

氏名・(本籍)	小林 文彦
学位の種類	理学博士
学位記番号	理第123号
学位授与年月日	昭和41年7月20日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
最終学歴	昭和34年3月 東北大学大学院理学研究科修士課程生物学専攻修了
学位論文題目	ラット性機能分化に及ぼす出生前 androgen 投与の影響
論文審査委員	(主査) 教授 青木 廉 教授 元村 勲 教授 加藤 陸奥雄

論 文 目 次

- I 緒 言
- II 実 験 方 法
- III 実 験 成 績
 - 1. 妊娠ラットに対する影響
 - 2. 胚仔外性器部位に対する影響
 - 3. 性成熟
 - 4. 性周期
 - 5. 交尾能
 - 6. 解剖成績
 - 7. 組織所見
 - 8. 雌ラット下垂体 gonadotropin 含量
- IV 結 論

論 文 内 容 要 旨

I 緒 言

成熟ラットでは下垂体よりの gonadotropin 分泌は間脳視床下部を中心とした中枢性の支配により調節されているもので、視床下部機能の性的分化にともなって gonadotropin 分泌 pattern は雌雄で明瞭に異なってくる。しかし出生直後のラットではこのような視床下部機能は性的に未分化の状態であって、androgen がその決定に重要な意義を有するといわれている。一方、胎生末期に androgen の影響を受けたラット雌胚仔の外性器部位が著明な男性化を呈することも良く知られている。しかしこのような末梢的作用以外に中枢的作用が有るか否かに関しては未だ明らかにはなっていない。

最近、著者(1966)は胎生末期に大量の合成 progestin の影響を受けたラット胚仔が、外性器部位の形態的著変を示さないにもかかわらず交尾能が低下することを見出し、母体に投与した steroid が胚仔の外性器部位に末梢的に作用する以外に、機能的に未分化の状態にある間脳視床下部に作用し、その機能発現、性分化を抑制する可能性があることを明らかにした。

本研究は視床下部機能分化に重要な意義を有するとされている androgen を妊娠ラットに投与し、出生仔の性機能を中心として androgen の胚仔中枢に対する作用を解析したものである。

II 実験方法

体重 160～180 g の Wistar 系雌ラットを雄ラットと同居させ、膈内に精子を認めた日を妊娠第 1 日とした。Testosterone propionate (TP) はゴマ油に溶解し、妊娠第 15 日より第 21 日まで 1 個体に 1 日 1 回、それぞれ 0.05, 0.1, 0.5, 5.0 mg 連続的に、また妊娠第 15, 18, 21 日に 5 または 10 mg を 1 回頸部皮下に注射した。妊娠ラットは自然分娩させ、その日を出生仔の生後第 1 日とし諸観察を行った。

III 実験成績

1. 妊娠ラットに対する影響

TP 連続投与群では、5 mg 投与の 1 例を除き分娩遅延は全くみられなかったが、TP 1 回投与群では妊娠第 18 日、第 15 日とも妊娠中期に近く投与されるほど分娩遅延が認められた。胚仔再吸収作用も TP 連続投与の場合は投与量の増加につれ、また 1 回投与の場合は妊娠中期に近く投与されるほど著明であった。

2. 胚仔外性器部位に対する影響

雌新生仔の肛門一外性器間距離 (ano-genital distance; AGD) は TP 連続投与群では投与量の増加につれ、また 1 回投与群では妊娠第 18 日投与の場合に対照に比し伸長、即ち男性化 (masculinization) を示した。これに対し雄新生仔の AGD は雌のごとき変動を示さず、対照

との差も著しくなかった。T P 1日0.5 mg以上連続投与群ならびに妊娠第18日1回投与群に出現した雌ラットのA G Dの伸長は生育につれ対照との差がより著明となり、正常への回復は全くみられなかった。さらに出生時A G D伸長がみられなかった妊娠第21日1回投与群雌ラットも生育につれ対照に比しA G Dの伸長、即ち男性化を呈するようになった。一方雄ラットのA G Dは生育につれ対照に比し短縮の傾向を示したが投与量、投与時期との間には一定の関係は認められなかった。

3. 性成熟

腔開口出現を指標とする雌ラット性成熟、penis形態変化を指標とする雄ラット性成熟ともにT P投与群ラットは対照に比し遅延を示した。この結果は胎生期にandrogenの影響を受けたラットの視床下部の機能発現開始が抑制されたことを示すものである。又T P 1日5 mg連続投与群及び妊娠第18日1回投与群雌ラットは全く腔が開口せず、T P 0.5 mg連続投与群、妊娠第21日1回投与群雌ラットの腔開口部は形態的に異常を呈し、外性器突起に接して小さい開口がみられた。

4. 性周期

開口が認められた雌ラットの性周期を腔垢(vaginal smear)を指標として検索したところ、T P 1日0.05, 0.1 mg連続投与群および妊娠第15日1回投与群ラットは対照と同様正常な性周期を繰り返した。これに対しT P 1日0.5 mg連続投与群ならびに妊娠第21日T P 10 mg 1回投与群ラットは腔垢に角化細胞が連続して出現する。いわゆる連続発情(persistent estrus)を示すのが特徴的であった。妊娠第21日にT P 5 mg 1回投与群ラットも連続発情を呈するが、有核細胞、白血球の混入が多かった。つまり連続発情の出現が弱いといえる。T P 1日0.5 mg連続投与により生じた連続発情はprogesterone投与によっても中断されなかった。

