

氏名 (本籍)	しら い みつ ゆき 白井明志 (山口県)
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	甲第 53 号
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 1 項該当
学位論文題名	ラットにおける視床下部・下垂体・甲状腺系の周生期発達に関する実験的研究
論文審査委員	(主査) 教授 江口保暢 (副査) 教授 鹿野 胖 教授 渡植 貞一郎

### 論文内容の要旨

成体において、甲状腺ホルモンの分泌調節は、視床下部 — 下垂体 — 甲状腺系のネガティブフィードバック機構によって行われていることは広く知られている。

しかし、発育途上の胎仔において、この視床下部 — 下垂体 — 甲状腺系の機能がある時期に突然完成するのではないであろう。これまでにラットを用いて、胎仔あるいは新生仔の視床下部、下垂体および甲状腺の相互関係について、視床下部除去、下垂体除去、あるいは抗甲状腺剤の使用といった方法によって数多くの研究がなされており、いずれも、胎生末期において胎仔下垂体は甲状腺を支配しているが、この下垂体—甲状腺系に対して視床下部は胎生期のみならず出生後しばらくの間は支配関係にはないという見解を示している (Jost and Geloso, 1967; Štrbák and Greer, 1979)。しかし、これらの報告には甲状腺そのものの微細構造の変化をとらえたものはないので、電子顕微鏡を用いて、種々の処置後の濾胞上皮細胞の微細構造の変化を観察し、視床下部、下垂体および甲状腺の相互関係を実験形態学的に解明するのは非常に興味深いことであると思われる。

一方では、視床下部が下垂体 — 甲状腺系を支配していない時期においてもすでに、ラット胎仔の視床下部に TRH の存在が認められている (Barnea et al., 1977)。また、胎仔および新生仔の下垂体は外来的な TRH に反応して TSH を放出することができるという (D' Angelo and Wall, 1972; Oliver et al., 1981)。この外来的に TRH を投与した時、甲状腺はどのような形態学的な変化を示すのかについても非常に興味を持たれるところである。

以上のことから、本研究は Wistar 系ラットを用い次の事項を明らかにすることを目的とした。

- 1) 周生期の甲状腺は、どのような発達過程を示すのか。
- 2) 胎仔の下垂体除去あるいは視床下部除去を行った場合、胎仔甲状腺はどのような微細構造の変化を示すのか。
- 3) 2) の状態で抗甲状腺剤を作用させた場合、胎仔甲状腺はどのような微細構造の変化を示すのか。
- 4) 新生仔において、甲状腺ホルモン分泌調節のネガティブフィードバック機構は作動しているのか。
- 5) 外来的に TRH を投与した場合、下垂体は TSH を放出するのか、また、その時、甲状腺はどのような変化を示すのか。

## 第1章 ラット甲状腺の周生期発達

胎齢16日の甲状腺は、不規則な細胞塊と放射状配列をした細胞塊から構成されていた。間質には、毛細血管が存在していた。電子顕微鏡によって、放射状配列をした細胞塊の中心部に微絨毛が観察され、濾胞の形成が始まっていることが観察された。濾胞上皮細胞にはミトコンドリア、ゴルジ装置および粗面小胞体の細胞内小器官が認められたが発達の悪いものであった。胎齢17日になると、放射状配列をした細胞塊の中心にコロイドの蓄積が認められ、初めて濾胞が観察された。胎齢18日以降胎齢21日まで胎齢を増すごとに濾胞の拡大と上皮高の増加が見られた。濾胞上皮細胞においては、粗面小胞体の発達が特徴的であった。出生後1日から3日まで濾胞上皮細胞の高さが低くなり、粗面小胞体も縮小した。5日以降再び濾胞の拡大など発達を続けた。

以上の観察結果から、濾胞の形成は、胎齢16日から17日にかけて行われること、出生後1日から3日までその発達を停滞させること、粗面小胞体が甲状腺の発達・分化の程度および機能的状態をよく反映していることが明らかとなった。

