

氏 名(本籍) ^{あか}赤 ^{ざわ}沢 ^{のり}典 ^こ子

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 332 号

学位授与年月日 昭和 62 年 3 月 12 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 ビタミンE欠乏の内分泌機能に及ぼす影響に関する研究—ビタミンE欠乏ラット
の下垂体・性腺系の機能—

論文審査委員 (主 査)

教授 木村 修 一 教授 安 元 健

教授 藤本健四郎

論文内容要旨

序 論

ビタミンE (VE) は1922年、Evans とBishopによって抗不妊性ビタミンとして発見されて以来、性機能との関係が特に注目されてきたが、その生理機構についてはいまだ十分に明らかでない。すなわちVE欠乏によって、下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン分泌細胞は肥大し、去勢初期の変化を示すが、同時に、精巣は萎縮し、精細管の退行変性がおこることが知られている。しかし、このようなVE欠乏下における下垂体と精巣の変化の原因とその間の関連性や、さらには副腎や甲状腺等の内分泌器官の機能との関係について検討した報告は少ない。

一方、VEの生理作用については生体抗酸化説が有力で、VE欠乏によって生体内では不飽和脂肪酸の酸化が加速され、種々の障害が起こることが知られている。またVEは生体内ではその大部分が生体膜中に存在しており、膜のリン脂質分子との結合により、生体膜の安定に役立ち、膜の機能と密接に関連して、その生理作用を発現していると考えられている。

本論文の目的は内分泌機能に及ぼすVE欠乏の影響を検討し、VEの生理機構の一部をVEの抗酸化性との関連で明らかにしようとするものである。

本研究では、まずVE欠乏ラットを作成し、その生理学的特性について、血清トコフェロール量、溶血率、生体内の過酸化脂質の量、肝臓におけるリポフスチン形成などの面から検討した。さらに、VE欠乏飼料に不飽和脂肪酸(PUFA)を多量に含ませた場合の影響について検討した(第一章)。また、第二章ではVE欠乏が副腎や甲状腺に及ぼす影響について検討し、VE欠乏によってこれらの内分泌器官の機能が大きく障害されていることを組織学的に確認した。第三章では、VE欠乏の下垂体・性腺系に及ぼす影響について明らかにするため、VE欠乏ラットの下垂体前葉と精巣および副生殖腺の形態学的変化について組織学的に検討した。その結果、VE欠乏ラットでは下垂体前葉の性腺刺激ホルモン分泌細胞は著しく肥大するが、精巣では精細管が著しい退行変性を示すことが認められた。これらの関係をホルモンの分泌の面から明らかにするために、第四章では下垂体の卵胞刺激ホルモンFollicle-stimulating hormone (FSH) と黄体形成ホルモンLuteinizing hormone (LH) 及び性ホルモン(テストステロン)の分泌状態の経時的変化について検討した。その結果VE欠乏による

精巣の変化は下垂体前葉の機能障害によるものではなく、VE欠乏が精巣に一次的に作用するものであることが示された。そこで、VE欠乏ラットの精巣における性腺刺激ホルモンに対するレセプターの数と感受性について検討し、その数の低下よりもレセプターの膜機能が変化している可能性を示唆する結果を得た。また、VE欠乏による生殖腺の退行変性が、VE欠乏による抗酸化作用の欠落とどれだけ関連しているかを知り「VEの抗酸化説」を確かめる一環として、第五章ではVE欠乏動物に合成抗酸化剤であるN,N'-diphenyl-p-phenylene diamine(DPPD)を給与して、その下垂体・生殖腺系に及ぼす影響について検討した。

第一章 ビタミンE欠乏動物の作成とその生理学的ならびに組織学的変化

VEの生理作用は、生体内において脂質の過酸化を抑制して過酸化脂質の生成を防止し、生体の膜系を安定化することによって組織の代謝機能を維持し、ひいては老化の予防に役立つと言われている。すなわちVE欠乏動物では、生体内に過酸化脂質が増加し、それはリポスチン等の螢光色素として細胞に沈着される。特に動物に不飽和脂肪酸(PUFA)を多く与える場合には、それだけ多くのVEが必要になるわけで、VEが不足すれば直ちに過酸化脂質が蓄積されることが考えられる。

本章では、VE欠乏ラットの作成条件とその診断基準を検討する目的で、ラットをVE欠乏飼料で飼育した場合と、さらに、それにPUFAとしてリノール酸を付加した場合について、VE欠乏の指標としての血清 α -トコフェロール量や溶血率、および血中および組織の過酸化脂質の量がどのように変化するかを検討した。また同時にリポスチンの出現についても組織学的に観察した。さらにこれらのラットの肝細胞の組織学的変化および酸性フォスファターゼ(ACP)反応やパーオキシターゼ(PO)反応を観察した。得られた結果は、次のとおりである。

1. 血中トコフェロール量と溶血率(表1)

VE欠乏食の給与によって血清中のトコフェロール量は著しく減少した。ま

た、同時に多量のリノール酸を給与すると、その量はさらに著しく減少した。このことは溶血率にもみられ、V E 欠乏ラットで著しく増加した。

2. 血中および組織の過酸化脂質 (表 2)

血中の過酸化脂質は V E 投与群では PUFA を給与しても増加しないが、V E 欠乏群では、対照群の約 2 倍、また V E 欠乏に PUFA を給与すると約 5 倍に増加した。組織の過酸化脂質の量は血中のそれと同様の傾向を示した。肝臓中の過酸化脂質は V E 欠乏によって増加し、特に V E 欠乏群に PUFA を給与すると、対照群の 10 倍以上の高い値を示した。精巣の過酸化脂質は V E 欠乏によって増加し、V E 欠乏に PUFA を給与すると正常の 2 倍以上の値を示した。

