

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380149

研究課題名(和文)サルソリノールによる反芻家畜のプロラクチン分泌支配機構概念の構築

研究課題名(英文) Studies on the regulatory mechanisms of prolactin secretion by salsolinol in ruminants

研究代表者

橋爪 力 (Hashizume, Tsutomu)

岩手大学・農学部・教授

研究者番号：60124533

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 7,700,000円

研究成果の概要(和文)：反芻家畜のサルソリノール(SAL)によるプロラクチン(PRL)分泌機構の一端をヤギで明らかにしようとした。その結果、長日条件下においてメラトニン(MEL)をヤギに投与するとSALにより誘起されるPRL放出反応は低下すること、またCarbidopaとL-dopa処理により視床下部内ドーパミン(DA)量を増加させると、日長に関係なくSALによるPRL放出反応は抑制されること、さらにレセルピンにより視床下部内DA量を減少させるとSALによるPRL放出反応は修飾されることが明らかになった。このように、反芻家畜のSALによるPRL分泌機構には視床下部のMELやDAが関係していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Salsolinol(SAL), a dopamine (DA)-derived compound, is a putative endogenous prolactin (PRL)-releasing factor in ruminants. The aim of the present study was to clarify the secretory mechanisms of PRL by SAL in ruminants. Daily oral administrations of melatonin (MEL) under a long photoperiod reduced the PRL-releasing response to SAL in goats. The treatments with augmentation of central DA using carbidopa and L-dopa blunted SAL-induced PRL release in goats, regardless of the photoperiod. The treatments with depletion of central DA using reserpine modulated SAL-induced PRL release in goats. The present study demonstrated that hypothalamic MEL and DA are involved in the secretory mechanisms of PRL by SAL in goats. These results provide further evidence that SAL is involved in the regulatory processes of PRL secretion in ruminants.

研究分野：農学

キーワード：サルソリノール プロラクチン ドーパミン メラトニン L-dopa レセルピン ヤギ 反芻家畜

1. 研究開始当初の背景

プロラクチン(PRL)は、ホ乳類では乳管及び乳腺胞の発育を促す基本的なホルモンの乳汁分泌と密接に関係したホルモンとして知られている。とりわけ、ウシなどの家畜においては、成長ホルモン(GH)と共に泌乳に関係しているため、乳生産に欠かせない家畜生産上極めて重要なホルモンである。

プロラクチン(PRL)は、下垂体前葉ホルモンの中で、視床下部からの放出ホルモンがまだ同定されていない唯一のホルモンである。すなわち、PRLのみを特異的にしかも強力に放出させる、真の放出ホルモンはまだ見つかっておらず、PRL分泌は視床下部からの抑制因子ドーパミン(DA)により、抑制的な支配を受け制御されていると考えられてきた。しかし、私達は最近、DAの誘導体サルソリノール(Salsolinol: SAL)が反芻家畜のPRLを強力に放出させることを明らかにした。すなわち、ヤギの頸静脈内にSALを投与するとPRLが急激に上昇すること、ウシ視床下部内にSALを投与するとPRLの上昇が見られること(Hashizume *et al.*, *Domest. Anim. Endocrinol.* 34:146-152, 2008)、またSALと甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)をヤギの頸静脈内に同時投与すると両物質により、PRLが相加的に上昇することを明らかにした(Hashizume *et al.*, *Domest. Anim. Endocrinol.* 34:327-332, 2008)。またSALは雌雄の子牛や泌乳牛でもPRLを放出させること(Hashizume *et al.*, *Domest. Anim. Endocrinol.* 39:21-25, 2010)、DAアゴニストはSALにより誘起されたPRL分泌を抑制すること(Hashizume *et al.*, *Anim. Sci. J.* 83:63-67, 2012)、ヤギにおいてはSALによるPRL放出反応は季節(澤田ら, *東北畜産学会報* 60:116-122, 2011)や日長(Yaegashi *et al.*, *Anim. Sci. J.* 83:418-425, 2011)により修飾されることを明らかにした。SALは視床下部のDAニューロン内でDAから合成さ