## 第2章 ラット胎仔の除脳および下垂体除去後の甲状腺濾胞上皮細胞の変化

妊娠16日～19日に子宮内胎仔の除脳（視床下部除去を意味する）あるいは下垂体除去を行い、2日後の甲状腺濾胞上皮細胞の微細構造の変化を調べた。胎齢18日の下垂体除去胎仔においては、対照胎仔と比べて甲状腺重量は減少し、濾胞上皮細胞の「核/細胞」面積比が増加し、「粗面小胞体/細胞質」面積比は減少し、濾胞上皮細胞の発達・分化の遅延が見られた。これらの所見は、すべての胎齢で認められた。また、胎齢20日と21日においては、濾胞上皮細胞は、偏平で細胞質に乏しく、微絨毛は短縮し、粗面小胞体は縮小し、機能的にも低下しているものが観察された。除脳胎仔においては、すべての胎齢において対照胎仔と比べて、甲状腺重量、「核/細胞」面積比および「粗面小胞体/細胞質」面積比のすべてにおいて有意的な差は認められず、形態学的にも濾胞上皮細胞はほぼ同様の形態を示した。以上の結果から、胎仔の下垂体—甲状腺系は、胎仔の視床下部による支配を受けていないことが示唆された。

## 第3章 母体プロピルチオウラシル投与後のラット除脳および下垂体除去胎仔の甲状腺の変化

ラットの妊娠19日に子宮内胎仔の除脳あるいは下垂体除去を行った後、19日と20日に抗甲状腺作用のあるプロピルチオウラシル (PTU) を母体に飲ませ、21日の胎仔の甲状腺の変化を調べた。PTUを投与した母体の無処置胎仔では、生理的食塩水を投与した母体の対照胎仔と比べて、甲状腺重量は増加し、濾胞上皮細胞の「核/細胞」面積比は減少し、「粗面小胞体/細胞質」面積比は増加した。濾胞腔は狭くなり、微絨毛は発達し、濾胞上皮細胞の細胞質中には再吸収コロイド滴やライソゾームが観察された。下垂体除去胎仔においては、甲状腺重量は減少し、濾胞上皮細胞は偏平となり、粗面小胞体は縮小した。以上の結果から、胎仔の下垂体—甲状腺系のネガティブフィードバック機構に対して、胎仔の視床下部は支配関係にはないことが示唆された。

## 第4章 プロピルチオウラシル投与後のラット胎仔および新生仔の甲状腺の変化

胎齢19日の胎仔と、出生後1日、3日、5日および8日の新生仔に抗甲状腺作用のあるプロピルチオウラシル (PTU) を投与し、2日後の甲状腺の変化を調べた。胎齢21日において、PTUを投与した胎仔は、対照胎仔と比べて、甲状腺重量が増加し、濾胞上皮細胞高が高くなり、コロイド蓄積量は減少し甲状腺腫が引き起こされた。濾胞上皮細胞には、再吸収コロイド滴やライソゾームが出現した。出生後3日および5日に

においては、PTUを投与した新生仔の甲状腺と対照仔の甲状腺には、その重量、形態に差異は認められなかった。出生後7日および10日においては、PTUを投与した新生仔は、甲状腺重量を体重比に換算した値が、対照仔と比べて大きくなった。濾胞上皮細胞の高さは高くなり、濾胞上皮細胞には再吸収コロイド滴やライソゾームが出現した。以上の結果から、周生期の甲状腺ホルモン分泌調節のネガティブフィードバック機構は、胎生期には確立しているが、出生後5日までは機能的に停滞し、5日以降7日までには再作動することが示唆された。

#### 第5章 甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) 投与後のラット胎仔および新生仔の甲状腺の変化

胎齢19日の胎仔と出生後2日、4日、6日および9日の新生仔にTRHを投与して、その翌日の甲状腺の変化を調べた。胎齢20日において、TRHを投与した胎仔は、対照胎仔と比べて甲状腺重量は増加し、濾胞上皮細胞の高さは高くなった。濾胞上皮細胞にはライソゾームや再吸収コロイド滴が出現した。出生後においても、TRHを投与した新生仔は、胎齢20日の胎仔と同様、濾胞上皮細胞の高さは高くなり、濾胞上皮細胞にはライソゾームや再吸収コロイド滴が出現した。以上の結果から、胎生末期から出生後の新生仔期の間を通して、外来的にTRHを投与した場合、下垂体はTSHを放出できることが示唆された。

