

氏 名 (本籍)	小 松 武 志 (長 野 県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博乙第 2 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 0 年 3 月 1 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	Seasonal Changes in the Testes of Japanese Black Bear, <i>Ursus thibetanus japonicus</i>
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝 副査 帯広畜産大学 教 授 佐 藤 邦 忠 副査 岩 手 大 学 教 授 谷 口 和 之 副査 東京農工大学 教 授 金 田 義 宏 副査 岐 阜 大 学 教 授 柵 木 利 昭

論 文 の 内 容 の 要 旨

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) は、初夏に交尾期をむかえる季節繁殖動物である。クマ類をはじめ季節繁殖動物の精巣の形態には顕著な季節変化が認められ、血清中テストステロン濃度とよく相関することが報告されている。しかしながら、ニホンツキノワグマにおける精巣の形態および血清中ステロイド濃度に関する研究は充分なされていない。本研究では、秋田県阿仁町クマ牧場において飼育されている飼育個体 3 頭から、1994 年 5、11 月および 1995 年 1、3、4、6 月に精巣生検によって組織材料を採取し、ニホンツキノワグマの精巣における季節変化を形態学的に明らかにした。さらに、精巣内のステロイド合成における季節変化をステロイド合成酵素の局在を免疫組織化学的に検討するとともに、テストステロンおよびエストラジオール-17 β の血中濃度をラジオイムノアッセイ法によって検索した。以上の成績から、精子形成の調節と精巣内ステロイド合成のメカニズムについて考察した。

精巣の精子形成活性における形態学的観察から、各材料採取時期を活性期(5、6月)、退行期(11月)、休止期(1月)、前回復期(3月)および後回復期(4月)に区分した。

活性期の精巣において、精子細胞を 11 ステップ、精上皮サイクルを 8 ステージに区分した。ステップ 1-2 の精子細胞には、ゴルジ装置がよく発達し、ステップ 3-5 では、それは核膜表面を被うアクロソームに沿って三日月状に配列していた。ステップ 6 の精子細胞は頭帽を基底膜方向に向け、細胞膜とアクロソーム外膜とが接していた。ステップ 9 ではアクロソームが Sertoli 細胞の細胞質へ突出し、ステップ 11 では細胞質のほとんどが Sertoli 細胞に取り込まれ、精細管腔中に遊離する精子と同様の形態を備えていた。

Leydig 細胞の微細構造は、精子形成活性と同様に顕著な季節変化を示した。Leydig

細胞の核および滑面小胞体は、退行および休止期に萎縮し、前および後回復期に発達しはじめていた。脂肪滴は退行および休止期に多数存在し、前および後回復期には減少した。Sertoli細胞においては、lipid inclusionが退行期に多数存在し、休止期に減少する季節変化が認められた。この変化は精細管腔に存在する退縮細胞塊の量の変化と平行していた。

ステロイド合成酵素の免疫局在についてみると、cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450、 3β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 -isomerase (3β HSD)および 17α -hydroxylase/ C_{17-20} lyase cytochrome P450はLeydig細胞に通年的に観察された。このうち 3β HSD陽性細胞数のみが、退行期から前回復期にかけて減少し後回復期から活性期にかけて増加した。aromatase cytochrome P450 (P450arom)は通年的にLeydigおよびSertoli細胞で観察され、後回復期および活性期に、精子細胞で、休止期および前回復期に、筋様細胞で観察された。また、P450arom陽性Leydig細胞数は活性期、休止期および前回復期で増加した。

血清中テストステロン濃度は、退行期および休止期に基底値であり、前および後回復期に上昇しはじめ後回復期および活性期に高値を示した。一方、血清中エストラジオール 17β -濃度には一定の季節変化は認められなかった。