れるので、これらの事実は、PRL分泌は、DAからのSAL合成割合により、調和的に調整されるという、今までにない新しいPRL分泌機構の存在を示唆する。

本研究は、このような背景から、私達が行って来たSALに関する研究をさらに発展させ、今まで不透明であったPRL分泌機構の新しい概念を反芻家畜で構築させようとした。

2. 研究の目的

反芻家畜におけるPRL分泌機構へのSALの関与を明らかにするために、主に次の3つの実験を行った。すなわち、初めに反芻家畜のPRL分泌は日長により変化するので、SALと日長によるPRL分泌修飾機構について検討した。日長のシグナルはメラトニン(MEL)が関係するので、MELがSALによるPRL放出反応に及ぼす影響を調べた(実験1)。次に中枢を介したDAとSALによるPRL分泌制御機構について検討した。この実験ではL-dopaとCarbidopaでヤギを前処理し、視床下部内のDA量を高めた時のSALによるPRL放出反応を調べた(実験2)。最後にヤギにレセルピンを投与し、視床下部内のDA量を減少させたときのSALによるPRL放出反応を調べた(実験3)。

3. 研究の方法

(実験1)日長と温度を16時間明:8時間暗と20に設定した人工気象室内で成熟雌ヤギを飼養し、MEL(MEL区:4mg/頭/回)または生理食塩水(生食区)をそれぞれ1日2回5週間経口投与した。MELまたは生理食塩水投与3週間後からSAL(5mg/kg b.w.)、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH, 1 μ g/kg b.w.)及びドーパミン(DA)_{D₂}受容体拮抗薬(スルピリド, 0.1mg/kg b.w.)をそれぞれ静脈内に投与してMEL区と生食区のPRL放出反応

を比較した。この他、光とPRL分泌との関係をさらに明確にするため、GHとPRL分泌動態を比較する実験と、夜間のこれらホルモン分泌動態を調べる実験を補足的に行った。

(実験 2) Carbidopa (Carbi, 1 mg/kg b.w.) と L-dopa (1 mg/kg b.w.) 処理によりヤギの視床下部内 DA 量を高めたときの SAL により誘起される PRL 放出反応を異なる日長条件下で検討した。すなわち、雄ヤギを 8 時間明:16 時間暗(短日)または 16 時間明:8 時間暗(長日)の条件下で飼養し、それぞれの日長下で Carbi と L-dopa 処理後、SAL(5 mg/kg b.w.)を静脈内投与して PRL 放出反応を調べた。また対照実験として視床下部内 DA 量を高めたときの成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)により誘起される GH 放出反応を調べた。

(実験 3) ヤギにレセルピンを投与し、視床下部内の DA 量を減少させたときの SAL による PRL 放出反応を調べた。供試動物には雌シバヤギを用いた。実験は長日(16 時間明:8 時間暗)及び短日(8 時間明:16 時間暗)条件下で行った。それぞれの日長下で、ヤギの頸静脈内に SAL(5 mg/kg b.w.)、レセルピン、レセルピンと SAL を投与し、血漿中 PRL 濃度の変化を調べた。初めにレセルピンの投与量を 6 µg /kg b.w. で実験を行った。次にレセルピンの投与量を 60 µg /kg b.w. に高めて同様の実験を行った。

4 . 研究成果

(実験1) PRLの基礎濃度は生食区の方がMEL区より高かった。SAL、TRH及びスルピリドはMEL区及び生食区共にPRLを放出させた。生食区におけるSAL、TRH及びスルピリドのPRL放出反応はMEL区におけるそれぞれの反応より高かった(図1)。これらの結果から、長日条件下でのMELの長期投与はPRLの基礎濃度を下げること、またMELはTRHやスルピリドと同様にSALにより誘起されるPRL放出反応を低下させることが分