この研究において V E を少量与えたものでは、PUFA を多量に与えると、血中の V E を低下させ、多くの組織で過酸化脂質が蓄積されることが明らかになった。特に V E 欠乏動物では、少量の PUFA を含む飼料で飼育しても、組織に過酸化脂質が蓄積するが、多量の PUFA を与えるとその蓄積量は倍加した。これらのことから、V E は組織における PUFA の過酸化を直接防止しているものと考えられる。

3. 組織に於けるリポフスチンの形成とパーオキシゾーム

V E 欠乏動物の組織にリポフスチン顆粒が出現することは、Martin らが報告して以来、多くの研究者により各種の組織において確認されており、V E 欠乏の指標にもなっている。本実験に於いても肝臓組織や、後述するように、精巣、甲状腺、副腎にも多数のリポフスチンの出現が認められた。

リポフスチンは、光学顕微鏡的には PAS 陽性の蛍光を発する色素顆粒であるが、電子顕微鏡的所見によれば、単一の膜で囲まれた多様形の小体をなし、その内容は電子密度の高い顆粒状の物質と、明るいうりポイド滴を含み、またしばしば細胞膜の破砕物や層板状構造物などを含む。この構造は細胞小器官であるライソゾームの一型であり、ライソゾーム酵素である酸性フォスファターゼ (ACP) を含むことが今回組織化学的に証明された。

今回の研究において V E 欠乏ラットの肝臓では ACP 陽性のライソゾームの著しい集積が認められた。また V E 欠乏ラットにリノール酸を給与した場合は、これらのライソゾーム (リポフスチン) は更に増加した。リポフスチンは細胞

内リポイドの過酸化の最終産物と考えられるが、その形成機序については、細胞中に取り込まれた不飽和脂肪酸が、抗酸化剤であるVEの欠乏によって過酸化を受け、これがタンパクのアミノ酸残基や核酸に由来するシッフ塩基などと結合して濃縮したものと考えられる。一方、VE欠乏ラットの肝細胞ではパーオキシターゼ(PO)陽性のパーオキシゾームが著しく増加した。さらにVE欠乏ラットにリノール酸を投与するとその増加が顕著であった。このことは、細胞内に過剰に蓄積する不飽和脂肪酸の増加に対するひとつの適応としてパーオキシターゼなどの酵素が増加したものと考えられる。リポフスチンの蓄積はこれが著しく大量になると、細胞代謝に影響を与えるものと考えられる。今回の実験でVE欠乏ラット、特にVE欠乏にリノール酸を給与したラットの肝臓は高度の機能障害を思わせる像を呈した。このことは血中の過酸化脂質の増加などにも反映しているものと思われる。

第二章 ビタミンE欠乏動物の内分泌器官特に副腎と甲状腺の組織学的変化

VE欠乏は下垂体・性腺系の機能に障害を与えることが知られているが、他の内分泌腺の機能にどのような影響を与えるかについてはいまだ十分に明らかにされていない。本章ではVE欠乏ラット及びVE欠乏にPUFAを添加したラットについて副腎皮質、甲状腺及び下垂体前葉の組織学的変化について検討した。

1. 副腎皮質の細胞学的変化

VE欠乏ラットでは副腎皮質の束状帯は萎縮し、細胞質はほとんど肥大したミトコンドリアと大型リポイド滴で占められ、滑面小胞体は著しく減少した。核周部にライソゾームが増加した。リノール酸を給与したラットではその変化は更に著明であった。VE欠乏やリノール酸を給与したラットの網状帯細胞は萎縮し、ほとんどすべての細胞にリポフスチン顆粒が出現した。リポフスチン顆粒はライソゾームとして出現し、これらがリポイド滴や細胞成分を取り込んで集合して形成されるという説を支持する結果を得た。以上のように、VE欠乏ラットの副腎皮質の微細構造について検討した結果、細胞の退行変性像、あるいは機能低下像を示すことが明らかになった。

2. 甲状腺の細胞学的変化

VE欠乏ラットの甲状腺の重量や濾胞上皮細胞の高さには著しい変化はなかったが、濾胞の直径は減少し、濾胞上皮細胞の配列が乱れ、濾胞腔内に脱落するものが認められた。また、VE欠乏ラットの濾胞上皮細胞では粗面小胞体の内腔が拡大し、ミトコンドリアは変性萎縮し、分泌顆粒や吸収胞（コロイド）が減少した。細胞質内には多量のリポフスチン顆粒が出現した。リノール酸を給与したVE欠乏ラットの甲状腺では上皮細胞の退行変性像は更に顕著で、リポフスチンとともにパーオキシゾームが増加した。

3. 下垂体前葉のACTH分泌細胞とTSH分泌細胞の変化

VE欠乏ラットの下垂体前葉のACTH細胞は肥大して顆粒を充満し、機能的な活性像を示した。これはVE欠乏による副腎皮質の機能低下を反映したネガティブ・フィードバックによるものと考えられる。また下垂体前葉のTSH分泌細胞は甲状腺摘出時における細胞の様相を呈した。このことは甲状腺の機能低下を反映するものと思われる。

第三章 ビタミンE欠乏ラットの下垂体及び精巣の組織学的変化

VE欠乏は下垂体・生殖腺系の機能に障害を与え、繁殖障害を起こすことが知られている。しかし、これらの変化の原因や関連性についてはいまだ十分に解明されていない。そこで本章ではラットを用いてVE欠乏における下垂体及び精巣の組織学的変化を光学及び電子顕微鏡を用いて検討し、VE欠乏による下垂体前葉と精巣の機能的関連を形態学的な面から検討した。

