

氏名	佐藤英明
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第826号
学位授与の日付	昭和54年11月24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	卵巣から分離した減数分裂休止物質とゴナドトロピン抑制物質について

(主査)  
論文調査委員 教授 石橋武彦 教授 入谷 明 教授 川島良治

### 論文内容の要旨

本論文は、卵巣から分離した減数分裂休止物質とゴナドトロピン抑制物質についての研究結果をまとめたものである。論文は2編からなり、第1編では卵母細胞の最適培養条件の設定、減数分裂速度およびその調節因子などについて検討したあと、顆粒膜細胞に存在する減数分裂休止物質の分離とその理化学的性状について論じている。第2編では卵胞液に含まれるゴナドトロピン抑制物質の分離、精製、免疫組織学的局在性およびその作用機序について論じているが、得られた結果はつぎのとおりである。

1. ブタの卵母細胞の成熟に対する pH, 浸透圧, 高分子物質, ステロイド, エネルギー基質などの影響を調べ、最適な培養液の組成と条件を明らかにした。また減数分裂の時間的推移について調べ、培養後14時間で卵核胞が崩壊して第1減数分裂中期へ移行し、後期は20時間目、終期は21時間目、第2減数分裂中期は22時間目から観察されることを明らかにした。分裂速度にはある程度の変異がみられたが、その主要因は培養条件にあると推察され、とくに培養液の pH の相違は卵核胞の崩壊所要時間に影響した。

2. ブタの卵母細胞の減数分裂休止は体外培養の条件下でもみられたが、その休止作用は卵胞液には認められず、顆粒膜細胞に認められ、しかも顆粒膜細胞層を卵母細胞に接着させることによってはじめて発現した。これらのことから休止因子は顆粒膜細胞の表層に存在すると考えられるので表層物質を抽出し、Sephadex G-25 のカラムで分画した結果、そのうちの1つの分画に減数分裂を休止させる作用のあることを認めた。そしてその物質についてゲルろ過法、呈色反応、吸光分析、溶解性試験、熱処理およびプロナーゼ消化試験によってその理化学的性状を調べた結果、エーテルおよびアセトンに不溶で可視部に吸光はなく、紫外部で 260m $\mu$  付近に特異吸光をもち、熱に安定な分子量1,450~3,000のポリペプチドと同定した。

3. ブタおよびウシの卵胞液の非透析画分にマウスにおける代償性卵巣肥大に対する抑制効果のあることをみだし、塩析法および Sephadex G-200 による精製法の組合せによって抑制物質の分離に成功した。さらにその抗体をつくり組織学的局在性を蛍光抗体法によって検索した結果、抑制物質は卵胞腔を有する卵胞の顆粒畜細胞に存在することを明らかにした。また本物質を投与したマウスの下垂体前葉の細胞像の

観察、バイオアッセイによる血液中のゴナドトロピン含量ならびにゴナドトロピンレセプターとの結合試験の結果から本物質は下垂体からのゴナドトロピンの分泌を抑制し、かつ顆粒膜細胞へのゴナドトロピンの結合を阻害する2つの作用をもつゴナドトロピン抑制物質であると結論した。

### 論文審査の結果の要旨

卵細胞の成熟や卵胞の発育過程において、減数分裂の一時的な休止や発育途上での卵胞の退行など抑制因子の存在を思わせる現象がみられる。これまで卵巣機能を促進する要因についての研究は多いが、抑制する因子の検索は極めて少い。本論文はブタおよびウシの卵巣から減数分裂休止物質とゴナドトロピン抑制物質を抽出し、それらの物質の理化学的性状、生理学的作用、組織学的局在性を検討したもので、つぎの成果が得られている。

1. 減数分裂休止物質の存在については、体外で培養したブタの卵母細胞の分裂過程を観察することによって確認している。すなわち、卵胞卵を体外で培養した場合は生体内と異なり減数分裂の一時的な休止は起こらないが、顆粒膜細胞層を卵母細胞に接着させることによってはじめて発現するという興味ある知見を得ている。そしてこのことから著者は、休止因子が顆粒膜細胞の表層に存在すると考え、表層物質を Sephadex G-25 のカラムで分画し、その1つの分画に減数分裂を休止させる作用があることを認めた。ついでその物質の理化学的性状を調べ、分子量1,450~3,000のポリペプチドであると同定している。

2. ゴナドトロピン抑制物質に関しては、生物学的検定法によってブタおよびウシの卵胞液の非透析画分に含まれることをみだし、分子量約17,000の物質として分離に成功している。さらにその物質の免疫抗体をつくり、組織学的局在性を蛍光抗体法によって検索した結果、抑制物質は顆粒膜細胞で生産され、卵胞腔に分泌されて卵胞液中に蓄えられることを明らかにしている。またその物質のゴナドトロピンに対する抑制機序を明確にするため、抑制物質を投与したマウスにおいて下垂体の前葉細胞、血液中のゴナドトロピン含量ならびに顆粒膜細胞におけるゴナドトロピンレセプターとの結合状態を観察したが、いずれの場合も顕著な抑制効果が認められた。この事実から著者は、この抑制物質は上位中枢である下垂体と標的器官の卵巣の2個所でゴナドトロピンに対して抑制作用をもつこれまで未確認の物質であると結論している。

以上のように、本論文は卵巣内に抑制物質の存在することを示唆しているが、このことは卵巣機能調節機構の解明に1つの新しい考え方を提起したのものとして高く評価されてよく、家畜生体機構学ならびに家畜繁殖学の発展に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。