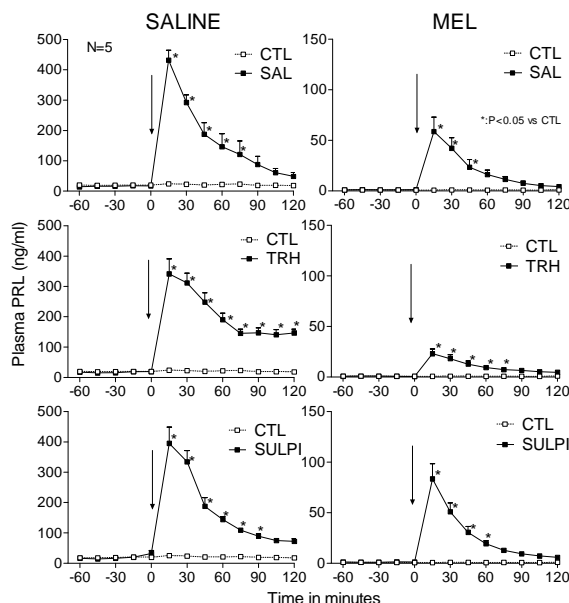


図 1メラトニン(MEL)がSALにより誘起されるヤギのPRL放出反応に及ぼす影響

かり、MELはSALによるPRL放出機構に関与することが明らかになった。〔雑誌論文〕またこの他、補足実験の結果から、光はPRLのように明瞭ではないが、GH分泌も高めること、さらに夜間のPRL分泌は消灯直後急激に高まることも明らかになった。〔雑誌論文、〕

(実験 2) 長日期の PRL の平均基礎濃度は短日期に比べ高かった。SAL の投与は長日期と短日期の血中 PRL 濃度を上昇させた。また長日期の SAL による PRL の放出反応は短日期に比べ大きかった。Carbi と L-dopa 処理は長日期(図 2)と短日期(図 3)とも SAL による PRL 放出反応を抑制した。また同様に GHRH による GH 放出反応も抑制した(図 4)。これらの結果から、

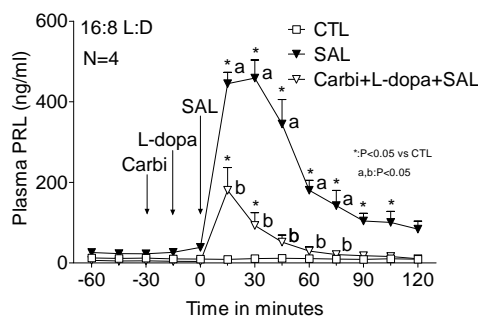


図 2 Carbidopa と L-dopa が SAL により誘起されるヤギの PRL 放出反応に及ぼす影響(長日条件下)

ヤギにおいて視床下部内 DA が増加すると、日長に関係なく SAL により誘起される PRL 放出は

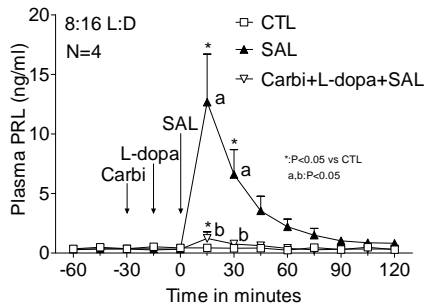


図3 Carbidopa と L-dopa が SAL により誘起されるヤギの PRL 放出反応に及ぼす影響(短日条件下)

