビンAが生物活性を持つインヒビンとして胎盤から分泌されていると考えられたが、ヒトやニホンザルで認められたようなインヒビン濃度の大量分泌は認められなかった。従って、妊娠中の血中F S H濃度の分泌抑制は、インヒビンではなく、ステロイドホルモンによるネガティブフィードバック作用が主体であろうと推察された。血中アクチビン濃度は、ヒトやニホンザルと比較して妊娠後期に急激な上昇が認められ、アクチビンの分泌パターンも、チンパンジーおよびヒトの間で明らかに異なることが判明した。さらに、血中アクチビン濃度は、分娩後も数日は、急激な低下が認められないことから、分泌源は、胎盤以外の器官（おそらく子宮）が含まれるものと推察された。

### 3. 雄ニホンザルにおけるインヒビン分泌

血液中インヒビンBおよびテストステロン濃度は、非繁殖期である5月～8月に比較して繁殖季節である9月～4月に高値を示した。成熟雄ニホンザル精巣の免疫組織化学による検索の結果、インヒビン $\alpha$ 鎖と $\beta B$ 鎖は、セルトリー細胞にのみ局在することが判明した。以上の結果から、成熟雄ニホンザルでは、インヒビンBが主要なインヒビンの分泌型であり、セルトリー細胞が分泌細胞であろうと推察された。従って、雄ニホンザルでは、ヒトと同様にテストステロンがライディヒ細胞機能の指標であるのに対して、インヒビンはセルトリー細胞機能の指標となるものと推察された。

### 4. 雌ニホンザルにおけるインヒビンおよびアクチビンA分泌

血中インヒビンA濃度は、卵胞期に比べ、黄体期で高値を示した。また、血中インヒビンB濃度は、黄体期に比べ卵胞期で高い傾向を示した。

血中インヒビンA、インヒビンBおよびアクチビンA濃度は、ともに妊娠120～160日に最高値を示し、分娩によりいずれのホルモンも急激に低下した。免疫組織化学的検索により、インヒビン $\alpha$ 鎖、 $\beta A$ 鎖、および $\beta B$ 鎖は、いずれも胎盤の合胞体性栄養膜細胞に局在することから、胎盤でのインヒビンおよびアクチビンの分泌細胞は、合胞体性栄養膜細胞であろうと推察された。

泌乳期間中における血中インヒビン濃度は、正常月経周期中の基底レベルと差のない低値で推移した。血中F S H、L H、エストラジオールおよびプロジェステロン濃度も、泌乳期を通して低値で推移した。泌乳中の血液中コルチゾール濃度は、非繁殖期に比べ有意に高い値を示した。以上の結果から、ニホンザルにおいて泌乳期間中に卵胞発育が抑制され排卵が停止するのは、子ザルによる吸乳刺激によって放出される副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモンや $\beta$ -エンドルフィンの上昇が性腺刺激ホルモン放出ホルモン分泌を抑制し、これによりL Hのパルス状分泌が抑制され、結果として卵巣での卵胞発育と排卵が抑制されるものと推察された。

チンパンジーやニホンザルは、ヒトの近縁種であることから内分泌的類似性は極めて高く、ヒトのモデル動物として生殖内分泌の分野でも重要な動物種である。本研究の結果からも、月経周期中の内分泌に関しては、チンパンジー、ニホンザルおよびヒトで多くの類似性が明らかとなった。一方では、特に妊娠期におけるインヒビン分泌様式には、ヒトでの知見と大きく異なる点が判明した。これらの差異は、それぞれの種の妊娠期間、胎盤形成時期や胎盤の形態が異なることによるものと解釈された。

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に価値あるものと認めた。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Changes in plasma concentrations of inhibin A and inhibin B throughout sexual maturation in the male chimpanzee  
著 者 名 : Kondo Masahiro, Uono Takefumi, Jin WanZhu, Shimizu Keiko, Funakoshi Miho, Itoh Mariko, Watanabe Gen, Groome Nigel P and Taya Kazuyoshi  
学術雑誌名 : Endocrine Journal  
巻・号・頁・発行年 : 47(6) : 707~714, 2000
- 2) 題 目 : Secretion of inhibin A and inhibin B throughout pregnancy and the early postpartum period in chimpanzees  
著 者 名 : Kondo Masahiro, Uono Takefumi, Jin WanZhu, Funakoshi Miho, Shimizu Keiko, Itoh Mariko, Herath Chandana B, Watanabe Gen, Groome Nigel P and Taya Kazuyoshi  
学術雑誌名 : Journal of Endocrinology  
巻・号・頁・発行年 : 168(2) : 257~262, 2001

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : Inhibins in the male Göttingen miniature pig: Leydig cells are the predominant source of inhibin B  
著 者 名 : Jin WanZhu, Arai Koji Y, Herath Chandana B, Kondo Masahiro, Ishi Hazime, Tanioka Yoshikuni, Watanabe Gen, Groome Nigel P and Taya Kazuyoshi  
学術雑誌名 : Journal of Andrology  
巻・号・頁・発行年 : 22(6) : 953~960, 2001