以上のように、ニホンツキノワグマの精巣は形態学および内分泌学的に劇的な季節変化を示した。非交尾期には未分化型の精祖細胞とSertoli細胞しか観察されない精細管は、交尾期になると精上皮は8ステージに分類される。このような精子形成活性における季節変化は、血清中テストステロン濃度とよく相関した。また、Leydig細胞の核、滑面小胞体および脂肪滴における形態学的変化は、Leydig細胞のテストステロン合成能をよく反映していると考えられた。免疫組織化学的観察においては、 3β HSD陽性Leydig細胞数のみが血清中テストステロン濃度と相関した季節変化を示したことから、 3β HSDがLeydig細胞のテストステロン合成における重要な鍵を握る酵素であることが示唆された。一方、血清中テストステロン濃度が低値もしくは上昇をはじめる休止期および前回復期に、P450aromがLeydigおよび筋様細胞に認められたことから、両細胞由来のエストロジェンはLeydig細胞のテストステロン合成能を抑制していると考えられた。また、血清中エストラジオール 17β 濃度には一定の季節変化が認められなかったことから、Leydigおよび筋様細胞由来のエストロジェンは、自家分泌もしくは傍分泌作用によって働くものと考えられた。

以上の研究成果は、ニホンツキノワグマの精巣における季節変化を形態学的に明らかにするとともに、その生物学的機構をステロイド合成の見地から免疫組織化学的ならびに内分泌学的に明らかにしたものであり、これらの知見は季節繁殖動物であるニホンツキノワグマの繁殖生理を解明するとともに、今後の野生ニホンツキノワグマの生態および保護管理に寄与するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

ニホンツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*) は、初夏に交尾期をむかえる季節繁殖動物である。クマ類をはじめ季節繁殖動物の精巣の形態には顕著な季節変化が認められ、血清中テストステロン濃度とよく相関することが報告されている。しかしながら、ニホンツキノワグマにおける精巣の形態および血清中ステロイド濃度に関する研究は充分なされていない。そこで本研究では、秋田県阿仁町クマ牧場において飼育されている飼育個体3頭を用い、各繁殖期における精巣生検および採血によって材料を採取し、形態学的、免疫組織化学的ならびに内分泌学的に検索した。

その結果、ニホンツキノワグマの精巣は、形態学的および内分泌学的に劇的な季節変化を示した。すなわち、非交尾期の精細管には未分化型の精祖細胞とSertoli細胞しか観察されないが、交尾期の精細管では活発な精子形成像を示し、精上皮は8ステージ、精子細胞は11ステップに区分された。さらに精子形成活性における季節変化は、血清中テストステロン濃度とよく相関した。また、ライディヒ細胞の核、滑面小胞体および脂肪滴における形態学的変化は、ライディヒ細胞のテストステロン合成能をよく反映していると考えられた。この時、免疫組織化学的観察においては、 3β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 -isomerase (3β HSD) 陽性ライディヒ細胞数のみが血清中テストステロン濃度と相関した季節変化を示したことから、 3β HSDがライディヒ細胞のテストステロン合成におけるキー酵素であることが示唆された。一方、血清中テストステロン濃度が低値もしくは上昇をはじめる休止期および前回復期に、aromatase cytochrome P450がライディヒおよび筋様細胞に認められたことから、両細胞由来のエストロジェンはライディヒ細胞のテストステロン合成能を抑制していると考えられた。血清中エストラジオール- 17β 濃度には一定の季節変化が認められなかったことから、ライディヒおよび筋様細胞由来のエストロジェンは、自家分泌もしくは傍分泌作用によって働くと考えられた。

以上の研究成果は、ニホンツキノワグマの精巣における季節変化を形態学的に明らかにするとともに、その生物学的機構をステロイド合成の見地から免疫組織化学的ならびに内分泌学的に明らかにしたものであり、これらの知見は季節繁殖動物であるニホンツキノワグマの繁殖生理を解明するとともに、今後の野生ニホンツキノワグマの生態および保護管理に寄与するものである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

- 1 Komatsu T, Yamamoto Y, Tsubota T, Atoji Y, Suzuki Y (1996) Spermatogenic cycle in the testis of the Japanese black bear (*Selenarctos thibetanus japonicus*). Journal of Veterinary Medical Science 58, 329-335.
- 2 Komatsu T, Tsubota T, Yamamoto Y, Atoji Y, Suzuki Y (1997) Seasonal changes in the immunolocalization of steroidogenic enzymes in the testes of the Japanese black bear (*Ursus thibetanus japonicus*). Journal of Veterinary Medical Science 59, 521-529.
- 3 Komatsu T, Yamamoto Y, Tsubota T, Atoji Y, Suzuki Y (1997) Seasonal changes in subcellular structures of Leydig and Sertoli cells in the Japanese black bear, *Ursus thibetanus japonicus*. Archives of Histology and Cytology 60, 225-234.