

氏 名 (本籍)	野 口 純 子 (福 岡 県)
学 位 の 種 類	博 士 (獣 医 学)
学 位 記 番 号	獣 医 博 乙 第 1 9 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	ラ ッ ト 精 子 形 成 調 節 機 構 に 関 す る 研 究
審 査 委 員	主 査 東 京 農 工 大 学 教 授 田 谷 一 善 副 査 帯 広 畜 産 大 学 教 授 山 田 純 三 副 査 岩 手 大 学 教 授 三 宅 陽 一 副 査 東 京 農 工 大 学 教 授 神 田 尚 俊 副 査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝

論 文 の 内 容 の 要 旨

インヒピンは、精子形成に不可欠なホルモンである卵胞刺激ホルモン(FSH)の分泌を調節すると共に、精巣局所で精子形成に関与している可能性が示唆されている。本研究では、ラットを用いてインヒピンの発生学および内分泌的研究を行った。加えて加齢に伴い腫瘍化した精巣細胞について検討し、精子形成におけるインヒピンの役割について研究した。更に、本研究では、精子形成の局所調節機構解明の一環として、遺伝的精子形成異常ラットにおける病態を組織学的並びに内分泌学的に研究すると共に、原因となる突然変異遺伝子について遺伝学的研究を行った。

1. ラットにおけるインヒピン産生の開始

胎齢16日以降5日齢までのラットの精巣について、インヒピン α 鎖に対する抗血清を用いて免疫組織化学的検索を行った結果、間質のライディッヒ細胞は、胎生期から生後の数日間、また、セルトリ細胞が、出生前後から陽性反応を示すことを明らかにした。ラジオイムノアッセイでは、胎齢16日から精巣内にインヒピンが検出されたが、バイオアッセイでは出生後の精巣のみでインヒピンが検出された。抗インヒピン α 鎖血清を用いてイムノプロットング法により検索した結果、胎生期には分子量約40kDaのインヒピン関連蛋白が検出され、出生後に生物活性のある分子量約30kDaの2量体のインヒピンが検出された。これらの結果から、ラットにおいては、胎生期から出生後の数日間は、ライディッヒ細胞がインヒピン生物活性のないインヒピン α 鎖関連蛋白を産生していること、並びに精巣におけるインヒピンの主要な分泌源であるセルトリ細胞は、出生直前からインヒピンの分泌を開始することを明らかにした。

2. インヒピンによるFSH分泌調節の開始と精子形成へのインヒピンの関与

抗インヒビン血清を投与する内因性インヒビンの中和実験を行った結果、5日齢以降で血中FSH濃度の上昇が観察された。また、5日齢では、インヒビンの中和によりセルトリ細胞の分裂活性の亢進が観察された。5日齢から5日間抗インヒビン血清を連続投与した結果、成熟後の精子形成能の亢進が認められた。これらの結果から、セルトリ細胞は、インヒビンを分泌することによってFSHを調節し、自らの分裂活性を制御することにより、結果として精子形成を調節しているものと推察された。

3. 精巣間質腫瘍細胞におけるインヒビン分泌

加齢に伴い精巣間質に腫瘍を発生するWistar系ラットを用いて、ライディッヒ細胞のインヒビン分泌について検索した。18ヶ月齢以降に観察される間質細胞塊はライディッヒ細胞腫と診断され、インヒビン α 鎖の抗体に対し陽性反応を示した。この系統の雄ラットでは、加齢に伴って末梢血中インヒビン濃度の上昇とFSH濃度の低下が観察された。また、両側精巣の摘出により、血中インヒビン濃度の低下とFSH濃度の上昇が観察された。これらの結果から、この系統の腫瘍化した精巣間質細胞は生物活性のあるインヒビンを産生し、このインヒビンがFSH分泌を著しく抑制する事実を明らかにした。

4. 遺伝的無精子症を発症するTT系ラットにおける精子形成障害の特徴

精巣内精子形成調節機構を検討する目的で、TT系ラットを用い、精巣の組織学的検索並びに内分泌学的検索を行った。その結果、TT系ラットの精巣は、初回精子形成周期から精子形成が減数分裂途中で停止することにより、精子形成が欠如することが明らかとなった。精子形成に不可欠なテストステロンの血中濃度は、精巣異常個体では低い傾向を示したことから、テストステロンの精巣内投与実験を行ったが、精子形成の改善は認められなかった。これらの結果から、TT系ラットの精子形成障害は内分泌的異常によるものではなく、精巣内に原発した突然変異によるものと考えられ、減数分裂調節機構解明のモデル動物となり得る可能性が示唆された。

5. TT系ラットにおける精子形成異常の遺伝学的解析

TT系ラットにおける精子形成異常の遺伝様式を明らかにする目的で、交配実験を行い異常の発現様式を検索した。その結果、常染色体上の単一劣性遺伝子による異常であることを明らかにし、この遺伝子座をasと命名した。DNAマイクロサテライトマーカーを用いて連鎖解析を行った結果、as遺伝子座がラットの第12染色体上に位置し、この遺伝子に対応するマウスの遺伝子が第5染色体上に位置する可能性が示唆された。

