

氏名	ジン ジン 金 金
本籍（国籍）	中国
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 602 号
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
学位論文題目	日長によるヤギの成長ホルモン（GH）とプロラクチン（PRL） 分泌修飾に関する研究（Studies on the effects of photoperiod on the secretory pattern of growth hormone(GH) and prolactin(PRL) in goats)
学位審査委員	主査 教授 橋爪 力 副査 准教授 澤井 健 副査 教授 鈴木 裕之 副査 教授 桑山 秀人

論文の内容の要旨

本研究は、家畜生産に重要な成長ホルモン(GH)分泌の日長による修飾現象やその修飾機序を、プロラクチン(PRL)分泌の変化と対比しながらシバヤギを用いて明らかにしようとした。

初めに、日長変化に伴う明期(昼間)における雌ヤギの血中 GH 及び PRL の分泌特性をしらべた。実験は 20℃下の人工気象室内で、日長を短日(8 時間明:16 時間暗)から長日(16 時間明:8 時間暗)に変化させホルモンの分泌パターンを比較した。雌ヤギの GH の分泌パターンは長日期及び短日期とも不規則なパルス状分泌パターンを示した。短日期と長日期で GH パルスの頻度には有意差は見られなかったが、GH パルスの振幅は長日期の方が短日期に比べ大きくなる傾向が見られ($P=0.1$)、平均 GH 濃度は高くなった($P<0.05$)。また平均 PRL 濃度も、短日期より長日期の方が高くなった($P<0.05$)。両期に成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)と甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)を投与すると、GH 放出反応と PRL 放出反応は短日期より長日期の方が高かった($P<0.05$)。これらの結果から、日長を延長させると昼間の GH と PRL 分泌は共に亢進することが明らかになった。また GH の亢進は主にパルス振幅の増加に伴う GH 濃度の上昇であることが分かった。

日長が明期(昼間)における GH 分泌を修飾することが分かったので、次に日長が暗期(夜間)における雌ヤギの GH 分泌に及ぼす影響を PRL 分泌の変化と共にしらべた。短日期と長日期で GH パルスの頻度には有意差は見られなかったが、GH パルスの振幅は長日期が短日期に比べ大きくなる傾向が見られ($P=0.1$)、平均 GH 濃度は有意に高くなった($P<0.05$)。平均 PRL 濃度は、短日期より長日期の方が高かった($P<0.05$)。消灯後 PRL 濃度は短日期で上昇する傾向が見られ、長日期では

消灯後有意に上昇した($P < 0.05$)。消灯直後のこのような反応は GH では見られなかった。これらの結果から、雌ヤギの光に対する夜間の GH 分泌反応は PRL のように明瞭ではないが、長日条件は昼間と同様に、夜間でも GH 分泌を高めることが初めて明らかになった。

長日条件下でヤギを飼養し、メラトニン(MEL)または生理食塩水(生食)を 3 週間経口投与して MEL が GH と PRL 分泌に及ぼす影響をしらべた。MEL 投与区と生食区で GH パルスの頻度には有意差は見られなかったが、GH パルスの振幅と平均 GH 濃度は MEL 投与区の方が生食投与区より低くなった($P < 0.05$)。同様に MEL 投与区の平均 PRL 濃度は生食区より低かった($P < 0.05$)。両区に GHRH と TRH を投与すると、GH 放出反応と PRL 放出反応は MEL 区より生食投与区の方が高かった($P < 0.05$)。これらの結果から、MEL 処理は GH と PRL の分泌を低下させることが初めて分かり、MEL は GH と PRL の分泌修飾に密接に関わっていることが明らかになった。