以上、本実験の結果から次のような結論が得られた。

- 1) 周生期のラットの甲状腺は、胎齢16日から17日にかけて濾胞の形成とコロイドの蓄積が進行し、その後胎生期においては発達を続ける。出生後、1日から3日の間、発達が停滞するが、5日以降再び発達する。濾胞上皮細胞の粗面小胞体は、甲状腺の発達・分化の程度および機能状態を示す指標となりえる。
- 2) 胎仔甲状腺の発達・分化は、胎仔下垂体の支配を受けるが、この下垂体—甲状腺系に対して視床下部は支配関係にない。
- 3) 胎生期の下垂体—甲状腺系のネガティブフィードバック機構に対して視床下部は、関与していない。
- 4) 下垂体—甲状腺系のネガティブフィードバック機構は、出生後5日までは機能的に停滞するが、5日以降7日までに再作動する。
- 5) 胎生末期の胎仔および新生仔の下垂体は、外来的なTRHに反応してTSHを放出することができる。

### 論文審査の結果の要旨

成体において、下垂体は視床下部から放出される甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) によって刺激され、甲状腺刺激ホルモン (TSH) を放出する。TSHは甲状腺を刺激して甲状腺ホルモンを放出せしめる。循環血中の甲状腺ホルモンが過剰になれば、視床下部からのTRH放出が抑制され、下垂体からのTSH放出が減ずる。

このような視床下部・下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構は、発生期においては、初めから成立しているわけではない。甲状腺の初期の濾胞の形成は下垂体から独立して行われ、濾胞のその後の発達と甲状腺ホルモンの分泌は、下垂体支配のもとに行われ、初期はこれらの事象に視床下部は関与しないことが、これまでの多くの研究で明らかにされてきた。ラットにおいては、出生後もしばらくは下垂体・甲状腺系は視床下部の支配下にはないといわれている。にもかかわらず、胎仔期には、視床下部にTRHの存在が認められ (Barnea et al., 1977)、下垂体は外来のTRHに反応してTSHを放出するという (D'Angelo & Wall, 1972; Oliver et al., 1981)。

これらのこれまでの研究結果の多くは、甲状腺の重量計測、血中、組織中のホルモンの定量に基づくもので、甲状腺の形態学、とくに微細構造の変化を実験的に調べたものはない。本研究は、過去のいろいろな実験手技を繰り返し、とくに甲状腺そのものに起きる形態学的変化を観察し、もって周生期の視床下部・下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構の変遷を明らかにしようとするものである。なかでも、出生後初期の下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構の成・不成立の検索や、TRH投与による甲状腺形態変化の検索は、独特であり、興味深いものがある。本論文は五つの章から成っており、その内容を要約すれば次の通りである。

第1章では、ラット甲状腺の周生期の形態学的発達を取り扱っている。このことは、第2章以下の研究の基礎となるとともに、とくに出生の前後の正常変化をとらえる意義もっている。

濾胞形成の始まる直前の上皮細胞は、発達は十分でないながらも濾胞上皮細胞としての細胞内小器官を備え、胎生末期に向かって粗面小胞体(rER)の拡張、濾胞の拡大、細胞高の増加が見られた。出生後、細胞高は低くなり、同時にrERの縮小がみられ、生後5日以降再び濾胞の拡大、rERの拡張が見られ、とくにrERの動態から、生後一時期、甲状腺の活動が停滞することが暗示された。

第2章では、ラット胎仔を除脳(視床下部除去を意味する)あるいは下垂体を含めて除脳(下垂体除去を意味する、以下単に下垂体除去という)し、甲状腺濾胞上皮細胞の微細構造の変化を調べた。

除脳胎仔においては、正常胎仔に比べて、甲状腺重量はもとより、濾胞上皮細胞の電顕像における「核/細胞」面積比、「rER/細胞質」面積比などほとんど変化がなかった。一方、下垂体除去胎仔では、甲状腺重量は減じ、濾胞上皮細胞は扁平となり、濾胞腔に面する微絨毛は短縮し、rERは縮少し、機能低下の像を示した。このことから、胎仔の下垂体は視床下部から独立して甲状腺を支配することが、電顕的にも示唆された。