1. 下垂体前葉の組織学的変化 (Fig. 1, 2, 3, 4)

VE欠乏2ヶ月の下垂体前葉では、FSH分泌細胞が著明に増数、肥大し、ゴルジ装置や小胞体が発達した。VE欠乏3ヶ月では、FSH分泌細胞とLH分泌細胞はともに増数、肥大し、ゴルジ装置は環状を呈し、細胞質内には大小の液胞が出現し、去勢した時に観察されるいわゆる去勢細胞様の外観を呈した。

これらの変化は細胞の分泌機能が亢進していることを示すものと考えられるので、下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン分泌細胞はVE欠乏によってかえって活性化されているものと思われる。

2. 精巣の組織学的変化 (Fig. 5, 6, 7, 8)

VE欠乏2ヶ月の精巣では精子形成が認められたが、一部の精細管は萎縮し、精細胞の脱落変性が認められた。VE欠乏3ヶ月では精細管は著しく萎縮し、精母細胞以後の分化成熟が阻害され、精子形成が停止した。精細管内には大型の多核細胞が出現し、管腔は退化したセルトリ-氏細胞と思われる線維状の構造物で満たされた。間細胞はやや増加したが、小型であった。

VE欠乏群の前立腺では腺上皮細胞が扁平化し、管腔内に脱落するものが多く認められた。

以上のように、VE欠乏ラットでは下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン分泌細胞が増数、肥大して活性化しているにもかかわらず、精細管上皮に退行変化が認められていることから、精細管の退行変性は下垂体前葉の機能不全に基づくものではなく、VE欠乏の直接の影響と推測された。また下垂体前葉の活性化は精巣の退化によるネガティブ・フィードバックによることが示唆された。

第四章 下垂体・性腺系のホルモン分泌に及ぼすビタミンE欠乏の影響

VE欠乏動物の下垂体・生殖腺に及ぼす影響について組織学的に検討したところ、VE欠乏動物では下垂体前葉の性腺刺激ホルモン産生細胞は著しく肥大して活動的な様相を呈したので、VE欠乏は直接的に下垂体のホルモンの分泌活動を低下させるものではないと考えられた。

そこで本実験では、VE欠乏ラットの血清中の性腺刺激ホルモン(FSH, LH)および性ホルモン(テストステロン)を測定し、その経時的变化を明らかにしようとした。その結果、VE欠乏ラットにおいて下垂体前葉の性腺刺激ホルモン(FSH, LH)の分泌に著しい減少は認められなかった。そこで、性腺刺激ホルモンに対する精巣のライデッヒ細胞の受容体の反応性について検討するとともに、精巣のライデッヒ細胞におけるc-AMPの変動についても検討した。すなわち血

清中の FSHおよびLHはNIADDK kitを用いたラジオイムノアッセイ法によって測定した。精巣ライデッヒ細胞のLHレセプターの測定は、精巣をコラゲナーゼ処理を行って分画し、ラジオレセプターアッセイ法により行った。c-AMPは $[^{125}\text{I}]$ 2'-O-monosuccinyl adenosine 3':5'-cyclic mono phosphate tyrosyl methyl esterを用いて、ラジオイムノアッセイ法により測定した。その結果は次のようであった。

1. 血清中のLH,FSHおよびテストステロン含量。(表3)

VE欠乏ラットの血清中のLH含量は対照群ラットと同様に、実験初期には年齢とともに増加する傾向が認められた。対照群では実験開始後、105日をピークとして急激に減少したが、VE欠乏群ではLH上昇のピークの時期がVE添加群に比べて遅れて出現し、VE欠乏期間が長くなるにつれて、血清中のLHはVE添加群より高い値を示した。一方、血清中のFSH含量はVE欠乏が長期に及ぶと、VE添加群より有意に高い値を示した。血中のテストステロン量はVE添加群、VE欠乏群とも、最初の3ヶ月までは増加したが、その後、VE欠乏群ではテストステロンの急激な減少が認められ、対照群より常に低い値を示した。

この結果からVE欠乏によって、下垂体前葉からのLHやFSHの分泌量は増加するが、精巣からのテストステロンの分泌量は減少することが明らかになった。したがって下垂体の性腺刺激ホルモンの分泌の増加は精巣の障害からもたらされる性ホルモンの分泌不足によるネガティブ・フィードバックによるものと考えられる。このようなVE欠乏ラットの下垂体・性腺系の変化は、老齢ラットの老化現象と著しく類似しており、下垂体前葉ホルモンに対する精巣の感受性にも問題があるものと思われた。すなわちホルモンが標的器官に作用する場合、標的器官の細胞にあってホルモンと特異的に結合する物質はレセプターで、ホルモンの作用機構の第一はレセプターとの結合であると考えられている。そこで精巣におけるレセプターについて検討することにした。

2. 精巣ライデッヒ細胞のLHレセプター (図I)

VE欠乏ラットの精巣のライデッヒ細胞におけるLHに対するレセプターの数には著しい変化は認められなかったが、LHに対する結合定数(k_a)は有意に低下し、ライデッヒ細胞におけるLHに対するレセプターの親和性が低下しているこ

とが明らかになった。

3. ライデッヒ細胞におけるc-AMPの形成(表4)

ペプチドホルモンはレセプターと特異的に結合し、細胞内でアデニルサイクラーゼの活性化をおこし、これによってc-AMPが合成され、ホルモン信号を細胞内に伝える。そこで、精巣ライデッヒ細胞におけるc-AMPを測定した。

