

氏名（本（国）籍）	Meihua ZHENG（中華人民共和国）
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539号
学位授与年月日	令和元年9月20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 the Effect of Sugar Cane Extrac Supplementation on Ovarian and Adrenal Function under Stress in Female Rats (ストレス下雌ラットにおける卵巣及び副腎機能に対す るサトウキビエキスの摂取の効果に関する研究)
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 柴 田 秀 史 副査 帯広畜産大学 教授 松 井 基 純 副査 岩 手 大 学 教授 高 橋 透 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

本研究ではまず、卵巣に黄体が無い春機発動前の雌ラットを用いて、暑熱ストレスがストレス反応系と生殖系、特に卵胞発育に与える影響を解析するモデルを確立した。ついで、このモデルを用いて、サトウキビエキス飼料添加投与による抗暑熱作用について解析した。

1. 暑熱ストレス解析モデルの確立：最も有効な暑熱ストレス条件の確認と暑熱ストレスの卵巣と副腎機能に及ぼす影響を明らかにするため、離乳後初排卵前で卵巣に黄体が無い性成熟前（生後21日齢）の雌ラットを38、40、42℃の暑熱に1日2時間、30日齢まで曝露した。その結果、42℃の暑熱を与えたラットで有意に低い血中LH濃度を確認し、遺伝子発現解析の結果ではStAR、ステロイド生合成酵素、ならびにLH、FSH、エストロゲンのレセプターの発現低下が確認された。また、血中コルチコステロン濃度上昇と副腎中のP450_{scc}の発現増加が確認された。これらの結果から、暑熱曝露が卵巣と副腎機能に影響し、42℃の暑熱が38℃と40℃に比べ、遺伝子発現とホルモン分泌に顕著な影響を及ぼすことが明らかとなった。

2. 42℃の暑熱が性成熟期に及ぼす影響：21日齢で離乳後、1日2時間42℃の暑熱曝露は、無処置対照群で膣の開口と正常な性周期回帰時期を遅延させた。また、血中コルチコステロン濃度を増加させた。さらに42℃の暑熱曝露は排卵直前の胞状卵胞数を減少させ、血中FSH濃度ならびに、卵巣中のFSHRとCYP17 α の遺伝子発現を低下させた。これ

らの結果から、暑熱暴露が卵巣中の卵胞の成熟を抑制し、卵巣機能を低下させることが示唆された。

3. サトウキビエキ스가卵巣機能に及ぼす影響：以上の結果に対して、予めサトウキビエキスを飼料に添加して与えたラットでは、対照群では膣開口時期が早まるものも見られたのに対して、暑熱暴露後では膣開口の遅延が認められなかった。また、性成熟後の雌ラットで対照群に比較して高い血中エストロゲン濃度を確認した。遺伝子発現解析の結果では、CYP17 α 、FSHR と ER α 発現の増加が性成熟前のラットで確認された。さらに高い血中 FSH 濃度と胞状卵胞数の増加が確認された。これらの結果から、サトウキビエキスの飼料添加が直接卵巣機能を高め、抗暑熱ストレス作用を示すことが示唆された。

4. サトウキビエキ스가副腎機能に及ぼす影響：サトウキビエキスを飼料に添加して摂取させた性成熟前と性成熟後のラットからは、いずれも対照群より高い血中コルチコステロンの濃度が確認された。性成熟前の雌ラットの副腎中には 3 β -HSD mRNA の発現が高いと確認された。これらの結果からサトウキビエキスは、副腎のステロイド産生細胞に直接作用し、暑熱ストレスに対して速やかにコルチコステロンを分泌することで、暑熱抵抗を高めることが示唆された。

結論として、性成熟前雌ラットへの暑熱曝露は、中枢に作用して、下垂体からの性腺刺激ホルモンの分泌を抑制し、その結果、卵巣にける卵胞の発育を抑制して、性成熟を遅延させると考えられた。また、サトウキビエキスを飼料に添加して摂取させることにより、暑熱暴露による抑制に対抗して卵巣と副腎機能を高めることができることが明らかとなった。従って、サトウキビエキスは飼料添加物として利用価値があると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、卵巣に黄体が無い春機発動前の雌ラットを用いて、暑熱ストレスがストレス反応系と生殖系、特に卵胞発育に与える影響を解析するモデルを確立し、このモデルを用いてサトウキビエキス飼料添加投与による抗暑熱作用について解析した。

まず、最も有効な暑熱ストレス条件の確認と暑熱ストレスの卵巣と副腎機能に及ぼす影響を明らかにするため、離乳後初排卵前で卵巣に黄体が無い性成熟前（生後 21 日齢）の雌ラットを 38, 40, 42℃の暑熱に 1 日 2 時間、30 日齢まで曝露した。その結果、42℃の暑熱暴露が卵巣と副腎機能に影響し、遺伝子発現とホルモン分泌に顕著な影響を及ぼすことが明らかにした。

次に、21 日齢で離乳後、1 日 2 時間 42℃の暑熱曝露が、無処置対照群で膣の開口と正常な性周期回帰時期を遅延させることを確認し、血中コルチコステロン濃度を増加させること、さらに胞状卵胞数を減少させ、血中 FSH 濃度ならびに、卵巣中の FSHR と CYP17 α の遺伝子発現を低下させたことから、暑熱暴露が卵巣中の卵胞の成熟を抑制し、卵巣機能を低下させること示唆した。

さらに予めサトウキビエキスを飼料に添加して与えたラットでは、対照群では膣開口時期が早まるものも見られたが、暑熱暴露後では膣開口の遅延が認められず、また、性成熟後の雌ラットで対照群に比較して高い血中エストロゲン濃度を確認した。遺伝子発現解析の結果では、CYP17 α 、FSHR と ER α 発現の増加が性成熟前のラットで確認され、さらに高い血中 FSH 濃度と胞状卵胞数の増加が確認された。これらの結果から、サトウキビエキスの飼料添加が直接卵巣機能を高め、抗暑熱ストレス作用を示すことを示唆した。サトウキビエキスを飼料に添加して摂取させた性成熟前と性成熟後のラットからは、いずれも対照群より高い血中コルチコステロンの濃度を確認した。性成熟前の雌ラットの副腎中には 3 β -HSD mRNA の発現が高く、サトウキビエキスは、副腎のステロイド産生細胞に直接作

用し、暑熱ストレスに対して速やかにコルチコステロンを分泌することで、暑熱抵抗を高めることを示唆した。

上記のように申請者は、性成熟前雌ラットへの暑熱曝露は、中枢に作用して、下垂体からの性腺刺激ホルモンの分泌を抑制し、その結果、卵巣にける卵胞の発育を抑制して、性成熟を遅延させると考えた。また、サトウキビエキスを飼料に添加して摂取させることにより、暑熱曝露による抑制に対抗して卵巣と副腎機能を高めることができることが明らかとなった。従って、サトウキビエキスは飼料添加物として利用価値があると考えられた。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 : Pre-pubertal exposure to high temperature impairs ovarian and Adrenal gland function in female rats
著 者 名 : Zheng M., Nagaoka K. and Watanabe G.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 81 (2) : 279 - 286, 2019

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Male hatano low-avoidance rats show more active sexual behavior with lower plasma testosterone than high-avoidance rats
著 者 名 : Nakayama, A., Okawa, H., Zheng, M., Pu, S., Watanabe, G., Ohta, R. and Kawaguchi, M
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 80 (7) : 1179 - 1182, 2018