

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 10 日現在

機関番号：82112

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450403

研究課題名(和文)ウシ成長ホルモン分泌リズムの形成における光の役割と神経機構の解明

研究課題名(英文)The central regulatory mechanism of the effect of light on growth hormone secretory rhythm in cattle.

研究代表者

粕谷 悦子(Kasuya, Etsuko)

国立研究開発法人農業生物資源研究所・動物生産生理機能研究ユニット・主任研究員

研究者番号：90355743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ウシの生産性(増体・泌乳)に重要な役割を演じている成長ホルモン(GH)の分泌リズムを光が攪乱する現象の中樞神経系による調節機構について、特にドーパミン(DA)神経の作用を明らかにすることを目的とした。その結果、DAがGHピークの形成において刺激性的な作用をもつことが明らかとなったが、光によるGH分泌攪乱現象におけるDAの役割を明らかにすることはできなかった。また、光によるGH分泌攪乱現象の調節機構は複雑で、DA神経系だけでなく他の要因も関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the regulatory mechanism underlying the suppressive effect of light exposure during dark period on GH secretory pattern in cattle, the role of the central nervous system, especially dopaminergic (DA) neurons, were evaluated. It is suggested that DA neurons have a stimulatory effect on GH secretion and are involved in generating spontaneous GH ultradian rhythm in cattle. However, the role of DA in the suppressive effect of light on GH remains to be clarified.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：成長ホルモン ウシ ドーパミン 光 視床下部 下垂体 環境要因

### 1. 研究開始当初の背景

下垂体前葉から分泌される成長ホルモン(GH)は、過剰になればアクロメガリー、不足すれば低身長症などの病態を生じることから、医学領域においてはその分泌調節について最も研究の進んでいる内分泌因子の一つである。GH 分泌の促進が増体や泌乳量の増加という生産に正の影響をもたらすことから、畜産学においてもその分泌動態や調節機構については長年研究が行われてきた。その結果、ウシにおいては外因性の GH 投与による増体促進や乳量増加の技術が開発されてはいるものの、食品の安全性や消費者の抱くイメージという観点に立って考えると、日本の生産現場では利用できないのが現状である。そのため、我が国において GH を中心とした内分泌軸(GH 軸)を利用したウシの生産性向上技術の開発を目指すためには、外部からのホルモン投与に頼らない新しいアプローチが必要となってくる。

ホルモンの分泌には、多くの場合、規則的な時間振動(リズム)が認められることから、分泌量を正確に把握するためにはその基本パターンを明らかにすることが必要となる。また、分泌量だけでなくそのリズム性やパターン自体にも生理的な重要性があると考えられている。GH の場合、ヒトでは夜間において睡眠に伴う大きな分泌のピークがみられることが良く知られているが、動物種によってその分泌パターンは異なり、ラットやヤギでは数時間間隔でのピークを伴う規則性を持った分泌パターンが報告されている。しかし、ウシにおいては分泌がパルス状であることはわかっていたものの、分泌パターンについては種々の報告があり、議論となっていたところであった。最近申請者らは、ウシの GH 分泌が約 6 時間間隔で大きなピークを示すこと(ウルトラジアンリズムの存在)を明らかにした(Kasuya et al., 2012、科研費 2009-2011)。この発見は、GH 軸を利用したウシの生産性向上を目指す上で、非常に重要な新しい知見と言える。

一方、ウシ GH 分泌は外部環境の影響を受けることが知られている。申請者らは、暗期における光曝露がウシ GH 分泌のピーク出現を抑制し、再度暗期に戻すとピークが直ちに発生することを明らかにした(Kasuya et al., 2008、科研費 2007-2008)。このことは、光刺激が正常な GH 分泌リズムを攪乱することを示しており、ひいては飼養条件としての明暗環境の変化が正常な GH 分泌パターンの形成を阻害する可能性を示唆しているが、そのメカニズムは未だ解明されていない。

GH の分泌調節機構として、GH 放出ホルモン(GHRH)、抑制ホルモン(ソマトスタチン; SS)及びグレリンといった、視床下部における液性調節に関する研究が主に進められているが、これら調節ホルモン以外に、脳内神経伝達物質の直接的な関与も示唆されている。中でもドーパミン(DA)神経系は、GH