VE欠乏ラットの精巣ではc-AMPの形成はhCGを投与した条件下では有意に低いことが認められた。

これまでの成績からVE欠乏は直接的に生殖腺機能に障害を与え重要な生体膜機能のひとつと考えられるレセプターの親和性の低下やそれに伴うc-AMPの合成の低下などを通じて、間細胞内におけるホルモン合成に影響を及ぼすことが明らかになった。

第五章 ビタミン欠乏と抗酸化剤(DPPD)の下垂体・性腺系に及ぼす影響

VE欠乏症状の中には合成抗酸化剤の投与によってその欠乏症を予防することが可能なものがあることを示す報告がある。このことはVEの生理作用がその抗酸化性に関連していることを示す。そこで本実験では、下垂体・性腺系に及ぼすVE欠乏の影響が、VEの抗酸化作用の欠落によって説明し得るか否かを明らかにするため、VE欠乏飼料を与えたラットとVE欠乏食に0.03%の合成抗酸化剤(DPPD)を加えた飼料を与えたラットを用いて、下垂体前葉の性刺激ホルモン(FSHとLH)と性ホルモン(テストステロン)の濃度および精巣の性腺刺激ホルモン(FSHとLH)に対するレセプターの検討を行い、また下垂体と精巣について組織学的検討を加えた。その結果を列記すると、次のようであった。

1. VE欠乏ラットでは赤血球の溶血率は著しく高く、血中の過酸化脂質は有意に増加した。一方、DPPDの投与ラットではVE欠乏による溶血率の増加や、組織における過酸化脂質の増加がある程度防止されるたが、血清中の α -トコフェロール量は全く増加しなかった。(表5、表6)
2. VE欠乏ラットの下垂体前葉では性腺刺激ホルモン分泌細胞は肥大し、ゴルジー装置は発達して、活動的な分泌機能を示したが、精巣の精細管

や精母細胞に退行変性が認められた。これに対してDPPDを投与したVE欠乏ラットでは精巣の退行変化はいくぶん軽度であったが、DPPDの投与によって十分に回復されるということは認められなかった。

3. 下垂体及び血中のFSHやLH含量にはVE欠乏やDPPD投与による著しい変化は認められなかった。血中や精巣のテストステロン量はVE欠乏によって有意に減少したが、この減少はDPPDの投与によって防がれた。

(表7)

4. 精巣におけるLHレセプターの数や親和性はVE欠乏によって大きな変化を示さなかったが、精巣のFSHレセプターの親和性はVE欠乏群では減少し、DPPD投与によりその減少は防がれた。(表8)
5. 以上のことから、VE欠乏ラットの精巣の変化はその一部が、VE欠乏による抗酸化作用の欠如に基づくものと考えられた。抗酸化剤であるDPPDはVE欠乏による抗酸化作用の欠落をある程度補うことができるものと思われた。しかし、この点に関してはVEとDPPDの組織内、細胞内での分布の違いなどが当然考えられるのでさらに検討の要があると考えられた。

考 察

VE欠乏の下垂体・性腺系に及ぼす影響を形態学的に検索した結果、下垂体前葉は機能的に活性化した様相を呈したのに対して、精巣は精細管の萎縮などの退行変性像を示した。さらに内分泌学的に下垂体前葉及び精巣から分泌されるホルモンの動態をみると、下垂体から分泌される性腺刺激ホルモンは低下することが認められず、むしろVE欠乏により増加する傾向を示した。一方精巣の性ホルモン(テストステロン)は明らかに減少していた。これらのことから、VE欠乏により下垂体が障害をうけて、その結果二次的に精巣の機能が退行すると考えるより、VE欠乏が直接、生殖腺機能に影響を与えたものと考えられた。またVE欠乏による下垂体前葉の細胞学的変化は、精巣が退行変性し、テストステロンの分泌が減少した結果、その負のフィードバックによって、精巣にホルモン分泌を促進させるために、下垂体の性腺刺激ホルモン分泌細胞の機

能が活性化したものと考えられた。

VE欠乏動物では、このように、下垂体前葉の性腺刺激ホルモンは分泌されているにもかかわらず、精巣がそれに反応しないで退行変性をするので、精巣における性腺刺激ホルモンに対する感受性に問題があると考えられた。そこで、精巣のライディット細胞のLHに対するレセプターの数や親和性について、そしてさらにc-AMP形成について測定したところ、精巣のレセプターは性腺刺激ホルモンに対する親和性が低下しており、それに伴ってc-AMPの合成が障害され、テストステロンの産生が障害を受けることが明らかになった。一般にVEは膜機能を正常に維持する働きをもっていると考えられており、この場合のレセプターの親和性の低下もその一つの現れと解釈できる。VEの機能は生体における抗酸化作用であるという考え方があがるが、ここで見られたようなVE欠乏動物の膜機能の障害がどれだけ抗酸化説で説明できるかを知る目的でVE欠乏ラットに抗酸化剤であるDPPDを投与して、下垂体・性腺系の変化を形態学的並びに生化学的に検討したその結果、VE欠乏ラットの精巣の退行変性は、その一部は少なくともVE欠乏による抗酸化作用の障害にもとづく影響と考えられた。

VE欠乏が下垂体と生殖腺の機能に及ぼす影響について図Ⅱにまとめて示した。

総 括

本論文はVE欠乏が内分泌機能特に下垂体・性腺系の機能にどのような影響を与えるかを検討し、次のような結果を得た。

1. VE欠乏飼料の給与により、血清 α -トコフェロール量は著しく減少し、赤血球溶血率及び過酸化脂質は著しく増加した。また、肝細胞にはライソゾームの一型であるリポフスチン顆粒が増加した。
2. 副腎及び甲状腺はVE欠乏により退行変性を示し、また、リポフスチン顆粒が著しく増加した。
3. VE欠乏により、下垂体の性腺刺激ホルモン分泌細胞は増数、肥大し、