抑制されることが明らかになった。さらに視床下部内 DA が増加すると、PRL のみならず GH 放出も抑制されることが明らかになった。〔雑誌論文、〕

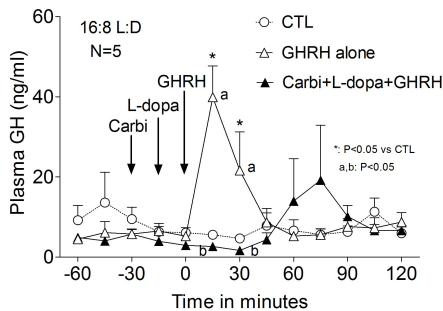


図4 Carbidopa と L-dopa が GHRH により誘起されるヤギの GH 放出反応に及ぼす影響(長日条件下)

(実験3) 長日期の PRL の平均基礎濃度は短日期に比べ高かった。レセルピン 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. の投与においては、長日条件下では、SAL 投与 1 時間以内の PRL 放出反応には、レセルピンと SAL 同時投与区と SAL 単独投与区で差はなかった。また短日条件下では、SAL 投与 1 時間以内の PRL 放出反応は、SAL 単独区の方がレセルピンと SAL 同時投与区より高かった。レセルピン 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. の投与においては、レセルピンと SAL を同時投与しても、長日及び短日条件下とも PRL 放出反応はレセルピン単独投与時の反応と差はなく、SAL 投与の影響は見られなかった。これらの結果から、レセルピンの投与量が少ないと SAL による PRL 放出反応は日長により修飾され、また投与量が多くなると日長に関わらず、SAL 投与による PRL 放出反応は消失することが分かり、SAL による PRL 分泌機構には視床下部

の DA が深く関わっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

Jin J., Hashizume T. Effects of hypothalamic dopamine on growth hormone-releasing hormone-induced growth hormone secretion and thyrotropin-releasing hormone-induced prolactin secretion in goats, *Animal Science Journal*, 査読有, Vol.86, No.6, 2015, pp.634-640.

DOI:10.1111/asj.12333

Jin J., Hara S., Sawai K., Fülöp F., Nagy G. M., Hashizume T. Effects of hypothalamic dopamine (DA) on salsolinol (SAL)-induced prolactin (PRL) secretion in male goats. *Animal Science Journal*, 査読有, Vol. 85, No.4, 2014, pp. 461-467.

DOI:10.1111/asj.12157

Jin J., Sawai K., Hashizume T. Effects of photoperiod on secretory patterns of growth hormone in adult male goats, *Animal Science Journal*, 査読有, Vol. 84, No.12, 2013, pp. 790-797.

DOI:10.1111/asj.12073

Hashizume T., Yaegashi T., Jin J., Sawai K., Fülöp, F., Nagy, G. M. Effects of melatonin on salsolinol-induced prolactin secretion in goats, *Animal Science Journal*, 査読有, Vol. 84, No.4, 2013, pp. 334-340.

DOI:10.1111/asj.12002

Jin J., Yaegashi T., Hashizume T. Effects of photoperiod on the secretion of growth hormone and prolactin during nighttime in female goats, *Animal Science Journal*, 査読有, Vol. 84, No.2, 2013, pp.130-135.

DOI:10.1111/j.1740-0929.2012.01050.x

〔学会発表〕(計 14 件)

伊藤杏美, 千葉 葵, 稲葉有紀, 加藤由稀, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol と TRH により誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼす -アドレナリン受容体遮断薬 Phenoxybenzamine の影響. 日本畜産学会第 119 回大会, 2015 年 3 月 28 日 ~ 30 日, 宇都宮大学 (宇都宮市)

稲葉有紀, 加藤由稀, 伊藤杏美, 千葉 葵, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol と TRH により誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼすドーパミン拮抗薬 Domperidone の影響. 日本畜産学会第 119 回大会, 2015 年 3 月 28 日 ~ 30 日, 宇都宮大学 (宇都宮市)

Hashizume T., Inaba Y., Terai S., Ito A., Jin J., Sawai K., Fülöp F., Nagy G. M., Effects of salsolinol and thyrotropin-releasing hormone on prolactin secretion in reserpine pretreated goats, 9th International Ruminant Reproduction Symposium, August 25-29, 2014, Hotel Nikko Northland Obihiro, Obihiro, Japan

