

氏 名 (本 籍)	田 中 知 己 (神奈川県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博甲第16号
学 位 授 与 年 月 日	平成7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	Electrophysiological study on the neural control mechanism of the gonadotropin -releasing hormone release in the female goat
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 笹 本 修 司 副査 東京農工大学 助教授 田 谷 一 善 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝 副査 岩 手 大 学 助 教 授 三 宅 陽 一 副査 帯広畜産大学 教 授 佐 藤 邦 忠

論 文 の 内 容 の 要 旨

動物の生殖活動は、視床下部—下垂体—性腺軸によって営まれている。即ち、視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生ニューロン (GnRHニューロン) の活動の変化がGnRH分泌の変化となり、これが下垂体性腺刺激ホルモン (GTH) の分泌を介して性腺機能を調節している。一方、性腺の活動状況は、性腺から分泌されるホルモンを情報担体として絶えず視床下部および下垂体に伝達され、視床下部の神経機構が生殖活動を総合的に調節している。

成熟した雌では通常発情周期が観察される。発情・排卵の時期以外では視床下部のGnRH分泌はパルス状 (律動的あるいは短周期的) であり、これに対応して下垂体性腺刺激ホルモン、とくに黄体形成ホルモン (LH) の分泌もパルス状である。これらパルスの頻度の上昇が卵胞の成熟・エストロゲン分泌に不可欠と考えられている。卵胞の成熟にともなってエストロゲン分泌が急増するとGnRH分泌の一過性大量放出 (サージ) を起こさせ、これによってLHサージを引き起こし排卵が誘起される。このGnRHのサージ状分泌はパルス頻度の著しい増加とも推定されてきたが、その実態は未だ明らかにされて

いない。

シバヤギを対象動物として工夫した脳定位固定装置によってシバヤギに慢性的に電極を植え込み、電気生理学的手法を応用して多ニューロン発射活動 (MUA) を記録し、且つ頸静脈留置カテーテルを通じて連続的に採血し血液中の LH レベルを測定した。その結果、LH 分泌もパルス状でありしかも LH パルスに僅かに先行して確実に対応・同期する MUA の周期的上昇 (MUA ボレー) の観察される部位が存在することから、この MUA ボレーを指標としシバヤギをモデルとして、雌における GnRH のパルス状分泌およびサーージ状分泌を制御する中枢神経機構のステロイドホルモンとの関係を解析した。

GnRH の分泌がパルス状にみられるのは、視床下部に多数存在している GnRH ニューロンからの GnRH の放出が短周期的に同期化されており、多数の GnRH ニューロンの活動を同期化させている調節系 (パルスジェネレーター) が存在すると考えられる。そこで、頸静脈留置カテーテルを通じて連続的に採血し血液中の LH レベルを測定することによって判定した LH パルスに同期する MUA ボレーが記録される脳内部位を検索した。併せて GnRH の免疫組織化学的染色によって GnRH ニューロンとの位置関係を解析した。その結果、MUA ボレー記録部位は正中隆起部であり、周囲に GnRH 免疫陽性神経線維が全例において観察された。電極先端と GnRH ニューロンとの関係を細胞レベルで解析するのは今回の方法では困難であるため、MUA ボレーと GnRH ニューロンの発火活動の関係を最終的に解明するには至らず、GnRH パルスジェネレーターの構成ニューロンが GnRH ニューロンそのものであるか否かは決定出来なかった。

また、卵巣摘出シバヤギにエストロジェンを投与して LH サージを誘起した際の MUA ボレーの出現頻度に上昇がみられるかを精査した。その結果、LH サージの期間も MUA ボレーは継続して観察され、その頻度および持続時間は LH サージの期間中むしろ有意に低下する事実が判明した。従って、GnRH サージは GnRH パルス状分泌頻度の上昇によるものではなく、別のメカニズムによることが強く示唆された。

正常に発情周期を回帰するシバヤギから MUA を記録し、発情周期を通じて連続的に MUA ボレーの変化を観察すると共に血液中のステロイドホルモンレベルを測定し、両者の関係を検討した。MUA ボレーの頻度は卵胞期に多く黄体期には低下し、プロジェステロンレベルと負の相関を示した。一方 MUA ボレーの持続時間は黄体期に延長した。さらにプロスタグランジンを投与して黄体を退行させ卵胞期を誘導する条件下では、黄体退行によるプロジェステロンレベルの低下により MUA ボレーの頻度は急激に上昇し、卵胞期を通じて高頻度で推移したが LH サージの期間中は頻度の低下が観察された。