ゴルジ装置は環状を呈し、去勢細胞様の外観を示した。精巣はVE欠乏により精細管が萎縮し、発育各期の精細胞に退行変性が認められた。

4. ① VE欠乏ラットでは下垂体前葉からの性腺刺激ホルモンの分泌増大の傾向が認められた。一方、精巣ではテストステロンの分泌減少が明らかとなった。
 - ② VE欠乏ラットの性巣のライデッヒ細胞のレセプターは性腺刺激ホルモンに対する親和性は低く、それに伴って、c-AMP形成に有意の減少が認められた。
5. 合成抗酸化剤、DPPD投与実験から、VE欠乏による精巣における障害の一部は、VE欠乏による抗酸化作用の低下に基づくものと考えられた。

以上のことから、VE欠乏は直接的に生殖腺の機能に障害を与え、性ホルモンの合成に影響を及ぼすであろうとの結論に達した。

Table 1. Hemolytic rate and concentration of serum total tocopherol

Group	No. of rats	Hemolytic rate (%)	Serum total tocopherol (mg/100 ml)
1. +VE	6	13.6 +11.8	0.53 + 0.18
2. +VE,+L	8	55.9 + 5.5*	0.22 + 0.07*
3. -VE	6	99.7 + 0.3*	0.10 + 0.04*
4. -VE,+L	8	99.9 + 0.2*	0.04 + 0.03*

L= linoleic acid * P<0.001

Table 2. Malondialdehyde concentration in plasma and tissues of rats

Group	Plasma (n mol/ml)	Liver (n mol/g)	Brain (n mol/g)	Heart (n mol/g)	Testis (n mol/g)
1. +VE	4.52 ± 0.54	119 ± 29	220 ± 71	116 ± 56	58 ± 17
2. +VE, +L	4.79 ± 0.89	597 ± 204 ^{***1)}	255 ± 149	121 ± 26	56 ± 14
3. -VE	8.21 ± 2.93 ^{**12)}	398 ± 304 ^{*1)}	292 ± 123	119 ± 57	91 ± 41 ^{*1)}
4. -VE, +L	25.10 ± 18.17 ^{*123)}	1260 ± 444 ^{**12)}	534 ± 238 ^{*1)}	151 ± 59	115 ± 73 ^{*1)}

L = linoleic acid * P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

Table 3. Serum LH, FSH, and testosterone concentrations in the vitamin E deficient and supplemented rats.

Groups	Days 0	56	89	105	144	164	186
<u>Serum LH concentration (ngxSI/ml)</u>							
1. +VE	0.43		0.55±0.05	1.09±0.20	0.37±0.19	0.10±0.03	0.21±0.06
2. -VE			0.38±0.01*	0.57±0.15	0.65±0.16	0.27±0.09	0.44±0.11
<u>Serum FSH concentration (ugxSI/ml)</u>							
1. +VE	1.13		0.55±0.02	0.52±0.03	0.50±0.06	0.62±0.03	0.57±0.01
2. -VE			0.51±0.03	0.60±0.05	0.49±0.03	0.55±0.05	0.65±0.03*
<u>Serum testosterone concentration (ng/dl)</u>							
1. +VE	222±11	568±132	780 ± 155	775 ± 244	347 ± 83	215 ± 94	234 ± 37
2. -VE		423±132	668 ± 174	174 ± 29*	220 ± 56	113 ± 18	147 ± 14

1) LH = NIH-LH-SI 2) FSH = NIH-FSH-SI 3) M ± SE * P<0.05

Fig I Number of LH/hCG receptor and association constant (Ka)

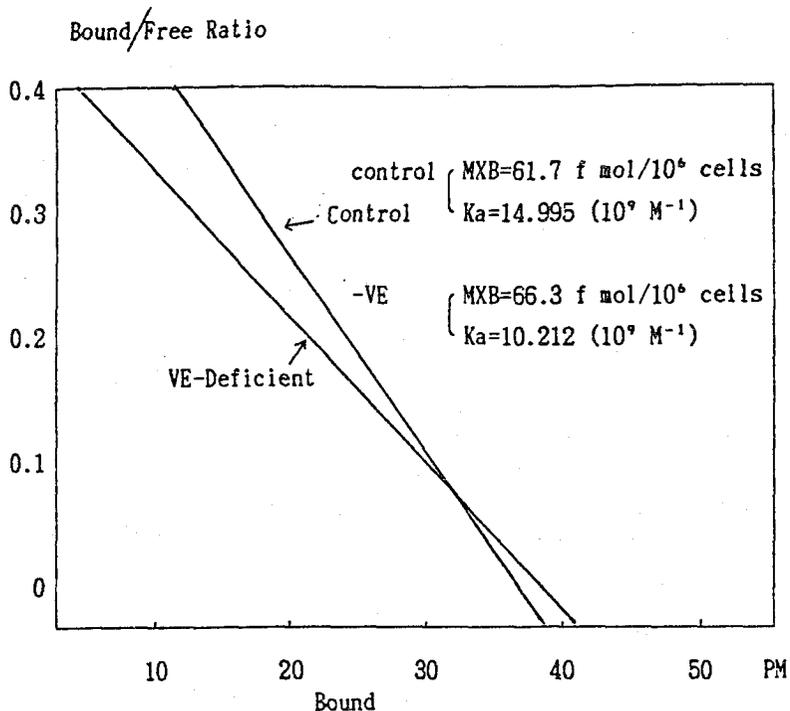


Table 4 Cyclic-AMP formation by the Leydig cells

Groups	No. of rats	Cyclic AMP (pmol/10 ⁶ cells)	
		-hCG	+hCG
1 +VE	4	7.03±0.70 ¹⁾	471.82±17.58
2 -VE	4	10.06±0.81	363.35±8.23*

1) Mean±SE *P<0.05 hCG=100 ng

Table 5 Effect of Vitamin E deficiency and administration of DPPD on erythrocyte hemolysis and concentration of α-tocopherol.

