

氏 名 (本 籍)	し 清	みず 水	たかし 隆 (群 馬 県)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 2526 号		
学位授与年月日	平成 13 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	農学研究科		
学 位 論 文 題 目	暑熱ストレスに起因する雌家畜性腺機能低下の発症機序に関する研究		
主 査	筑波大学教授	農学博士	金 井 幸 雄
副 査	筑波大学教授	農学博士	河 野 義 明
副 査	筑波大学助教授	P h . D .	田 島 淳 史
副 査	筑波大学助教授	農学博士	宮 崎 均

論 文 の 内 容 の 要 旨

暑熱ストレスは卵胞発育を阻害し、卵胞からのエストロゲン (E) 分泌を抑制する。このような暑熱ストレスに起因する雌家畜の性腺機能低下は、わが国の西南暖地および熱帯・亜熱帯地域における動物生産を阻害する重要な問題として取り上げられているが、暑熱ストレスがどのような機序を介して卵胞発育を阻害するかについては不明である。すなわち、暑熱ストレスによる卵胞発育阻害は、一般には卵巢機能を第一義的に支配する視床下部－下垂体系からのGTH分泌の減少によって考えられているが、これを支持する実験的証拠は必ずしも十分ではない。また、卵胞発育の諸過程には卵胞の動員および選抜という複雑な機構が存在するが、暑熱ストレスによる卵胞発育阻害をこれら動員・選抜機構と関連づけて解析した研究は極めて乏しい。このような背景を踏まえ、本研究では、i) 暑熱ストレスは視床下部－下垂体－卵巢軸の内分泌応答をどのように干渉するのか（卵巢機能低下の内分泌学的機序）、ii) 暑熱ストレスは卵胞の動員および選抜過程をどのように阻害するのか（卵胞発育阻害の生理学的機序）を解析し、暑熱ストレスによる雌家畜性腺機能低下の発症機序を明らかにしようとした。

1. 卵巢機能低下の内分泌学的機序について

まず、卵巢摘出ヤギに規定量の卵巢ステロイドホルモンを移植あるいは注入して視床下部－下垂体系へのステロイド入力を一定にした実験系を用い、下垂体GTH分泌に対する暑熱ストレスの影響について調べた。その結果、ステロイドホルモン移植前、Eの単独移植、Eとプロゲステロンの同時移植のいずれにおいても、LHのパルス状分泌は対照区と暑熱区で差がないこと、また、Eの連続注入によって成立するLHサージについても、その出現時期およびピーク時平均濃度には対照区と暑熱区の間で差がないことを示した。次に、長日処理によって内因性のGnRH/LH分泌を不活化したヤギを用い、低用量GnRHの間欠的投与により人為的に誘発したLHパルスに対する卵巢反応を解析した。その結果、対照区ではLHパルスの出現によって、速やかに血中E濃度の上昇とLHサージおよび排卵が誘起されたのに対し、暑熱区ではGnRH投与後の活発なLH分泌にも拘わらず、血中E濃度の上昇と排卵が著しく抑制されることを認めた。

2. 卵胞発育阻害の生理学的機序について

まず、過排卵処理により卵胞発育を同期化した未成熟ラットに暑熱ストレスを負荷し、卵胞発育阻害の解析モ

デルとしての適用性について検討した。その結果、暑熱区では排卵数が対照区の半数に減少すること、また、PMSGによって発育相に動員される卵胞数には顕著な差がなく、暑熱区では胞状卵胞の閉鎖率が有意に増加することを認め、この実験モデルが有用であることを示した。次いで、卵胞発育に必要な幾つかの卵胞内因子を取り上げ、それらの因子の動態が暑熱ストレスでどのように変化するのか、また、暑熱ストレス下で動員された卵胞顆粒層細胞のアポトーシス感受性について比較検討した。その結果、対照区では卵胞発育に伴って顆粒層細胞中のFSHレセプターおよびアロマトーゼ活性が顕著に増加し、これと並行して卵胞のE合成能が増加するのに対し、暑熱区ではFSHレセプターの発現が抑制され、卵胞発育に伴うE合成能の獲得が強く抑制された。また、発育途上の胞状卵胞を体外培養下で人為的に閉鎖に導いたところ、対照区では培養18時間後にアポトーシス細胞の顕著な増加が観察されたのに対し、暑熱区では培養後直ちにアポトーシスが進行し、アポトーシスの証左となるDNAの断片化も暑熱区で有意に増加した。さらに、このようなアポトーシスに対する感受性は、初期胞状卵胞よりも胞状および前排卵卵胞と発育段階が進むにつれて高くなった。

以上の結果から、暑熱ストレスによる性腺機能低下の発症原因は、視床下部一下垂体からのGTH分泌の減少を介さない卵胞の発育阻害であること、暑熱ストレスは卵胞の選抜過程における卵胞閉鎖を促進すること、この卵胞閉鎖促進の一因はFSHレセプターの減少による顆粒層細胞のアポトーシス感受性亢進にあることが明らかになった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

暑熱ストレスに起因する雌家畜の性腺機能低下は、他の要因による性腺機能低下、すなわち季節性無発情、泌乳性無発情および栄養性無発情と同様に視床下部一下垂体系の不活化によるものと類推されていた。本論文は、このような考えを支持する実験的証左が必ずしも十分でないことに着目し、独自の実験的アプローチ、すなわち、生殖内分泌系を視床下部一下垂体系（中枢）と卵巢（末梢）とに分割した二つの動物実験モデルを採用することにより、生殖内分泌系に対する暑熱ストレスの作用経路が下垂体GTH分泌阻害を介さないものであることを実証した。また暑熱ストレスに起因する性腺機能低下を卵胞発育および顆粒層細胞のアポトーシスと関連づけて解析することにより、暑熱ストレスが卵胞閉鎖を促進すること、その一因がFSHレセプターの減少およびエストロゲン産生能の低下に基づく顆粒層細胞のアポトーシス感受性の増加にあることを明らかにした。これらはいずれも家畜繁殖学領域の新知見であり、高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。