

学 位 論 文 題 名

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) に
おける精巣機能の季節変化の制御機序に関する研究

学位論文内容の要旨

多くの野生動物は、食物が豊富な時期に出産し、子育てを行うために、1年のうち特定の時期にのみ繁殖を行う。本研究の対象であるニホンツキノワグマは長日性季節繁殖動物であり、雄雌ともに性腺の機能が季節によって大きく変化する。雄ツキノワグマの繁殖については、精子形成およびテストステロン濃度の変化についてよく調べられてきたが、その変化の機序についてはまだ分かっていないことが多い。そこで本研究では、ツキノワグマの精巣機能の季節変化をもたらす生理学的機序の一端を解明することを目的とした。性腺機能の変化は、主に視床下部-下垂体-性腺軸を中心とする内分泌系および精巣局所における性ステロイドホルモンの作用によりもたらされる。そのため本研究では、下垂体から分泌される性腺刺激ホルモンおよび精巣における性ステロイドホルモン合成に関わるステロイド代謝酵素に注目して研究を行った。

屋外で活動し、冬は冬眠するなど自然に近い状態で飼育されている成熟雄ツキノワグマを用い、精巣の活性期(5~7月)、退行期(10~11月)および精子形成再開期(12~4月)に精巣組織および血液を採取した。精子形成再開期には月1回の採材を行った。

まず、血漿テストステロン、性腺刺激ホルモン(FSHおよびLH)、インヒビン濃度の変化と精巣における性腺刺激ホルモン受容体(FSHrおよびLHr)のmRNA発現について調べた。血漿テストステロンおよびインヒビン濃度は精子形成再開期および活性期に精巣サイズの増大に伴って有意に上昇し、FSH濃度は精子形成再開期に上昇する傾向にあった。FSHr mRNAは、精細管基底部に調べた全ての月において発現が認められたことから、FSHが精子形成に対して促進的に働いていることが示唆された。LH受容体のmRNAは間質組織に発現が認められたが、LH濃度およびLH受容体の発現には有意な変化は認められなかった。インヒビンの濃度変化はテストステロンの変化と同調しており、精巣機能の活性化に伴って上昇したと考えられた。

次にツキノワグマにおけるステロイド代謝酵素のmRNA塩基配列を決定し、*in situ* hybridization法により精巣における発現部位を調べた。性ステロイドホルモン合成は、精巣内でコレステロールが5種のステロイド代謝酵素(P450scc, 3 β HSD, P450c17, 17 β HSD3およびP450arom)の作用を受けることにより合成される。ツキノワグマにおけるステロイド代謝酵素mRNA配列は、いずれもイヌと高い相同性を示した。P450scc, 3 β HSD

およびP450c17のmRNA発現は間質組織に認められ、一方、 17β HSD3 mRNAは 間質組織に加えて精細管の基底部でも発現が認められた。これらのことから、間質組織でアンドロステンジオンまでの代謝が行われ、間質組織に加えて精細管基底部でもテストステロン合成が行われている可能性があると考えられた。また、エストロジェンは精細胞とライディッヒ細胞が産生場所であると考えられた。

続いてこの5種の酵素と、ミトコンドリアへのコレステロール輸送に関わるStARタンパク質の遺伝子発現量の季節変化を調べた。その結果、アンドロジェン合成に関わる4種の酵素のうち 3β HSD mRNAのみ発現が、退行期に比べて活性期に有意に高い値を示した。 3β HSDの遺伝子発現変化は血漿テストステロン濃度変化と同調しており、この酵素の遺伝子発現の制御がライディッヒ細胞のテストステロン合成能の季節変化に関係していると考えられた。一方、P450arom mRNAも活性期に有意に高い発現が認められた。血漿エストロジェン濃度には、mRNA発現の変化に伴う変動は認められなかったものの、精巣におけるエストロジェン合成も季節によって変動すると考えられた。

最後にテストステロンの標的であるアンドロジェン受容体の発現を免疫組織化学的に検出した。アンドロジェン受容体は、活性期の精巣においてセルトリ細胞、ライディッヒ細胞などの体細胞に認められ、テストステロンはこれらの細胞に作用すると考えられた。

本研究では、顕著な性腺機能の季節変化を示すツキノワグマという動物において、精巣機能変化の制御に関わる繁殖生理的機序の一端を明らかにした。本研究で得られた結果は、季節繁殖動物における性腺の季節性のメカニズムを解明する上で、比較繁殖生理学的な観点から興味深い知見を提供するものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 坪 田 敏 男

副 査 教 授 高 橋 芳 幸

副 査 教 授 昆 泰 寛

副 査 教 授 片 桐 成 二 (酪農学園大学)

学 位 論 文 題 名

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) に おける精巣機能の季節変化の制御機序に関する研究

多くの野生動物は、食物が豊富な時期に出産し、子育てを行うために、1年のうち特定の時期にのみ繁殖を行う。ニホンツキノワグマは長日季節繁殖動物であり、雄ツキノワグマの性腺機能である精子形成およびテストステロン濃度が季節によって変化することはよく調べられてきたが、その変化の機序についてはまだ分かっていないことが多い。そこで本研究では、ツキノワグマの精巣機能の季節変化をもたらす生物学的機序の一端を解明することを目的とし、下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌および精巣におけるステロイド代謝酵素の発現と、精巣機能の変化との関係を中心に調べた。

クマ牧場で飼育されている成熟雄ツキノワグマを用い、精巣の活性期(5~7月)、退行期(10~11月)および精子形成再開期(12~4月)に精巣組織および血液を採取した。精子形成再開期には月1回の採材を行った。

血漿テストステロンおよびインヒピン濃度は精子形成再開期および活性期に精巣サイズの増大に伴って有意に上昇し、FSH濃度は精子形成再開期に上昇する傾向にあった。FSH受容体mRNAは、調べた全ての月において、精細管基底部に発現が認められ、FSHおよびテストステロン分泌の増加が精子形成に対して促進的に働いていることが示唆された。血漿LH濃度および精巣のLH受容体の発現には有意な変化は認められなかった。

ツキノワグマ精巣で発現するステロイド代謝酵素(P450scc, 3βHSD, P450c17, 17βHSD3およびP450arom)mRNA配列は、いずれもイヌの配列と高い相同性を示した。各酵素の発現から、ライディッヒ細胞ではテストステロンおよびエストロジェンが、また、伸長型精子細胞ではエストロジェンが合成されていると考えられた。アンドロジェン合成に関わる4種の酵素のうち、3βHSD mRNAのみに有意な発現変化が認められ、血漿テストステロン濃度変化を伴っていた。このことから、この酵素の遺伝子発現の制御がライディッヒ細胞のテストステロン合成能の季節変化に最も深く関与していると考えられた。一方、血漿エストロジェン濃度には変動は認められなかったが、精巣におけるエストロジェン合成も季節によって変化することが示唆された。

最後に精巣のアンドロジェン受容体発現を免疫組織化学的に検出した。アンドロジェン受容体は、セルトリ細胞、ライディッヒ細胞などの体細胞に認められ、テストステロンはこれらの細胞に作用すると考えられた。

本研究では、ツキノワグマにおいて性腺刺激ホルモン分泌およびステロイド代謝酵素発現が精巣機能変化の制御機序の一端に関わっている知見を提示した。これらの知見は、

ツキノワグマをはじめとする季節繁殖動物の季節繁殖性メカニズムを明らかにする上でその意義は大きい。よって審査員一同は、上記博士論文提出者飯渕るり子氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規定第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。