

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 Study on reproductive performance of dairy cows in Afghanistan and on hypothalamic regulator of reproduction in mammals
(ウシの繁殖成績向上に資するアフガニスタンにおける乳牛の現状調査および哺乳類の視床下部生殖中枢制御因子の探索)

氏名 Assadullah

論文内容の要旨

世界では年間 6800 万トンもの牛肉や 8 億トンもの牛乳が生産されているが、今後新興国の経済発展に伴い、その需要はさらに増加すると見込まれる。しかしながら、家畜の生産現場では、近年ウシの初回受胎率の低下ひいては分娩間隔の長期化が世界的に問題となっている。効率的に家畜を生産するには、各地域に特有の生産現場における課題の把握、および新たな生殖機能制御技術を開発し、母ウシの受胎率を向上させ、分娩間隔を短くする必要がある。

本学位論文では、著者の母国アフガニスタンにおける家畜生産の向上を目的とし、交雑牛の繁殖成績の現状と課題を調査することを第一の目的とした。さらに、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) /ゴナドトロピン分泌を制御する生殖中枢として注目されるキスペプチンニューロンへの新たな上位制御因子を明らかにすることを目的とし、哺乳類のモデルとしてラットを用い、キスペプチンニューロンに発現する新たな受容体を探索し、その受容体の発現と内因性リガンドの生理機能を検討した。

第二章では、アフガニスタンにおける乳牛の効率的な生産に資するため、アフガニスタン、ジャララバード地域において乳用として飼養されている交雑牛における繁殖成績、ボディコンディションスコア (BCS)、繁殖障害の有無とその発生状況、飼料の種類を調査した。ジャララバード地域の 7 軒の酪農家が飼養している 144 頭の繁殖用交雑牛の平均年齢は 5 年 (最少齢 1.5 年、最高齢 14 年) であった。BCS は、良好な飼育状態を示すスコア 3 に該当するウシが 73 頭と最も多く、次いで軽度の痩せを示すスコア 2 が 60 頭、痩せを示すスコア 1 が 9 頭、軽度の肥満を示すスコア 4 が 2 頭であった。また、144 頭中 55.6%のウシが何らかの繁殖障害を有していた。主要な繁殖障害は、無発情が 20.1%、子宮炎が 9.0%、リピートブリーダーが 5.6%であった。また、8 年齢にもかかわらず、一度も出産経験がない未経産のウシが 3 頭存在した。スコア 3 のウシと比較して、スコア 1 のウシでは、有意に多く無発情が起きていた。

ウシの飼料調査では、麦わらのみによる飼育、または干し草、麦わらと濃厚飼料の混合による飼育のいずれかであることが明らかとなった。麦わらのみにより飼育されているウシは、干し草、麦わら、濃厚飼料飼育個体に比べ、BCSが低い傾向がみられた。これらの結果より、今後飼料を改善することにより、アフガニスタンの交雑牛における繁殖成績を向上できる可能性が示唆された。アフガニスタンでは、農業が主要な産業であり、そのうちウシのミルク、肉生産が、国民収入の大きな部分を占めるものの、生産現場の実態調査結果は皆無であった。本研究は、ウシの生産現場における課題解決のための、重要な成果となる。