日長が雌ヤギの GH 分泌を修飾することが分かったので、雄ヤギでも日長が GH 分泌を修飾させるかどうかしらべた。成熟雄ヤギを雌と同様に短日及び長日条件下で飼養し、明期の GH 分泌パターンをしらべた。また日長変化に伴う GH 分泌の特徴を明確にするために、血中の PRL、インスリン様成長因子-I (IGF-I)及びテストステロン(T)濃度の変化もしらべた。雄ヤギでも GH の分泌パターンは不規則なパルス状分泌パターンを示した。短日期と長日期で GH パルスの頻度には有意差は見られなかったが、GH パルスの振幅は長日期の方が短日期に比べ大きくなる傾向が見られ($P = 0.1$)、平均 GH 濃度は高くなった($P < 0.05$)。GHRH に対する反応は短日期より長日期の方が大きかったが($P < 0.05$)、成長ホルモン放出ペプチド-2(GHRP-2)による GH の放出反応には有意な変化は見られなかった。PRL と IGF-I 濃度は長日期の方が短日期に比べ高かったが($P < 0.05$)、T 濃度は長日期の方が低かった($P < 0.05$)。これらの結果から、雄ヤギにおいても、雌ヤギと同様に長日条件は PRL と共に GH 分泌を高めることが初めて明らかになった。また IGF-I 濃度は長日条件で高まるが、T 濃度は低くなることも明らかになった。

最後に、視床下部内のドーパミン(DA)がヤギの GH と PRL 分泌に及ぼす影響を明らかにするために、視床下部内 DA 含量を変化させた時の GHRH 及び GHRP-2 により誘起される GH 放出反応と Salsolinol(SAL)及び TRH により誘起される PRL 放出反応をしらべた。実験は長日条件下で行い、視床下部内の DA 含量は Carbidopa (Carbi)と L-dopa 処理により増加させた。Carbi と L-dopa を投与すると血漿中 GH 濃度は減少した($P < 0.05$)。また、GHRH の投与により誘起された GH 放出反応は Carbi と L-dopa 投与によって有意に抑制された($P < 0.05$)。しかし、GHRP-2 の投与により誘起された GH 放出反応には影響は見られなかった。Carbi と L-dopa を投与すると PRL 放出量は対照区に比べ有意に減少した($P < 0.05$)。SAL と TRH により誘起された PRL 放出も Carbi と L-dopa 投与により有意に抑制された($P < 0.05$)。これらの結果から、ヤギにおいて長日期に視床下部内 DA 含量を変化させると GH と PRL 分泌が修飾されることが明らかになった。

以上、本研究は家畜生産に重要な GH の分泌が日長により修飾されることを PRL 分泌の変化と対比しながら体系的にヤギで示し、反芻家畜の生産生理に新たな知見を加えた。また、本研究は、日長を人為的に支配することにより、反芻家畜の生産性を向上させる新しい技術開発などの突破口を切

り開き、本研究で得られた知見を、乳牛では泌乳量の増加、肉牛では増体効率を高める技術開発などに応用できる可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

反芻家畜における成長ホルモン(GH)の分泌パターンの日長による修飾現象やその機序については、プロラクチン(PRL)のようにまだ明快な結論が得られていなかった。本研究は、反芻家畜のGHの日長による修飾現象を明確にするために、シバヤギを人工気象室内で飼養し、日長を変化させたときのGH分泌パターンの変化を、PRLの変化と対比しながら一連の実験を行った。その結果、雌ヤギでは、GHパルス頻度には明期(昼間)と暗期(夜間)とも日長による影響は見られないが、GHパルスの振幅は昼夜を問わず長日期の方が短日期に比べ大きくなり、長日期の平均GH濃度は高まることを明らかにした。このGH濃度の上昇変化は、PRLに見られるような顕著な変化でないことも明らかにした。また成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)により誘起されるGH放出反応は、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)によるPRL放出反応のように顕著ではないが、短日期より長日期の方が高くなることも明らかにした。日長のシグナルは松果体から分泌されるメラトニン(MEL)と関係することが考えられるので、長日条件下でMELを投与して、同様の実験を行った。その結果、MELを投与するとGHもPRLも短日期と同様の結果が得られることが分かり、日長によるGHとPRL分泌パターンの変化にはMELが深く関わっていることを明らかにした。また、消灯直後には長日期にPRLが顕著に上昇するが、このような変化はGHでは見られないことも明らかにした。日長によるGH分泌修飾の性差を明らかにするために、雄ヤギでも実験を行ったが、雌ヤギと同様の結果が得られることを明らかにした。最後に、視床下部内のドーパミン(DA)の影響をしらべた結果、ヤギにおいて長日期に視床下部内のDA含量が変化するとGHとPRLの分泌が修飾されることが分かり、DAも日長変化によるこれらのホルモン分泌機構と関係していることを明らかにした。