Groups	Erythrocyte hemolysis(%)			α-Tocopherol concentration	
	Days	44	145(80) ³	Serum(mg/dl)	Liver(μg/g)
		176(111)	180(115)	180(115)	
1 +VE	5.5±0.6 ^b	0.6±0.7	3.9±5.0	0.79±0.15	33.8±10.0
2 -VE	98.7±1.4	99.5±1.1	98.6±2.2	0.09±0.03***	3.1±1.0***
3 +VE +DPPD	5.9±0.1	0.1±0.1	1.4±1.8	0.84±0.12	47.3±9.8
4 -VE +DPPD	99.5±16.9	16.9±12.0	52.1±19.4	0.09±0.02***	3.6±2.8***

* ()=Days after administration of DPPD ^bM±SD*** P<0.001

Table 6. Malondialdehyde concentration in serum, liver and testis.

Days	54	Serum (nmol/ml)		Testis (nmol/g)	Liver (nmol/g)	
		144 (79) ^a	173 (108)	180 (115)	180 (115)	
1	+VE	2.78 ± 0.84 ^b	3.57 ± 3.08	4.54 ± 1.27	55.60 ± 23.67	82.65 ± 8.13
2	-VE	6.58 ± 1.74 ^{***}	7.86 ± 3.52 [*]	19.13 ± 9.86 ^{**}	120.39 ± 25.57 ^{***}	202.56 ± 49.05 ^{***}
3	+VE +DPPD	2.20 ± 0.49	2.04 ± 1.37	1.79 ± 1.19	25.03 ± 6.29	73.94 ± 7.87
4	-VE +DPPD	7.18 ± 1.53 ^{***}	5.65 ± 3.30	6.17 ± 5.73	49.71 ± 11.68	88.67 ± 12.42

^a() = Days after administration of DPPD. ^bM ± SD. ^{*}p < 0.05, ^{**}p < 0.01, ^{***}p < 0.001.

Table 7. Testosterone concentration in serum and testis.

Groups	Serum (ng/dl)	Testis (ng/g)
1 +VE	257.1 ± 83.8 ^a	51.9 ± 26.7
2 -VE	147.4 ± 46.9 ^{**}	23.0 ± 5.3 [*]
3 +VE +DPPD	235.4 ± 60.9	42.4 ± 8.5
4 -VE +DPPD	284.0 ± 58.8	59.6 ± 26.8

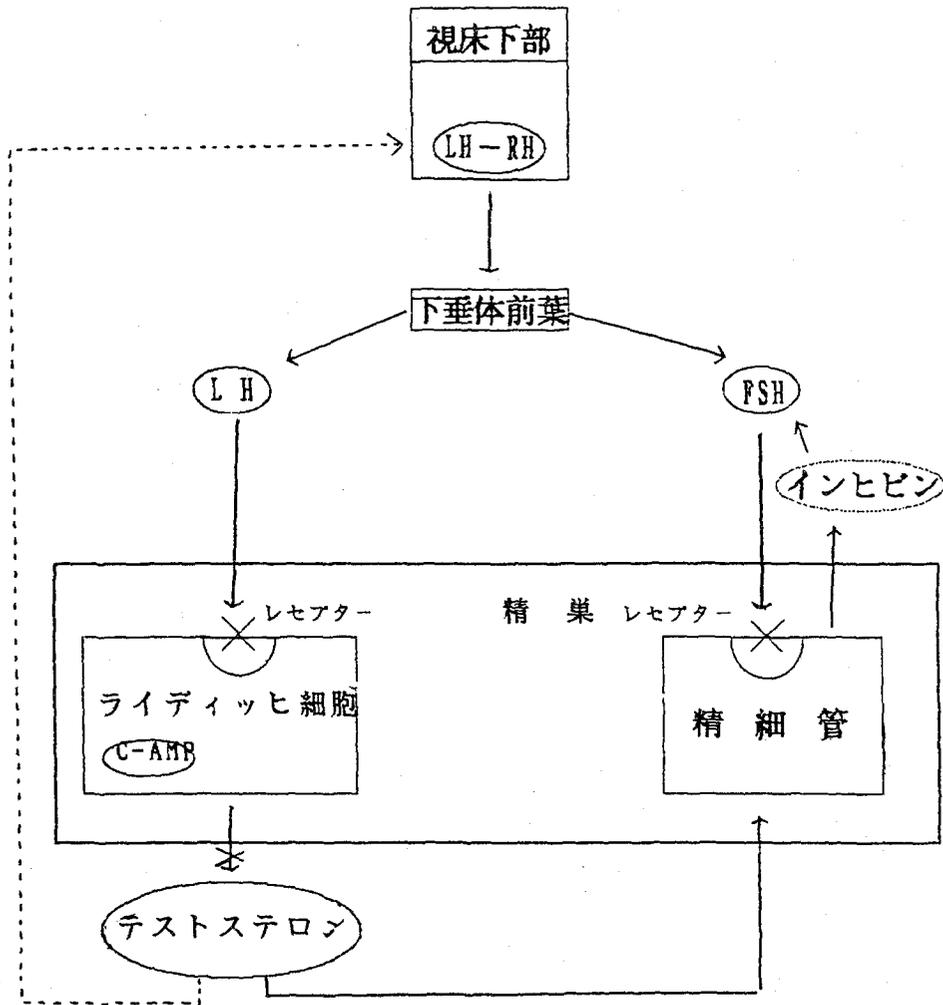
^aM ± SD. ^{*}p < 0.05, ^{**}p < 0.01, compared with group 1.