第3章では、抗甲状腺作用のあるプロピルチオウラシル(PTU)を用い(これを用いると、甲状腺ホルモンが生産されなくなり、下垂体からTSHが放出され、甲状腺が肥大する)、胎仔の除脳と下垂体除去を併用して、胎仔甲状腺の変化を調べた。

PTUを飲ませた母体の無処置胎仔および除脳胎仔では、甲状腺肥大、濾胞上皮細胞の増大、rERの拡張、細胞内再吸収コロイド滴およびライソゾームの存在がほとんど同程度に示された。一方、下垂体除去胎仔では、甲状腺重量が減少し濾胞上皮細胞の扁平化、rERの縮小が見られた。このことから、胎仔の下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構は視床下部から独立して行われることが、電顕的にも示唆された。

第4章では、PTUを胎仔および新生仔に直接皮下注射して、その甲状腺の変化を調べた。

胎仔では、PTU皮下投与により、甲状腺重量が増加し、濾胞上皮細胞は高くなり、rERが拡張し、再吸収コロイド滴やライソゾームが出現した。しかるに、生後3日、5日の新生仔ではPTUの投与によってこれらの変化は全く認められず、生理的食塩水を注射した対照仔甲状腺とほとんど同様の状態であった。生後7日および10日では、PTU投与に反応して甲状腺重量が増し、濾胞上皮細胞の高さが増し、rERの拡張と再吸収コロイド滴およびライソゾームが出現した。このことから、胎仔では甲状腺ホルモン分泌のネガティブフィードバック機構が作動しており、出生後では、5日ぐらまではこの機構の作動が停滞し、その後再作動するということがここに示唆された。出生後すぐの一時期にこの機構が作動しないことは、第1章の正常発生の観察でも予見されることであるが、その理由に関して、本論文では、出生を境とする血中甲状腺ホ

ルモン濃度の低下にもかかわらず、血中TSH濃度が低いままであること (Walker et al., 1980), 新生仔下垂体内のサイロキシンからトリヨードサイロニンへの転換が盛んである (Larsen et al., 1979) という文献に基づき、下垂体内のトリヨードサイロニン濃度が高いため、下垂体のTSH放出能が抑制されているのではないかと推論している。

第5章では、TRHに対する胎仔および新生仔の甲状腺の変化を通じて、下垂体のTRH反応を論じている。

胎仔および新生仔にTRHを直接皮下注射すると、両者とも、甲状腺は重くなり、濾胞上皮細胞高は増し、rERの拡張、再吸収コロイド滴やライソゾームの出現を示した。この結果は、視床下部支配を必要としない胎仔の時期にあっても下垂体はTRHに反応性を持つことを再確認するとともに、下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構が作動しない新生仔でも、下垂体はTRHに反応することを示した。

以上の結果から本論文は、(1)周生期のラット甲状腺は胎仔末期に向かって次第にその機能的発達が進み、生後しばらくの間甲状腺の活動が停滞するであろうこと、(2)胎仔甲状腺の発達には胎仔自身の下垂体が直接関与し、下垂体の働きは視床下部支配から独立していること、(3)下垂体と甲状腺との間のネガティブフィードバック機構も、視床下部から独立して作動していることを、いろいろな実験手段を用いて、甲状腺の濾胞上皮細胞の微細構造の変化をもとにして電顕的に立証した。さらには、胎仔・新生仔に直接PTUを投与するという新手法を用い、(4)下垂体・甲状腺系のネガティブフィードバック機構は出生後5日ぐらいまで停滞し、それ以後再作動することを示唆し、(1)の正常甲状腺像の示唆するところと関連づけた。また、(5)視床下部支配を必要としない胎仔においても、下垂体・甲状腺系が機能的に停滞している新生仔においても、下垂体は外来のTRHに反応して甲状腺を刺激することを示した。これらのことは、周生期甲状腺が視床下部支配なしでの下垂体支配下で分化していく様子をとらえ、生後一時的機能減退を実験形態学になお一層明らかにしたものであり、本論文は甲状腺の内分泌腺としての周生期の形態発生のみならず、周生期の生理学的変化機構の解明に大きく貢献したものとして高く評価でき、獣医学博士の学位を授与するのにふさわしいものと判定した。