

氏名 (本 (国) 籍)	Siriwan TANGYUENYONG (タイ王国)
主指導教員氏名	東京農工大学 教授 渡 辺 元
学位の種類	博士 (獣医学)
学位記番号	獣医博甲第492号
学位授与年月日	平成29年9月22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	Endocrinological Studies on the Regulation of Reproductive and Metabolic Functions in Trained Yearling Horses (一歳馬における生殖機能と代謝機能の調節に関する内 分泌学的研究)
審 査 委 員	主査 東京農工大学 准教授 田 中 知 己 副査 帯広畜産大学 教 授 南 保 泰 雄 副査 岩 手 大 学 教 授 木 崎 景一郎 副査 東京農工大学 教 授 渡 辺 元 副査 岐 阜 大 学 教 授 村 瀬 哲 磨

学位論文の内容の要旨

1. ウマの全サイロキシシン (T4) の新たな測定法の確立

ウマの甲状腺ホルモン測定に際して、ほとんどの場合ヒトの測定法を用いており、ウマでの実際の値を表していない。種によって甲状腺ホルモン結合タンパク質の量も親和性も異なる。したがって、結合タンパク質から乖離させ、ウマでT4を正確に測定できる方法に最適化することは必要不可欠である。本研究では、ウマの総T4測定を正確に測定するために、結合タンパク質からの分離が容易であり、信頼できる良い感度の測定法を開発することを目的しておこなった。ラットの総T4測定で用いられるサリチル酸ナトリウムを用いた結合タンパク質分離法をウマ血清に用いたところ、T4の第1抗体結合が著しく抑制された。サリチル酸ナトリウム濃度を0.01%まで減少させたところ、アイソトープで標識したT4の抗体との結合が抑制されなくなった。しかしながら、ウマ血清中のT4濃度も希釈され、検出限界以下となった。インスリン様成長因子-1(IGF-1)を測定する際に用いる酸性アルコール法と一般的タンパク質除去法である酢酸ナトリウムアルコール法をウマ血清サンプルのT4結合タンパク分離法として用いた。酢酸ナトリウムアルコール法を用いた血中総T4濃度はサリチル酸ナトリウム法に比べ適正な値を示し、酸性アルコール法と同等な結果を示した。さらにこの酢酸ナトリウムアルコール法は他の方法に比べて簡便であった。酢酸ナトリウムアルコール法で測定した一歳馬の総T4は 209.17 ± 15.05 ng/mlで、発情休止期の雌ウマの値(34.92 ± 13.69 ng/ml)に比べ約6倍の高い値であった。気候が異なる北海道と宮崎の一歳馬のT4を比較した結果、北海道群が高い傾向を示した。これらの結果は本測定法が成長や気候の違いによる生理学的差を検出する信頼できる測定法であることを示し、本測定法を用いることで、ウマの総T4濃度を適切に測定できると判断され

た。

2. 南北の自然気候によるサラブレッド種一歳馬の代謝及び生殖内分泌学的機能の比較

本研究では、一歳馬の体成長、代謝、生殖ホルモンを異なる生育気候の間で比較した。計 47 頭のサラブレッド種一歳馬を用いた。日本中央競馬会日高育成牧場（温帯気候）と同宮崎育成牧場（亜熱帯気候）で 9 月から翌年 4 月までの期間に調査した。25 頭（雄 12 頭、雌 13 頭）を北海道で、22 頭（雄 10 頭、雌 12 頭）を宮崎で、12 月から翌年の 4 月まで自然環境下で飼養した。成長の指標として、体重、体高、胸囲、管囲を測定し、換毛は目視で観察記録した。末梢血液中総 T4、IGF-1、プロラクチン(PRL)、インヒビンとコルチゾルを RIA で測定し、エストラジオール-17 β 、プロジェステロン(P₄)、テストステロンは時間分解蛍光免疫測定法キットで測定した。結果、全ての成長指標は北海道群が宮崎群より低い傾向を示した。特に成長指標の増加率が北海道群では 1 月に著しく減少し 2 月から 3 月にかけて回復した。換毛指標は 4 月の時点で北海道群が明らかに宮崎群より低かったが、血中 T4 は宮崎群より北海道群で高い傾向を示した。北海道群の IGF-1 (雄)、PRL (雌雄)、E₂ (雌)は宮崎群より有意に低値を示した。これらの結果から、日本の南北の気候の差が一歳馬の成長と繁殖機能の発育初期に影響していると判断した。北海道の一歳馬は成長と初期の性腺発達において宮崎群に比べ緩やかであった。