Table 8. Receptor site and affinity.

Groups	LH receptors		FSH receptors	
	Site (fmol/mg)	K _s ^b (10 ⁹ M ⁻¹)	Site (fmol/mg)	K _s (10 ⁹ M ⁻¹)
1 +VE	12.14 ± 1.54 ^a	39.67 ± 5.83	7.04 ± 0.32	7.89 ± 0.83
2 -VE	11.38 ± 0.40	39.03 ± 8.58	9.38 ± 1.17	4.69 ± 0.51 [*]
3 +VE +DPPD	8.83 ± 0.22	50.67 ± 7.13	6.57 ± 1.19	6.53 ± 0.86
4 -VE +DPPD	10.54 ± 0.36	44.92 ± 8.16	7.42 ± 0.35	7.68 ± 0.75

^aM ± SD. ^bK_s, association constant.

図 II 内分泌機構と V E



V E 欠乏により影響される場所 ×

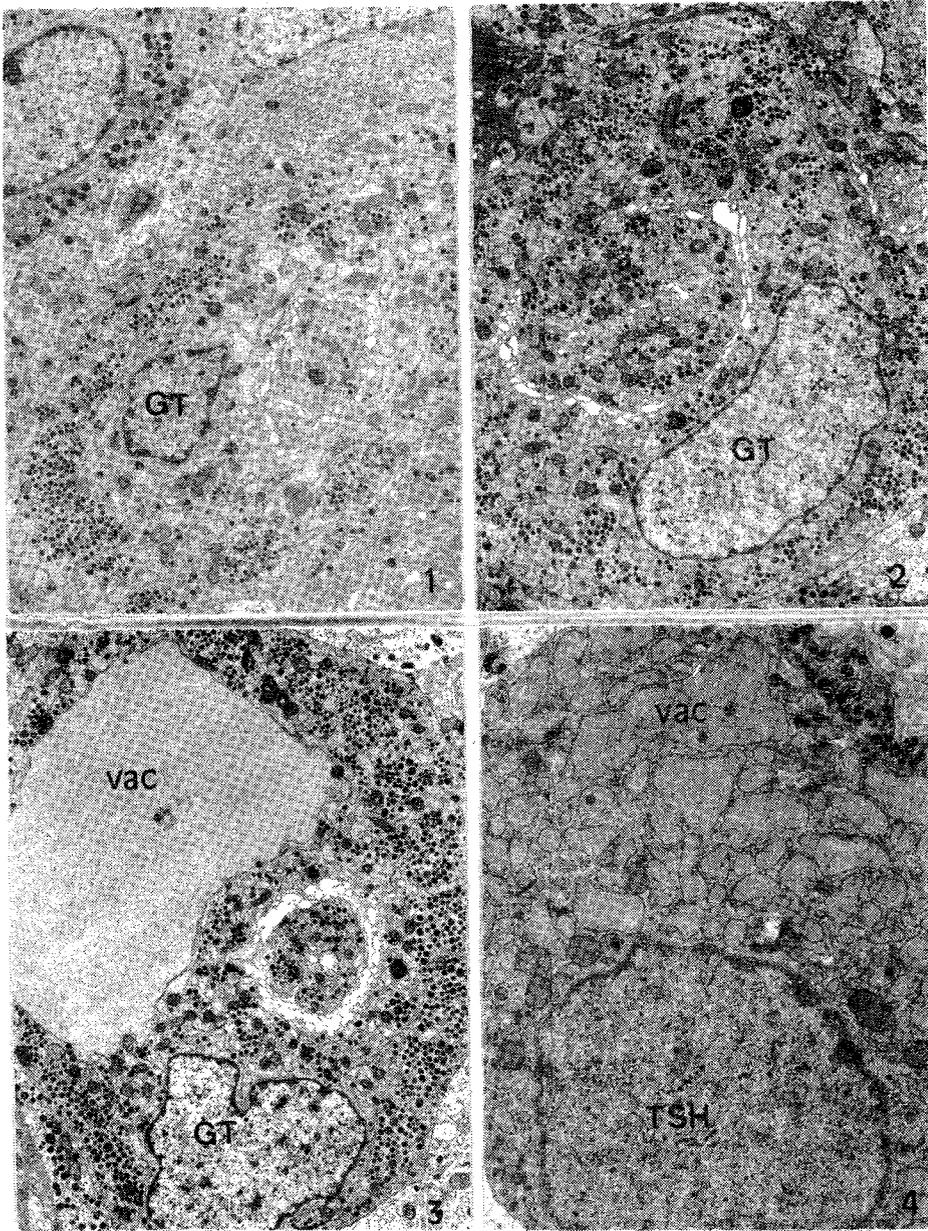


Fig.1. Electronmicrograph of the anterior pituitary gonadotropic(GT) and somatotrophic(ST) cells of normal control rats. X 4000

Figs.2and 3. Electronmicrographs of hypertrophied and vacuolated gonadotropic cells in the anterior pituitaries of vitamin E-deficient rats. X 4000

Fig.4. Electron micrograph of vacuolated thyrotrophic cell in the anterior pituitary of vitamin E-deficient rats. X 5000

