

氏名(国籍)	Manila Sedqyar (アフガニスタン・イスラム共和国)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第242号		
学位授与年月日	平成20年3月13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	Studies on Regulation of Gonadal Function in Japanese Quails(<i>Coturnix japonica</i>) (日本ウズラの性腺機能調節に関する研究)		
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	三宅 陽一
	副査	岩手大学 教授	橋爪 一善
	副査	東京農工大学 教授	加茂前 秀夫
	副査	岐阜大学 教授	武脇 義

論文の内容の要旨

日本ウズラは、世界各国の研究機関で飼育されている代表的な鳥類の実験動物であり、様々な研究に用いられていると共に、薬物や化学物質の作用を検定する上でも極めて有用な実験動物である。ウズラは、哺乳類と比べて多くの利点を有していることから、実験動物として世界中で広く使用されているが、生殖内分泌学的知見の蓄積は乏しく、更なる基礎的知見の蓄積が必要とされている。本研究では、雌雄日本ウズラの性腺(卵巣・精巣)の機能を内分泌学的に解析した。

第1章では、諸論として日本ウズラ性腺の形態的および機能的特徴およびインヒビンの生理的役割について概説し、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、孵化日から7週齢に至るまでの発育過程における雄ウズラの精巣機能の変化に関する研究成果を記述した。精巣重量は、5週齢から増加し始め、7週齢には、急激な増加が認められた。精巣中テストステロン含有量は、7週齢にピークに達した。下垂体中LH含有量は、7週齢には急激な増加を示した。血中LH濃度は、5週齢で2倍に上昇し、7週齢まで高値を維持した。血中テストステロン濃度は、6週齢から有意な上昇を示し7週齢まで上昇が続いた。血中インヒビン濃度は、5週齢で有意な上昇を示し、7週齢まで上昇が続いた。精巣では、Leydig細胞とSertoli細胞にインヒビン α 鎖、 β A鎖および β B鎖の局在が認められた。以上の結果から、雄ウズラの発育過程においては、初めに下垂体でLH合成能が高進し、次いで精巣でテストステロン合成能が高まるものと推察された。5週齢以降は、いずれのホルモン分泌も高進することから、春機発動に達したと判断された。

第4章では、発育過程における雌ウズラ卵巢の卵巢機能の変化に関する研究成果を記述した。卵巢重量は、7週齢で急激に増加した。血中LH濃度は6週齢に、下垂体中LH含有量は7週齢に有意に増加した。有意な上昇を示した。血中インヒビンとプロジェステロン濃度は、いずれも7週齢に有意な上昇を示した。卵巢では、卵胞顆粒層細胞と間質細胞にインヒビン α 鎖、インヒビン/アクチビン βA 鎖および βB 鎖の局在が確認された。また、産卵は7週齢から確認された。これらの結果から、雌ウズラにおいては、6週齢から下垂体でLH合成能が高まり、LH分泌量が増加することにより卵巢での卵胞発育が促進され春機発動に至ると推察された。

第5章では、眼球中ステロイドホルモン測定による生殖ステージモニタリングに関する研究成果を記述した。生殖内分泌状態を知るには、血液や尿中のホルモンを測定する方法が用いられるが、特定の野生動物から血液や尿を採集することは難しい。一方、眼球には血液の成分が移行することから、生殖関連ホルモンが血液中と同様に含有され、各種生理的状态下で血中と同様に变化する可能性がある。本研究では、各種発育過程における雌雄日本ウズラの眼球中テストステロンとプロジェステロン濃度を測定し、血中濃度と比較検討した。その結果、テストステロンについては、雄が雌に比べて著しく高く、発育中の精巢発達に伴い上昇し、血中濃度と眼球中濃度に正の相関が認められた。一方、プロジェステロンに関しては、雌雄共に血中と眼球中濃度の間に相関は認められなかった。以上の結果から、ウズラにおいては、眼球中テストステロン濃度を測定することにより、精巢機能のモニタリングが可能と判断された。