卵巣摘出シバヤギにステロイドホルモンを投与して MUA ボレーの変化におよぼすプロジェステロンおよびエストロジェンの役割を精査した。その結果、MUA ボレーの頻度はプロジェステロン単独では抑制されず、エストロジェンとの併用によって著しく抑制された。さらにプロジェステロンとエストロジェンとの併用からプロジェステロンを除去してエストロジェンだけを残置すると、MUA ボレーの頻度はプロジェステロン除去後一旦は

上昇するものの再び減少することが知られた。

以上の結果、シバヤギの発情周期は排卵後の黄体期においてGnRH分泌頻度—GnRHパルスジェネレーターの活動頻度—はプロジェステロンとエストロジェンとの協同作用により抑制されており、黄体の退行にともなうプロジェステロンの減少により、GnRHパルスジェネレーターの活動頻度は上昇しLHパルス頻度の増加を介して卵胞の発育・成熟がおこり、エストロジェン分泌が急増する。このエストロジェン増加がGnRHサージジェネレーターを活性化させ、GnRHサージさらにLHサージを起こさせ、排卵を誘起して発情周期が回帰するものと解せられる。

審 査 結 果 の 要 旨

主として雌ラットを用いた1960年代の実験形態学的研究から、下垂体の性腺刺激ホルモン分泌を調節している視床下部神経機構には二種類のセンター（周期的放出センターおよび持続的放出センター）の存在が指摘されていた。卵胞が成熟し充分量のエストロジェンを分泌するに至ればそれに反応して活動し短時間内に下垂体から大量の性腺刺激ホルモンを放出させる周期的放出センターが視索前野（POA）に存在し、他方、卵胞発育に必要な性腺刺激ホルモンの持続的分泌を支配する定常的分泌センターは弓状核を含む内側底部視床下部に存在すると考えられてきた。これらセンターはLHRHの分泌活動を通じて下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌を調節するので、LHRHニューロンの細胞体の存在部位もはじめはセンターに一致するものと考えられていた。

LHRHに対する抗体を応用してLHRHニューロンの細胞体の存在部位をラットで調査した結果、視床下部の前方（内側視索前野など）に広く分布しており、視床下部内には殆ど存在していないことが判明した。LHRHニューロンは正中隆起部の毛細血管壁に軸索終末が終わりここでLHRHが放出され門脈を経由して下垂体前葉に運ばれる。

血液中のLHレベルを詳細に調べてみると、排卵直前のLH大量放出の時期を除けば、LH分泌は短周期で規則的に変動していること（パルス状分泌）、さらにこのようなLHパルスは下垂体門脈血中に放出されるLHRHのパルスと1対1に対応していることも明らかにされてきた。このことは視床下部に多数存在しているLHRHニューロンからのLHRHの放出が同期化されて起きることを意味するものであり、同期化を成立させている調節系（パルスジェネレーター）の存在部位とその機序についての研究が展開された。

シバヤギの脳内に慢性的に電極を移植し、多ニューロン発射活動を記録すると共に、頸静脈に留置したカテーテルを通じて連続的に採血し血液中のLHレベルを測定し、そのパルス状放出に確実に同調している多ニューロン発射活動の周期的上昇（MUAボレー）をとらえることに成功した。このMUAボレーの記録される部位は正中隆起部であり、周囲にGnRH免疫陽性神経線維が全例において観察された。今回の方法ではMUAボレーとGnRHニューロンの発火活動の関係を最終的に解明するには至らず、GnRHパルスジェネレーターの構成ニューロンがGnRHニューロンそのものであるか否かは決定出来な

かった。さらに、成熟雌およびステロイドホルモン処置卵巣摘出シバヤギを用い、LHサージの時期にMUAボレーの頻度は却って抑制されるという注目すべき事実を明らかにした。LHサージの時点ではLHRHニューロンは同調することなく、継続的にLHRHを放出し続けるものであろうか。

従来、LHサージの時期にLHRHの放出が急激に増加するのはLHRHのパルスおよび振幅が著しく増大するためと考えられてきた。MUAボレーがこの時期に抑制されるという上述の事実は従来の仮説を覆すものであるが、性腺刺激ホルモンの分泌を調節している2種類のセンター（周期的放出センターと持続的放出センター）の別個の存在を強く支持するものであり、仮説解明に新しい領域を拓いたものといえる。

平成7年1月26日における学位論文審査委員会において、提出論文ならびに学位論文の基礎となる学術論文2編、その他の既発表学術論文4編の内容を5名の審査委員が審議した結果、提出論文は大学院連合獣医学研究科の学位論文としてふさわしいものであると判定した。