5. 交尾能

正常性周期を示したT P 0.05, 0.1 mg連続投与群および妊娠第15日1回投与群ラットの交尾能は対照と何ら変わらず正常であるが、連続発情を示した雌ラットはほとんど交尾をしなかった。この交尾能の低下は外性器部位の形態異常に大きな原因があると考えられるが、交尾例も認められることからあるていど中枢に生じた変化に基くことも考えられる。いっぽう雄ラットの交尾能もT P投与群は対照に比し低下を示し、とくに連続投与の場合に著明であった。雄ラット外性器は形態的に正常であるので交尾の不成立はむしろ中枢的原因によると考えられる。

6. 解剖成績

生後130日目に雌ラットを解剖、諸臓器重量を測定したところ、T P投与群の下垂体重量は対照に比し減少を示したが、卵巣、子宮などの重量は対照ととくに差が認められなかった。一方生後160日目の雄ラット解剖成績では下垂体、睪丸重量が対照に比し減少を示したが、前立腺、貯精のうなどの副性器重量は減少傾向を示すのみで投与量、投与時期との関係は一定ではなかった。

7. 組織所見

卵巣の組織所見はきわめて特徴的で、T P 投与群でも正常な性周期が認められたラットの卵巣は、対照と同様、種々発育段階の濾胞および黄体の存在が認められたが、腔垢に角化細胞が連続して出現している、いわゆる連続発情ラットおよび腔開口が出現しなかったラットでは、黄体が全く存在せず大濾胞のみから成る卵巣、および濾胞、黄体の両者が存在する卵巣の2種が見出された。雌ラットにおける黄体欠如卵巣の出現はその gonadotroin 分泌が雄的であることを意味し、胎生期に受けた androgen により視床下部機能の性的分化が影響を受けたことを示すものである。又腔垢に角化細胞が連続して出現しているのにもかかわらず濾胞、黄体両者が存在する卵巣を有することは、卵巣を有することは、卵巣機能に支配されない腔壁細胞分化の存在を示すものである。

8. 雌ラット下垂体 gonadotropin 含量

雌ラット下垂体中の gonadotropin 含量を調べたところ、T P 投与群ラットの下垂体の FSH 含量は対照に比し増加の傾向を示したが著しい差はなく、そのうえ投与量、投与時期との関係も明確ではなかった。いっぽう下垂体中 LH 含量は T P 連続投与群ラットでは投与量の増加につれ減少がみられたが、1 回投与群ラットではむしろ逆に増加傾向さえ認められた。

IV 結 論

妊娠ラットに投与した androgen の影響は胎盤を介して胚仔に及び、雌ラット下垂体よりの gonadotropin の周期的産生、放出を支配している視床下部の機能発現を抑制する。したがって雌でありながら雄と同様の gonadotropin 分泌を生ずる結果、卵巣では黄体欠如、濾胞の異常発育を生じ、濾胞より分泌される大量の estrogen の影響で腔垢の連続角化を生ずる。また他方では末梢的に作用し外性器部位の男性化を生ずると同時に腔部にも直接作用し腔壁の細胞分化に不可逆的な変化を生じ、その結果あたかも estrogen が作用したと同様に腔垢の連続角化を生ずるという2つの作用機序を有することが明らかである。雄ラットに対しては雌ラットにみられた如き末梢的影響は少ないが、明らかな交尾率の低下は中枢的影響が存在することを示すものである。

論文審査結果の要旨

シロネズミの性的成熟または周期性は脳下垂体より分泌される gonadotropin によって支配されているもので、その分泌パターンは雌雄により明らかに異なる。出生直後にはこの分泌パターンは未分化の状態では雄性ホルモンの影響を受け易いものであることは既に実証されている。しかし胎生仔についての研究は非常に少なく、更に高次調節機能を営む間脳視床下部と、脳下垂体との関係には不明の点が多い。小林は既に妊娠末期のシロネズミに雄性ホルモン注射実験を行い、この時期には雄性ホルモンは中枢の分化に影響し分泌機能発現を抑制する可能性のあることを示した。この点を更に詳しく確かめるために行った研究の結果が本論文である。

実験にはWister系白ネズミを用い、妊娠15日目より21日にわたり毎日それぞれ一定量の testosterone propionate を注射、他の一群には15, 18, 21日目に5及び10mgをそれぞれ注射したのち、自然分娩出生仔について長期間にわたり各方向より詳しい観察を行った。得られた結果の重なる項は次の通りである。(1)分娩遅延、胚子再吸収は連続投与の場合はその量の多いときに起こり、一回投与の場合は妊娠中期に与えられたもののみよく起こる。(2)、(1)の変化と平行して雌には男性化が見られもとに戻らない。出生直後には明らかでなかった男性化が日が経つにつれて明瞭になる場合もある。(3)性成熟は雌雄共に遅延する。(4)雌では投与量が多いものでは連続発情し、交尾能は雌雄共に著しく減退する。(5)連続発情した雌では卵泡のみの卵巣及び卵泡黄体の両者の存在する卵巣が認められる。(6)このほか、解剖、組織所見及び脳下垂体中のFSH, LH量には雄性ホルモン投与による明瞭な変化は認められなかった。

以上の実験結果から外部より与えられた androgen は胎盤を通り胚子に移行し、その間脳視床下部の機能発現を抑制する。したがって雌でありながら雄に似た gonadotropin 分泌を起こすと考えられる。この考え方によれば卵泡異状発育、黄体欠除卵巣の生ずること、外性部の男性化および連続発情も矛盾なく説明されることを示した。また間脳視床下部の androgen に対する感受性は出生直後より胎性期における方が高い。この事実は性中枢調節機構解明に重要な一条件であり、さらに出生後の長期間にわたる性機能変化の観察も必要であることを明らかにした。

以上、小林文彦の研究は胎生仔における雄性ホルモンの作用を明らかにした種々の新知見を得た。これらは複雑なホルモン作用の研究方法に重要な寄与をなしたものである。よって審査員一同は小林文彦提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認めた。