第6章では、精巢機能調節における甲状腺の生理的役割に関する研究成果を記述した。4週間のメチマゾールの飲水投与により甲状腺ホルモン分泌を抑制したウズラを作成し、精巢機能と副腎機能を検討した。その結果、甲状腺機能が低下したウズラでは、血中LH、コルチコステロン、テストステロンおよびインヒビン濃度が著しく低下し、精巢重量も低下した。精巢では、精細管が萎縮し、精子形成が著しく抑制された。以上の結果から、ウズラでは、精巢と副腎機能維持に甲状腺が重要な役割を演じている事実が判明した。

第7章では、Sulfamethazine (SMZ)による雌雄ウズラの春機発動促進に関する研究成果について記述した。本研究では、雌雄ウズラの孵化後1週齢から6週齢まで0.2%SMZを餌に混合して与え、1週間ごとに採血し、下垂体、卵巢および精巢を採集した。

SMZを投与した雄ウズラ群では、体重増加は対照群と差は認められなかったが、精巢重量と血中LH濃度は5週齢で、下垂体中LH含有量は6週齢で、また血中LH濃度は5週齢で、対照群と比較して有意な高値を示した。精巢中テストステロン含有量は、5週齢で有意な増加を示したが、血中テストステロン濃度には差は認められなかった。血中インヒビン濃度は、5週齢で高値を示したが、有意差は認められなかった。5週齢の精巢組織像を比較した結果、SMZ投与群では対照群と比較して精細管直径が拡張し、精子形成過程の促進が認められた。

SMZを投与した雌ウズラ群では、体重および卵巢重量には、変化は認められなかった。下垂体LH含有量は、5週齢と6週齢において、SMZ投与群が対照群と比較して有意な高値を示した。血中LH濃度は、5週齢でSMZ投与群が高値を示した。血中プロジェステロン濃度は、5週齢と6週齢でSMZ投与が対照群よりも有意な高値を示したが、血中インヒビン濃度には、差は認められなかった。

以上の結果から、雌雄ウズラの発育過程にSMZを投与することにより視床下部・下垂体軸の発育を促進してLH分泌量を増加し、結果として春機発動を促進させる効果のある事実が判明した。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、ウズラを実験鳥類として生殖生理学の研究に用いるための基礎的知見を得ることを目的として、雌雄ウズラの性腺（卵巣・精巣）の機能を内分泌学的に解析した。

I. ウズラ性腺におけるインヒビン分泌

本研究では、初めにウズラの血中および組織中インヒビン濃度を測定するラジオイムノアッセイ（RIA）を開発し、次いで雌雄性腺におけるインヒビンサブユニットの局在性の証明および精巣ホモジネイト中のインヒビン生物活性の証明を行い、ウズラ性腺におけるインヒビン分泌について検討した。

I-1. ウズラインヒビンのRIAの開発

ウシインヒビンのRIAを応用してウズラインヒビンの測定系を検討した。測定に際しては、ウシインヒビン精製品を¹²⁵Iにて標識したものを抗原として使用し、第一抗体にはウシインヒビンウサギ血清（TND-H1）を用いることにより、雌雄ウズラのインヒビン測定が可能であると判断された。

I-2. ウズラ性腺のインヒビン生物活性の検出

ラット下垂体前葉細胞培養法を用いて、ウズラ精巣ホモジネイト中のインヒビン生物活性を測定した結果、明らかに生物活性のあるインヒビンが含有されている事実を明らかにした。

I-3. ウズラ性腺におけるインヒビンサブユニットの局在

卵巣では、卵胞顆粒層細胞と間質細胞に、精巣では、Leydig細胞とSertoli細胞にインヒビン α 鎖、 β A鎖および β B鎖の局在が認められた。以上の結果から、ウズラ卵巣では、卵胞顆粒層細胞と間質細胞、ウズラ精巣では、Leydig細胞とSertoli細胞がそれぞれインヒビンの分泌細胞であろうと推察された。

II. 発育過程におけるウズラ性腺の内分泌学的変化

II-1. 雄ウズラの下垂体および精巣ホルモン分泌の発育に伴う変化

日本ウズラの孵化日から7週齢に至るまで1週間ごとに、精巣重量、精巣中インヒビンおよびテストステロン含有量、下垂体LH含有量並びに血中LH、インヒビン、テストステロン濃度を測定した。また、精巣の組織学的変化および免疫組織化学によるインヒビンサブユニットの局在性を調べた。その結果、雄ウズラの発育過程においては、初めに下垂体でLH合成能が高進し、次いで精巣でテストステロン合成能が高まるものと推察された。5週齢以降は、いずれのホルモン分泌も高進することから、春機発動に達したと判断された。