第三章では、哺乳類のモデルとしてラットを用い、弓状核のキスペプチンニューロンを上位から制御する因子を探索することを目的とした。哺乳類の繁殖は、視床下部-下垂体-性腺軸によって制御されている。視床下部に存在する GnRH ニューロンから、分泌される GnRH は、下垂体からのゴナドトロピン（黄体形成ホルモン：LH、卵胞刺激ホルモン：FSH）分泌を制御する。ゴナドトロピンは、卵巣に作用し、卵胞の発育や排卵を調節するとともに、卵胞からのエストロジェンの分泌を制御する。エストロジェンは、視床下部に作用（フィードバック）し上位のホルモン分泌を調節している。視床下部において、弓状核のキスペプチンニューロンは、エストロジェンのネガティブフィードバック作用を仲介し、GnRH/ゴナドトロピンのパルス状分泌を司る卵胞発育中枢であると考えられており、前腹側室周囲核のキスペプチンニューロンは、エストロジェンのポジティブフィードバックを仲介し、GnRH/LH のサージ状分泌を司る排卵中枢であると考えられている。GnRH/ゴナドトロピン分泌は、栄養、日長、暑熱などの様々な環境要因によって影響を受けることが報告されている。低栄養や暑熱などのストレスは GnRH/ゴナドトロピン分泌を抑制して、繁殖障害を引き起こし、受胎率の低下の一因となり、家畜の生産性を大きく低下させる要因となっている。生殖中枢であるキスペプチンニューロンに対する、新たな制御因子を解明する事ができれば、それらの知見を家畜の生産性の向上に資することが可能となる。

著者は、赤色蛍光タンパク質によりキスペプチンニューロンを可視化したラットから単離した弓状核 *Kiss1* 発現細胞の RNA-seq データを用いて、弓状核 *Kiss1* 発現細胞に特異的に高く発現する G タンパク共役型受容体を探索した。その結果、カルシトニン受容体 (*Calcr*) mRNA が高発現していることを見出した。そこで、卵巣除去後、低濃度エストロジェン処置を施した雌ラットをモデルとして用い、その脳内における *Calcr* mRNA の局在を *in situ hybridization* によって解析した。その結果、弓状核、前腹側室周囲核、視索前野、視床下部背内側核において、*Calcr* 発現細胞が認められた。また、側脳室や第三脳室に隣接する脳領域においても *Calcr* 発現細胞の局在が認められた。弓状核および前腹側室周囲核において、*Calcr* および *Kiss1* 発現細胞の共局在を *double in situ hybridization* によって解析したところ、弓状核では 12%の *Kiss1* 発現細胞が、前腹側室周囲核では 22%の *Kiss1* 発現細胞が *Calcr* を発現していた。これらの結果から、弓状核および前腹側室周囲核のキスペプチンニューロンにおいて、カルシトニン受容体シグナリングが GnRH のパルスまたはサージ分泌の制御に

関与している可能性が示唆された。

第四章では、第三章において明らかになったキスペプチンニューロンにおけるカルシトニン受容体シグナリングが生殖機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、卵巣除去後、低濃度エストロゲン処置を施した雌ラットをモデルとして、アミリン投与が LH 分泌に及ぼす効果を検討した。アミリンは、カルシトニン受容体の内因性リガンドの一つであり、脳内においてその発現が報告されている。アミリンを雌ラットの弓状核に投与し、パルス状 LH 分泌に及ぼす影響を検討した。アミリンを投与後、6 分間隔で 3 時間、血液を採取し、ラジオイムノアッセイにより血漿中 LH 濃度を測定した。アミリンを投与した雌ラットはいずれも正常な LH パルスを示した。アミリン投与により、平均 LH 濃度、LH パルスの基底値、LH パルス頻度は、溶媒投与対照群と比較し上昇傾向がみられたが、有意な差は得られなかった。これらのことより、アミリンは弓状核キスペプチンニューロンに作用し、GnRH/LH 分泌を促進する可能性があるが、その効果およびメカニズムについては、今後さらなる解析が必要であると結論づけた。

本研究により、初めてアフガニスタンにおける乳牛の繁殖における現状が明らかになり、飼料を改善することで家畜生産が向上できる可能性が示唆された。さらに、哺乳類においてカルシトニン受容体シグナルが、キスペプチンニューロンを上位から制御する因子として機能している可能性が示唆された。カルシトニン受容体は、妊娠後期から泌乳期におけるカルシウムイオンの代謝に関わる主要なホルモン受容体である。カルシトニン受容体を介した生殖中枢メカニズムの解明は、泌乳初期における繁殖成績の向上、ひいては効率的な家畜生産に資することが期待される。