

学位論文題名

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) における冬眠前の脂肪蓄積機構に関する研究

学位論文内容の要旨

ニホンツキノワグマ（以下、ツキノワグマ）は摂食、体重変動および繁殖の概年リズムを有し、それぞれが密接に関連している。ツキノワグマの生存および繁殖を考える上で、秋の体脂肪蓄積が重要な意味を持つが、ツキノワグマの体重（体脂肪）調節に関する代謝メカニズムは明らかになっていない。そこで、本研究では冬眠前の脂肪蓄積機構に焦点を当て、その代謝メカニズムを明らかにすることを目的とした。

まず、第1章では、代謝の要を担う肝臓に注目し組織学的観察を行い、体重の変動に伴う肝臓の形態学的変化、特に脂肪およびグリコーゲンの蓄積に注目し、その季節変化について検討した。その結果、組織学的変化として、肝細胞の退色や空胞化が認められ、これらの肝細胞はPAS染色に陽性を示し、アミラーゼ消化試験で陽性像が消失したことから、グリコーゲンが蓄積していると考えられた。野生個体では、グリコーゲン蓄積の程度および分布に多様性が認められ、不安定な摂食状況を反映していることが考えられた。一方、飼育個体では、全ての月および個体で中等度以上のグリコーゲンがびまん性に蓄積しており、栄養状態の良さが示された。また、今回の結果では、野生および飼育個体ともに冬眠前の11月にややグリコーゲン蓄積量が増加する傾向が認められた。その一方で、脂肪蓄積は認められなかったことから、肝臓における脂肪合成および血中へのVLDL分泌などの代謝メカニズムが機能亢進していることが推測された。

第2章では、ツキノワグマにおいて安全で効果的、かつ、血液生化学値および静注糖負荷試験の結果に影響の少ない麻酔プロトコルを確立することを目的として、4種類の麻酔プロトコル（TZN：TZ 9 mg/kg体重の単独投与、TZA：TZ 6 mg/kg体重およびアセプロマジン0.1 mg/kg体重、TZB：TZ 6 mg/kg体重およびブトルファノール0.3 mg/kg体重、TZM：TZ 3 mg/kg体重およびメデトミジン40 μg/kg体重）の安全性と効果を検証した。麻酔薬の安全性については、4種類全ての組み合わせにおいて心肺機能への悪影響は認められず、麻酔の導入および維持を安全に行うことができることを示した。ただし、TZA群、TZB群およびTZM群では軽度の低体温が認められたため、これらの麻酔薬を寒冷環境下で使用する場合には、適切な加温処置を行う必要

があることが分かった。また、各群間で血中脂質 (TG、TCHO、NEFA) および肝酵素 (ALT、AST) の値に有意差が認められなかったことから、今回使用した麻酔薬の組み合わせのこれら血液生化学値への影響はほとんどないと考えられた。静注糖負荷試験への影響については、TZN、TZAおよびTZBの3種類はほとんど影響を与えなかったため、ツキノワグマにおいて静注糖負荷試験を行う際の不動化薬として利用できると考えられた。一方、TZMについては、メデトミジンによる高血糖作用およびインスリン分泌抑制作用が認められたため、ツキノワグマの糖代謝を研究するにはメデトミジンを使用すべきでないことがわかった。

第3章では、インスリンによる糖代謝調節に焦点を当て、冬眠前の飽食期にはインスリン感受性を変化させることで糖質を効率よく脂質へと変換する代謝機構へと移行するのではないかという仮説を立て、この仮説を検証した。第1節では活動期と飽食期における血液生化学値および静注糖負荷試験における血中グルコースおよびインスリン濃度の変化について検討し、その結果、血液生化学値の変化として、体重の増加に伴って血中TG濃度の有意な減少が認められた。静注糖負荷試験では、11月上旬において末梢インスリン感受性の増加および耐糖能の向上が示唆され、11月下旬にはインスリン応答が増大し、インスリン抵抗性が示唆された。これらの結果から、活動期から飽食期へとツキノワグマの糖・脂質代謝が変化し、飽食期には脂肪蓄積に傾いた代謝状態を示すとともに、末梢組織におけるインスリン感受性が増加することによってグルコースの取り込みが促進されることが示唆された。第2節ではインスリン負荷試験により末梢におけるインスリン感受性の変化について検討した。インスリン投与後のグルコース消失速度に有意な変化は認められなかったものの、実験に供した4頭中3頭において、6月、11月上旬および11月下旬の3群間でグルコース消失速度にばらつきが認められ、11月上旬にインスリン感受性が増加する傾向が認められた。個体によって大きなばらつきが認められたことは、インスリン感受性が変化するタイミングに個体差があることを示唆していると考えられた。