の分泌リズムの形成に重要な役割を演じていることが知られている(Diaz-Torga et al., 2002)。また、DA は日長の変化を脳内に伝える経路の一端を担っている(Reuss et al., 1999)。これらのことから、光刺激による GH 分泌リズムの攪乱には、DA 神経系が強く関与している可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究は、光刺激を正常な GH 分泌リズムの攪乱因子ととらえ、DA 神経系を中心としたその調節機構を明らかにすることで、光環境制御によるウシ GH 軸の活性化を介した新しい生産性向上技術開発のための基礎的知見を蓄積することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 【基本実験条件】

実験動物は畜産草地研究所内で生産あるいは外部農場より購入された去勢ホルスタイン種ウシを用いた。年間供試頭数は 8-10 頭であった。供試月齢は 5-7 ヶ月齢とし、この月齢に達するまでは牛舎内において数頭単位の群飼とした。実験は、畜産草地研究所内の人工気象実験棟(ズートロン)で行った。供試月齢に達した後、脳室造影法による第 3 脳室内カテーテル留置を行い、その後実験まで 14 日以上十分な回復期間をおいた。基本明暗周期を 12 時間明期(12L; 500 lx):12 時間暗期(12D; <10 lx)とした。点灯及び消灯時間はそれぞれ 6:00 及び 18:00 とし、温度・湿度はそれぞれ 22・60%の一定条件であった。実験期間中、ウシは実験室内のスタンションストールに個別繋留し、粗飼料・濃厚飼料を日本飼養標準に基づいて日増体量が約 0.9 kg となるよう 8:30 及び 15:30 の 1 日 2 回給餌した。

#### (1)第 3 脳室から得られた脳脊髄液(CSF)中の DA 濃度変動と GH 分泌リズムとの関係

脳内 DA 濃度変動と GH 分泌の関係性を明らかにするため、あらかじめ第 3 脳室に装着したカニューレを介して、24 時間にわたり 1 時間ごとに CSF を採取し、CSF 中 DA 濃度を高速液体クロマトグラフィにより測定した。同時に頸静脈カテーテルより血液を採取し、血漿中 GH 濃度をラジオイムノアッセイ(RIA)により測定した。

#### (2)DA 前駆物質である L-DOPA の末梢投与が GH 分泌におよぼす影響

ウシ GH 分泌における DA の役割を明らかにするため、正常なウシ GH 分泌リズム(Kasuya et al., 2012)のうち、GH が頂値に近い時間あるいは底値に近い時間の双方において、頸静脈より L-DOPA を投与し、投与前 1 時間から投与後 3 時間までの間の血漿中 GH 濃度を RIA により測定した。また、DA<sub>2</sub> 型受容体アンタゴニストである sulpiride の投与も同様に、内因性 DA の影響も確認することと

した。

### (3)夜間の光曝露による GH 分泌の抑制におよぼす L-DOPA 投与の影響

ウシ GH 分泌において DA が刺激性の作用をもつことがわかったため、夜間光曝露時の GH 分泌の抑制に対する DA の効果(L-DOPA の投与)について検討した。12L:12D(基本実験条件参照)において、1)消灯、2)消灯+L-DOPA 投与、3)点灯(0:00-1:00 の 1 時間)、4)点灯+L-DOPA 投与の 4 処置を施した。L-DOPA は 0:00 に投与した。23:00-3:00 の 4 時間にわたり頸静脈カテーテルより採血し、血漿中 GH 濃度を RIA により測定した。

### (4)点灯方法の違いが夜間の GH 分泌攪乱におよぼす影響

DA 神経以外の機構のひとつとして、光刺激による驚愕反応の GH 分泌への関与を明らかにするため、点灯方法の違い(瞬時:驚愕反応を誘発、緩徐:驚愕反応を誘発しない)が夜間の GH 分泌攪乱におよぼす影響を検討することとした。12L:12D(基本実験条件参照)明暗において、1)消灯、2)瞬時点灯(瞬間的に目的照度(約 500 lx)に達する)、3)緩徐点灯(消灯状態から一定の速度で照度を上昇させ、2 分後に目的照度に達する)の 3 処置(点灯は 0:00-1:00 の 1 時間あるいは 0:00-2:00 の 2 時間)を施し、23:00-3:00 の 4 時間にわたり頸静脈カテーテルより採血し、血漿中 GH 濃度を RIA により測定した。