本研究はこのように、家畜生産に重要なGHの分泌が日長により修飾されることをPRL分泌の変化と対比しながら体系的にヤギで示し、反芻家畜の生産生理に新たな知見を加えた。これらの研究成果は、日長を人為的に支配しGH分泌を高めることにより、反芻家畜の生産性を向上させる新しい技術開発を行うための突破口を切り開いたもので、高く評価される。よって、本審査委員会は本論文を博士(農学)の学位論文として十分に価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

(主論文)

1. [Jin J.](#), Yaegashi T., Sawai K., Hashizume T. (2012)
Effects of photoperiod on the secretion of growth hormone in female goats. *Animal Science Journal* 83: 610-616.
2. [Jin J.](#), Yaegashi T., Hashizume T. (2013)
Effects of photoperiod on the secretion of growth hormone and prolactin during nighttime in female goats. *Animal Science Journal* 84: 130-135.
3. [Jin J.](#), Sawai K., Hashizume T. (2013)
Effects of photoperiod on the secretory pattern of growth hormone in adult male goats. *Animal Science Journal* 84:790-797.

4. Jin J., Hara S., Sawai K., Fülöp F., Nagy G.M., Hashizume T. (2013)
Effects of hypothalamic dopamine (DA) on salsolinol (SAL)-induced prolactin (PRL) secretion in male goats. *Animal Science Journal* (in press)
doi: 10/1111/asj.12157.

(参考論文)

1. Ezzat Ahmed A., Saito H., Sawada T., Yaegashi T., Goto Y., Nakajima Y., Jin J., Yamashita T., Sawai K., Hashizume T. (2010)
The role of sexual steroid hormones in the direct stimulation by kisspeptin-10 of the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin from bovine anterior pituitary cells. *Animal Reproduction Science* 121: 267-272.
2. Hashizume T., Sawada T., Yaegashi T., Saito H., Ezzat Ahmed A., Goto Y., Nakajima Y., Jin J., Kasuya E., Nagy G.M. (2010)
Characteristics of prolactin-releasing response to salsolinol in vivo in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 39: 21-25.
3. Ezzat Ahmed A., Saito H., Sawada T., Yaegashi T., Jin J., Sawai K., Yamashita T., Hashizume T. (2011)
Sex steroid hormones do not enhance the direct stimulatory effect of kisspeptin-10 on the secretion of growth hormone from bovine anterior pituitary cells. *Animal Science Journal* 82: 73-77.
4. 澤田 建, 中嶋 侑佳, 八重樫 朋祥, 斉藤 隼人, 後藤 由希, 金 金, 澤井 健, Fülöp F., Nagy G.M., 橋爪 力 (2011)
雄ヤギにおけるサルソリノールによるプロラクチン放出反応. *東北畜産学会報* 60: 116-122.
5. 後藤 由希, 斉藤 隼人, 金 金, 平田 統一, 澤井 健, 橋爪 力 (2012)
Kisspeptin-10 の成熟雌牛の黄体形成ホルモンおよび卵胞刺激ホルモン放出作用. *東北畜産学会報* 61: 47-54.
6. Hashizume T., Sawada T., Nakajima Y., Yaegashi T., Saito H., Goto Y., Jin J., Fülöp F., Nagy G.M. (2012)
Bromocriptine inhibits salsolinol-induced prolactin release in male goats. *Animal Science Journal* 83: 63-67.
7. Saito H., Sawada T., Yaegashi T., Goto Y., Jin J., Sawai K., Hashizume T. (2012)
Kisspeptin-10 stimulates the release of luteinizing hormone and testosterone pre- and post-pubertal male goats. *Animal Science Journal* 83: 487-492.
8. Yaegashi T., Jin J., Sawada T., Saito H., Fülöp F., Nagy G.M. Hashizume T. (2012)
Effects of photoperiod on salsolinol-induced prolactin secretion in goats. *Animal Science Journal* 83:418-425.
9. Hashizume T., Yaegashi T., Jin J., Sawai K., Fülöp F., Nagy G.M. (2013)
Effects of melatonin on salsolinol-induced prolactin secretion in goats. *Animal Science Journal* 84: 334-340.