本研究では、ツキノワグマの糖・脂質代謝に影響を与えない麻酔プロトコールを確立するとともに、飽食期にツキノワグマ特有の脂肪蓄積メカニズムが存在する可能性を示唆した。本研究で示した手法を活用して、今後ツキノワグマの代謝研究がさらに発展することを期待したい。

学位論文審査の要旨

主査	教授	坪田敏男
副査	教授	昆泰寛
副査	教授	葉原芳昭
副査	教授	木村和弘

学位論文題名

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) における冬眠前の脂肪蓄積機構に関する研究

ツキノワグマは摂食、体重変動および繁殖の概年リズムを有し、それぞれが密接に関連している。ツキノワグマの生存および繁殖を考える上で、秋の体脂肪蓄積が重要な意味を持つが、ツキノワグマの体重（体脂肪）調節に関する代謝メカニズムは明らかになっていない。そこで、本研究では冬眠前の脂肪蓄積機構に焦点を当て、その代謝メカニズムを明らかにすることを目的とした。

第1章では、代謝の要を担う肝臓に注目し組織学的観察を行い、体重の変動に伴う肝臓の形態学的変化、特に脂肪およびグリコーゲンの蓄積に注目し、その季節変化について検討した。野生および飼育個体ともに冬眠前の11月にややグリコーゲン蓄積量が増加する傾向が認められた一方、全ての個体で脂肪蓄積は認められなかったことから、肝臓における脂肪の合成および分解のバランスが保たれていることが示唆された。

第2章では、ツキノワグマにおいて安全で効果的、血液生化学値および静注糖負荷試験の結果に影響の少ない麻酔プロトコルを確立することを目的として、4種類の麻酔プロトコル（TZN：チレタミン・ゾラゼパムの混合薬（TZ）のみ、TZA：TZ+アセプロマジン、TZB：TZ+ブトルファノール、TZM：TZ+メデトミジン）の安全性と効果を検証した。4種類全てにおいて心肺機能への悪影響は認められず、血液生化学値への影響もほぼないことが示唆された。静注糖負荷試験への影響については、TZN、TZAおよびTZBの3種類は影響を与えなかったが、TZMについては、メデトミジンによる高血糖作用およびインスリン分泌抑制作用が認められたため、ツキノワグマの糖代謝を研究する際には使用すべきでないことがわかった。

第3章では、「冬眠前の飽食期にはインスリン感受性を変化させることで糖質を効率よく脂質へと変換する代謝機構へと移行する」という仮説を立て、活動期と飽食期における血液生化学値および静注糖負荷試験における血中グルコースおよびインスリン濃度の変化について検討した。その結果、体重の増加に伴い血中中性脂肪濃度の有意な減少が認められ、静注糖負荷試験では、11月上旬に末梢インスリン感受性の増加および耐糖能の向上が示唆され、11月下旬にはインスリン抵抗性が示唆された。これらの結果から、飽食期には脂肪蓄積に傾いた代謝状態を示すとともに、末梢組織におけるインスリン感受性の増加によってグルコースの取り込みが促進されることが示唆された。

本研究では、飽食期にツキノワグマ特有の脂肪蓄積メカニズムが存在する可能性が示唆された。これらの知見は、ツキノワグマの糖・脂質代謝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加味根あかり氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第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。