伊藤杏美, 稲葉有紀, 寺井志織, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol により誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼすストレスと日長の影響, 第 107 回日本繁殖生物学会, 2014 年 8 月 20 日 ~ 24 日, 帯広畜産大学 (帯広市)

稲葉有紀, 寺井志織, 遊佐 瞳, 伊藤杏美, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol により誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼす視床下部ドーパミンの影響, 第 107 回日本繁殖生物学会, 2014 年 8 月 20 日 ~ 24 日, 帯広畜産大学 (帯広市)

寺井志織, 稲葉有紀, 伊藤杏美, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, TRH により誘起されるヤギの PRL と TSH 分泌に及ぼすレセルピンの影響, 日本畜産学会第 118

回大会, 2014 年 3 月 26 日 ~ 29 日, つくば国際会議場 (つくば市)

稲葉有紀, 伊藤杏美, 寺井志織, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol により誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼすレセルピンの影響, 日本畜産学会第 118 回大会, 2014 年 3 月 26 日 ~ 29 日, つくば国際会議場 (つくば市)

伊藤杏美, 稲葉有紀, 寺井志織, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, 日長がストレスにより誘起されるヤギのプロラクチン分泌に及ぼす影響, 日本畜産学会第 118 回大会, 2014 年 3 月 26 日 ~ 29 日, つくば国際会議場 (つくば市)

金 金, 柳葉美里, 高村聡美, 澤井 健, 橋爪 力, 視床下部ドーパミン量の増加が TRH とスルピリドにより誘起されるヤギの PRL 分泌に及ぼす影響, 日本畜産学会第 118 回大会, 2014 年 3 月 26 日 ~ 29 日, つくば国際会議場 (つくば市)

金 金, 寺井志織, 稲葉有紀, 伊藤杏美, 澤井 健, 橋爪 力, GHRH と TRH により誘起されるヤギの GH と PRL 分泌に及ぼす視床下部内ドーパミンの影響, 日本畜産学会第 117 回大会, 2013 年 9 月 9 日 ~ 10 日, 新潟大学 (新潟市)

Hashizume T., Jin J., Hara A., Sawai K., Fülöp F., Nagy, G. M., Effects of dopamine on salsolinol-induced prolactin secretion in goats, 46th Society for the Study of Reproduction. July 22-26, 2013, Montreal, Canada

遊佐 瞳, 金 金, 澤井 健, 橋爪 力, Salsolinol により誘起されるヤギのプロラクチン分泌反応とストレスによる修飾, 第 105 回日本繁殖生物学会, 2012 年 9 月 6 日 ~ 8 日, 筑波大学 (つくば市)

金 金, 原 明香, 高村聡美, 柳葉美里,
澤井 健, 橋爪 力, 長日及び短日条件
下で Salsolinol により誘起されるヤギ
のプロラクチン分泌に及ぼすドーパミ
ンの影響, 日本畜産学会第 116 回大会,
2012 年 3 月 28 日 ~ 30 日, 安田女子大学
(広島市)

Hashizume T., Yaegashi T., Jin J., Sawai
K., Fülöp E., Nagy G. M., Effects of
melatonin on salsolinol-induced prolactin
secretion in goats, 17th International
Congress on Animal Reproduction (ICAR),
July 29 - August 2, 2012, Vancouver,
Canada

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://sp2.cc.iwate-u.ac.jp/~hashi/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

橋爪 力 (Hashizume, Tsutomu)
岩手大学 農学部 教授
研究者番号 : 60124533

(2)研究協力者

György Miklos Nagy

Department of Human Morphology
Semmelweis University, Hungary, 教授

Ferenc Fülöp
Institute of Pharmaceutical Chemistry
University of Szeged, Hungary, 教授