3. 南北の異なる気候下で飼養されたサラブレッド種一歳馬における、代謝及び生殖内分泌学的機能に対する人工照明効果の比較

本研究では、一歳馬の短日（冬季）に人工的に照明を追加して長日下で飼育する長日処理 (LS) が体成長、代謝、生殖ホルモンに対する効果を明らかにし、南北の気候による差を比較した。総数 160 頭のサラブレッド種一歳馬を用いた。北海道群では雄 44 頭、雌 47 頭、宮崎群では雄 11 頭、雌 11 頭に 14.5 時間の明期、9.5 時間の暗期になるように厩舎内に点灯した。LS 処置開始 1 週間前及び 1 ヶ月後に、成長指標、換毛状態、各種ホルモン濃度を調査した。体重と胸囲の増加率は LS 群で北海道群、宮崎群ともに対照群より大きい傾向を示した。北海道群では 4 月のみ LS 群が有意に高い換毛指標を示した。T4 と IGF-1 濃度には LS 群と対照群で差が見られなかった。PRL と P₄ 濃度は、LS 群で北海道群、宮崎群ともに対照群より高濃度であった。初排卵 (2 月後半) と精巣活性化 (1 月後半) が、北海道群、宮崎群ともに対照群 (それぞれ 4 月上旬と 2 月下旬) より早期化した。1 月の北海道 LS 群に体重と胸囲の増加率の著しい低下が見られたが、その後緩やかに宮崎群と同等のレベルに増加した。北海道 LS 群の換毛指標は実験期間の終了時には宮崎群のレベルに達した。北海道 LS 群の末梢血中 PRL と P₄ は宮崎群と同様のレベルに増加した。一歳馬においても LS 処置が成長と冬毛からの換毛を促進し、性腺機能の発達を早めることが示した。

以上の結果から、自然環境で寒冷気候の北海道ではウマは高い基礎代謝によって生存に必要な恒常性を保っていることを明らかにした。また、長日処理 (LS) によって北海道で一歳馬の成長と性腺発達における遅滞を宮崎群での育成と同等に改善した。

審 査 結 果 の 要 旨

1. ウマの全サイロキシシン (T4) の新たな測定法の確立

ウマの総 T4 を正確に測定するために、結合タンパク質からの分離が容易であり、信頼できる良い感度の測定法を開発することを目的しておこなった。酢酸ナトリウムアルコール法で測定した一歳馬の総 T4 は 209.17 ± 15.05 ng/ml であり、発情休止期の雌ウマの値

(34.92 ± 13.69 ng/ml)の約6倍であった。気候が異なる北海道と宮崎の一歳馬のT4を比較したところ、北海道群が高い傾向を示し、本測定法が成長や気候の違いによる生理学的差を検出する信頼できる測定法であることを示していた。

2. 南北の自然気候によるサラブレッド種一歳馬の代謝及び生殖内分泌学的機能の比較

一歳馬の体成長、代謝、生殖ホルモンを異なる生育気候の間で比較した。成長の指標として、体重、体高、胸囲、管囲を測定した。換毛も目視で観察記録した。末梢血液中総T4、インシュリン様成長因子1、プロラクチン(PRL)、インヒビンとコルチゾル、エストラジオール- 17β (E2)、プロジェステロン(P4)、テストステロン(T)を測定した。換毛指標は4月の時点で北海道群が明らかに宮崎群より低かった。日本の南北の気候の差が一歳馬の成長と繁殖機能の発育初期に影響していると判断された。

3. 南北の異なる気候下で飼養されたサラブレッド種一歳馬における、代謝及び生殖内分泌学的機能に対する人工照明効果の比較

一歳馬の短日期（冬季）に長日処理(LS)の体成長、代謝、生殖ホルモンに対する効果を明らかにし、南北の気候による差を比較した。初排卵と精巣活性化が、北海道群、宮崎群ともに対照群より早期化した。北海道LS群の換毛指標は実験期間の終了時には宮崎群のレベルに達した。北海道LS群の末梢血中PRLとP4は宮崎群と同様のレベルに増加した。一歳馬においてもLS処置が成長と冬毛からの換毛を促進し、性腺機能の発達を早めることが示唆された。

上記のように申請者は、自然環境で寒冷気候の北海道ではウマは高い基礎代謝によって生存に必要な恒常性を保っていることが明らかにした。また、LSによって北海道での一歳馬の成長と性腺発達における遅滞を宮崎での育成と同等に改善することを明らかにし、ウマの育成技術の改善に非常に意義があるものと認める。

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充分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Sensitive radioimmunoassay of total thyroxine (T4) in horses using a simple extraction method

著 者 名 : Tangyuenyong, S., Nambo, Y., Nagaoka, K., Tanaka, T. and Watanabe, G.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : in press

- 2) 題 目 : Comparison of physical body growth, metabolic and reproductive endocrine functions between north and south climates of Japan in Thoroughbred trained yearling horses

著 者 名 : Tangyuenyong, S., Sato, F., Nambo, Y., Murase, H., Endo, Y., Tanaka, T., Nagaoka, K. and Watanabe, G.

学術雑誌名 : Journal of Equine Science

巻・号・頁・発行年 : in press