## 4. 研究成果

### (1)第 3 脳室から得られた脳脊髄液(CSF)中の DA 濃度変動と GH 分泌リズムとの関係

1 時間毎に採取した CSF 中の DA 濃度と血中 GH 濃度の変動に明確な関係はみられなかった。

### (2)DA 前駆物質である L-DOPA の末梢投与が GH 分泌におよぼす影響

GH 頂値付近(12:00)での L-DOPA 投与は GH 分泌を変化させなかったが、GH 底値付近(0:00)での L-DOPA 投与は GH 分泌を刺激した。一方、GH 頂値付近での sulpiride 投与は GH 分泌を抑制したが、底値付近での sulpiride 投与は GH 分泌を変化させなかった。

### (3)夜間の光曝露による GH 分泌の抑制におよぼす L-DOPA 投与の影響

夜間の光曝露により GH 分泌のピーク出現が消灯時に比べ約 1 時間遅延する現象は既報(Kasuya et al., 2008)と一致した。L-DOPA 投与は、消灯時・光曝露時ともに GH 分泌を刺激したが、光曝露による GH ピークの遅延には影響をおよぼさなかった。

### (4)点灯方法の違いが夜間の GH 分泌攪乱におよぼす影響

夜間の光曝露の際、緩徐点灯による GH 分

泌ピークの出現タイミングは瞬時点灯のときとくらべ違いがなかった。

## 【まとめ】

L-DOPA の投与が GH 底値付近では GH 分泌を刺激、頂値付近では GH 分泌を変化させなかったこと、また、sulpiride の投与が GH 底値付近では GH 分泌を変化させず、頂値付近では GH 分泌を抑制したことから、DA は主にウシ GH 分泌を刺激する作用を持ち、分泌リズムにおける個々のピークの形成に参与していることが示唆されたが、自発的な脳内 DA 濃度変動と GH 分泌との関係ははっきりしなかった。

夜間の光曝露による GH 分泌攪乱現象における DA 神経系の役割は明らかとならなかったが、これは DA 神経系以外の調節機構の存在を示唆するものであった。DA 以外の分泌調節機構の候補として光曝露に対する驚愕反応の影響もあわせて検討したが、点灯方法の違いが GH 分泌に影響をおよぼさなかったことから、夜間光曝露による GH 分泌攪乱現象におよぼす驚愕反応の関与の可能性は低いと考えられた。

DA はウシ GH 分泌ピークの形成に参与しているものの、夜間光曝露時の GH 分泌攪乱における役割および他の調節因子の関与についてはさらに検討の必要がある。

## 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 1 件)

(1) Kasuya, E. (2016) Secretory pattern and regulatory mechanism of growth hormone in cattle. *Animal Science Journal* 87: 178-182

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) 粕谷悦子、須藤まどか、篠田晶子、渡辺隆史 (2016) 暗期中断時照明の違いがウシ血中メラトニン濃度におよぼす影響 日本畜産学会第 121 回大会講演要旨集 245

(2) 粕谷悦子、須藤まどか、矢用健一、大谷文博 (2015) L-DOPA の投与が夜間光曝露によるウシ成長ホルモン分泌抑制に及ぼす影響 日本畜産学会第 120 回大会講演要旨集 91

(3) 粕谷悦子、須藤まどか、矢用健一 (2014) ウシ成長ホルモン分泌リズム形成におけるドーパミンの役割 日本畜産学会第 118 回大会講演要旨集 226

〔図書〕(計 1 件)

(1) 粕谷悦子 (2015) 技術フォーカス「光が泌乳・成長に及ぼす影響とメカニズム」 *デーリマン* 65: 36-37

〔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：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

粕谷 悦子 (KASUYA, Etsuko)  
国立研究開発法人農業生物資源研究所・動物生産生理機能研究ユニット・主任研究員  
研究者番号：90355743

(2) 研究分担者

須藤 まどか (SUTOH, Madoka)  
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・家畜生理栄養研究領域・上席研究員  
研究者番号：40355087

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：