II-2. 雌ウズラの下垂体および卵巣ホルモン分泌の発育に伴う変化

雌ウズラから孵化後7週齢まで1週間ごとに卵巣と下垂体を採集した。卵巣重量と下垂体中LH含有量は7週齢に、血中LH濃度は6週齢に有意な上昇を示した。血中インヒビンとプロジェステロン濃度は、いずれも7週齢に有意な上昇を示した。産卵は7週齢から確認された。

以上の結果を総括すると、日本ウズラでは、雌雄共に5週齢から7週齢にかけて初めに下垂体での性腺刺激ホルモン分泌が高進し、これを受けて、卵巣と精巣が急激に発育して春機発動に至ると推察された。

III. 眼球中ステロイドホルモン測定による生殖ステージモニタリング

個体の生殖内分泌状態を知るには、血液や尿中のホルモンを測定する方法が用いられる。本研究では、ウズラの発育過程における血液中と眼球中テストステロンとプロジェステロン濃度を測定し、その分泌パターンを比較検討した。その結果、テストステロンについては、雄が雌に比べて著しく高く、発育中の精巣発達に伴い上昇し、血中濃度と眼球中濃度に正の相関が認められた。一方、プロジェステロンに関しては、雌雄共に血中と眼球中濃度の間に相関は認められなかった。

以上の結果から、ウズラにおいては、眼球中テストステロン濃度を測定することにより、精巣機能のモニタリングが可能と判断された。

IV. 精巣機能調節における甲状腺の生理的役割

メチマゾールの飲水投与により甲状腺ホルモン分泌を抑制したウズラを作出し、精巣と副腎機能を検討した。その結果、甲状腺機能が低下したウズラでは、血中LH、コルチコステロン、テストステロンおよびインヒビン濃度が著しく低下した。精巣では、精細管が萎縮し、精子形成が著しく抑制された。

以上の結果から、ウズラでは、精巣および副腎機能維持に甲状腺が重要な役割を演じている事実が判明した。

V. Sulfamethazine (SMZ)による雌雄ウズラの春機発動促進

本研究では、雌雄ウズラの孵化後1週齢から6週齢まで0.2%SMZを餌に混合して与え、春機発動の促進効果を確認し、その内分泌学的機構を明らかにすることを目的とした。

SMZを投与した雄ウズラ群では、体重増加は対照群と差は認められなかったが、精巣重量は5週齢で、下垂体中LH含有量は6週齢で、血中LH濃度は5週齢で、対照群と比較して有意な高値を示した。精巣中テストステロン含有量は、5週齢で有意な増加を示した。5週齢の精巣組織像を比較した結果、SMZ投与群では対照群と比較して精細管直径が拡張し、精子形成過程の促進が認められた。

SMZを投与した雌ウズラ群では、対照群と比較して体重および卵巣重量には、差は認められなかったが、下垂体LH含有量と血中プロジェステロン濃度は、5週齢と6週齢でSMZ投与群が対照群よりも有意な高値を示した。

以上の結果から、雌雄ウズラの発育過程にSMZを投与することにより視床下部・下垂体軸の発育を促進してLH分泌量を増加し、結果として春機発動を促進させる事実が判明した。

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があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Secretion of inhibin in female Japanese quails (*Coturnix japonica*) from hatch to sexual maturity
著 者 名 : Sedqyar, M., Weng, Q., Watanabe, G., Kandiel, M.M.M., Takahashi, S., Suzuki, A. K., Taneda, S. and Taya, K.
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development
巻・号・頁・発行年 : 54(1): in press, 2008
- 2) 題 目 : Secretion of inhibin in male Japanese quails (*Coturnix japonica*) from one week of age to sexual maturity
著 者 名 : Sedqyar, M., Weng, Q., Watanabe, G., Kandiel, M.M.M., Takahashi, S., Suzuki, A. K., Taneda, S. and Taya, K.
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development
巻・号・頁・発行年 : 54(2): in press, 2008