以上の研究結果は、ラットをモデル動物として、精子形成機構におけるインヒビンの生理的役割の一端を明らかにすると共に、精子形成障害を発症するラットの病因を内分泌学的並びに遺伝学的に解析したものである。これらの研究成果は、生殖生理学の最も基礎的な問題につながる極めて重要な内容である。

審 査 結 果 の 要 旨

インヒピンは、精子形成に不可欠なホルモンである卵胞刺激ホルモン(FSH)の分泌を調節すると共に、精巣局所で精子形成に関与している可能性が示唆されている。本研究では、ラットを用いてインヒピンの発生学的および内分泌的研究を行った。加えて加齢に伴い腫瘍化した精巣細胞について検討し、精子形成におけるインヒピンの役割について研究した。更に、本研究では、精子形成の局所調節機構解明の一環として、遺伝的精子形成異常ラットにおける病態を組織学的並びに内分泌学的に研究すると共に、原因となる突然変異遺伝子について遺伝学的研究を行った。

1. ラットにおけるインヒピン産生の開始

胎齢16日以降5日齢までのラットの精巣について、インヒピン α 鎖に対する抗血清を用いて免疫組織化学的検索を行った結果、間質のライディッヒ細胞は、胎生期から生後の数日間、また、セルトリ細胞が、出生前後から陽性反応を示すことを明らかにした。ラジオイムノアッセイでは、胎齢16日から精巣内にインヒピンが検出されたが、バイオアッセイでは出生後の精巣のみでインヒピンが検出された。抗インヒピン α 鎖血清を用いてイムノブロットング法により検索した結果、胎生期には分子量約40kDaのインヒピン関連蛋白が検出され、出生後に生物活性のある分子量約30kDaの2量体のインヒピンが検出された。これらの結果から、ラットにおいては、胎生期から出生後の数日間は、ライディッヒ細胞がインヒピン生物活性のないインヒピン α 鎖関連蛋白を産生していること、並びに精巣におけるインヒピンの主要な分泌源であるセルトリ細胞は、出生直前からインヒピンの分泌を開始することを明らかにした。

2. インヒピンによるFSH分泌調節の開始と精子形成へのインヒピンの関与

抗インヒピン血清を投与する内因性インヒピンの中和実験を行った結果、5日齢以降で血中FSH濃度の上昇が観察された。また、5日齢では、インヒピンの中和によりセルトリ細胞の分裂活性の亢進が観察された。5日齢から5日間抗インヒピン血清を連続投与した結果、成熟後の精子形成能の亢進が認められた。これらの結果から、セルトリ細胞は、インヒピンを分泌することによってFSHを調節し、自らの分裂活性を制御することにより、結果として精子形成を調節しているものと推察された。

3. 精巣間質腫瘍細胞におけるインヒピン分泌

加齢に伴い精巣間質に腫瘍を発生するWistar系ラットを用いて、ライディッヒ細胞のインヒピン分泌について検索した。18ヶ月齢以降に観察される間質細胞塊はライディッヒ細胞腫と診断され、インヒピン α 鎖の抗体に対し陽性反応を示した。この系統の雄ラットでは、加齢に伴って末梢血中インヒピン濃度の上昇とFSH濃度の低下が観察された。また、両側精巣の摘出により、血中インヒピン濃度の低下とFSH濃度の上昇が観察された。これらの結果から、この系統の腫瘍化した精巣間質細胞は生物活性のあるインヒピンを産生し、このインヒピンがFSH分泌を著しく抑制する事実を明らかにした。

4. 遺伝的無精子症を発症するTT系ラットにおける精子形成障害の特徴

精巣内精子形成調節機構を検討する目的で、TT系ラットを用い、精巣の組織学的検索並びに内分泌学的検索を行った。その結果、TT系ラットの精巣は、初回精子形成周期から精子形成が減数分裂途中で停止することにより、精子形成が欠如することが明らかとなった。精子形成に不可欠なテストステロンの血中濃度は、精巣異常個体では低い傾向を示したことから、テストステロンの精巣内投与実験を行ったが、精子形成の改善は認められなかった。これらの結果から、TT系ラットの精子形成障害は内分泌的異常によるもの

ではなく、精巢内に原発した突然変異によるものと考えられ、減数分裂調節機構解明のモデル動物となり得る可能性が示唆された。

5. TT系ラットにおける精子形成異常の遺伝学的解析

TT系ラットにおける精子形成異常の遺伝様式を明らかにする目的で、交配実験を行い異常の発現様式を検索した。その結果、常染色体上の単一劣性遺伝子による異常であることを明らかにし、この遺伝子座をasと命名した。DNAマイクロサテライトマーカーを用いて連鎖解析を行った結果、as遺伝子座がラットの第12染色体上に位置し、この遺伝子に対応するマウスの遺伝子が第5染色体上に位置する可能性が示唆された。

以上の研究結果は、ラットをモデル動物として、精子形成機構におけるインヒビンの生理的役割の一端を明らかにすると共に、精子形成障害を発症するラットの病因を内分泌学的並びに遺伝学的に解析したものである。これらの研究成果は、生殖生理学の最も基礎的な問題につながる極めて重要な内容である。

以上について、審査委員全員一致で本研究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に価値あることと認めた。