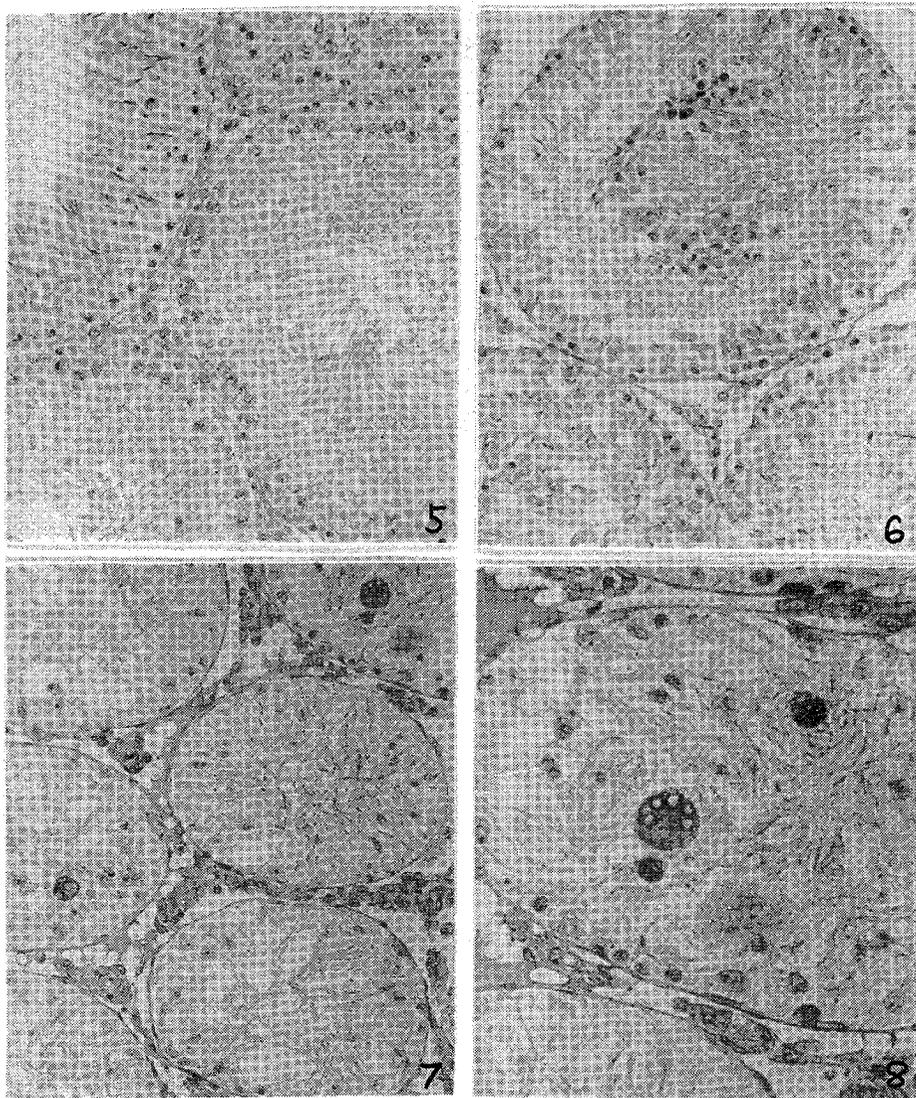


Fig. 5. Seminiferous tubules of vitamin E-supplemented rat, showing normal appearance of tubules. X 200

Fig. 6. Seminiferous tubules of vitamin E-deficient and DPPD-administered rat, showing slight degeneration of tubules. X 200

Figs. 7 and 8. Degenerated seminiferous tubules of vitamin E-deficient rat, showing disappearance of spermatozoa. X 200

審 査 結 果 の 要 旨

ビタミンE (VE) が抗不妊性ビタミンとして発見されて以来、性機能との関係で特に注目されてきたが、その生理機構については未だ十分に解明されていない。本論文は、VE欠乏の内分泌機能に及ぼす影響を、とくに下垂体・性腺系で検討し、VE欠乏時の精巣の退行性変化のプロセスを明らかにし、またVEの生理作用を明らかにする目的で行われたものである。

本論文は5章よりなり、まず、VE欠乏ラットを作成し、その生理的特性について検討し、血清トコフェロールレベルの低下、溶血率、組織中過酸化脂質量の増大、リポフスチン形成の増加など典型的なVE欠乏症状の出現を確かめ(第1章)、それら動物における副腎や甲状腺など内分泌器官の機能が大きく障害されていることを組織学的に確認した(第2章)。そこで第3章では、VE欠乏の下垂体・性腺系に及ぼす影響を組織学的に検討し、VE欠乏ラットでは下垂体前葉の性腺刺激ホルモン分泌細胞は、むしろ増数肥大し活潑になっている像を観察するとともに、他方、精巣では、精細管が著しい退行性変性を示すことを確かめた。そこで、第4章ではさらにこれらの関係をホルモン分泌の面から検討し、血中における下垂体ホルモン分泌は増大傾向を、そして性ホルモンであるテストステロン分泌は減少していることを明らかにした。さらにラット精巣における性腺刺激ホルモンに対するレセプターの数と感受性を検討し、レセプターの親和性が低下している可能性を示す結果をえた。つまりVE欠乏による生殖腺の退行性変性は下垂体の機能低下に基づく二次的変化であるよりも、VE欠乏が直接的に生殖腺の機能に障害を与え、性ホルモンの合成に影響するのであろうと結論した。なお第5章においては合成抗酸化剤が、VEによる障害をある程度防ぎうることを示し、VE欠乏における障害の一部はVE欠乏による抗酸化作用の低下に基づくものであることを示唆した。

以上の知見は栄養学とくにビタミン研究の分野に貴重な示唆を与えるものであり、著者に対して農学博士の学位を授与してしかるべきであると判定した。