

氏名(国籍)	任 龍 権 (中華人民共和国)
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博甲第193号
学位授与年月日	平成18年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	Studies on the Regulatory Mechanism of Testicular Function in the Rat Under Various Physiological Conditions (各種生理的条件下におけるラット精巣機能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 三宅陽一 副査 岩手大学 教授 橋爪一善 副査 東京農工大学 教授 加茂前秀夫 副査 岐阜大学 教授 坪田敏男

論文の内容の要旨

哺乳類の精巣機能は、視床下部・下垂体・精巣軸のフィードバック機構による性腺刺激ホルモン「黄体形成ホルモン(LH)と卵胞刺激ホルモン(FSH)」分泌量の調節と精巣局所でのオートクリンおよびパラクリン機構によって調節されている。哺乳類の精子は、精巣で形成されるが、精巣から離れ精巣上体を通る間に成熟し、運動能を得る。しかし、各種生理的条件下において運動能と内分泌機能に関しては未解明な部分が多い。本研究では、ラットを用いて潜在精巣、輸出管結紮、精管結紮、拘束ストレスおよびテストステロン分泌量の低下による精子運動能と精巣機能調節機構に関して研究した。

第1章では、緒論として精巣機能の内分泌支配について概説し、研究の目的を述べた。

第2章では、本研究に共通する実験材料と方法について記述した。

第3章では、熱ストレスが精巣に及ぼす影響を調べる目的で、潜在精巣作出が精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響に関する研究結果を記述した。運動する精子の割合(%)は、潜在精巣作出後1日から低下し、手術後3日以降急激に低下した。精子運動のパラメーターである精子の直線速度(VSL)、曲線速度(VCL)、精子頭部の振幅(ALH)、精子の直進性(Linearity)、および精子が運動する平均経路からいずれかの方向に横切る頻度(BCF)は、潜在精巣作出後5日に著しく低下した。血中LH、FSH、テストステロンと

インヒビン B 濃度は、潜在精巣作出後 1 日で有意に低下したがその後回復し、血中 LH および FSH 濃度は 7 日に著しく増加した。また、潜在精巣の人絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) に対するテストステロン分泌反応性が著しく低下した。本研究の結果から、雄ラットの精巣に対する熱ストレス負荷によって、3 日以内に精子運動能の低下と精巣内分泌機能低下が起ることが判明した。

第 4 章では、ラットを用いて精巣で形成された精子が精巣上体に移動する際に通過する輸出管を結紮した場合の精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響に関する研究結果を記述した。精巣、精巣上体、前立腺の重量と精巣、精巣上体の精子数は輸出管結紮によって著しく減少した。セルトリ細胞は、変性し、精子形成が抑制された。しかし、ライディッシュ細胞は、輸出管結紮後 7 日から著しく増殖した。運動する精子の割合 (%)、VSL、ALH は、輸出管結紮 5 日から低下し、7 日には著しく減少した。血中 FSH と LH 濃度は、輸出管結紮 7 日には著しく上昇し、血中インヒビン B とテストステロン濃度は、著しく低下した。精巣内テストステロン濃度は、輸出管結紮後 7 日から著しく上昇したが、精巣内インヒビン濃度は、逆に著しく低下した。本研究の結果から、輸出管結紮により、精巣機能が低下し、精子数と精子運動能が早期に低下することが判明した。また、血中インヒビン B とテストステロン濃度が低下して視床下部・下垂体への負のフィードバックが解除され、LH、FSH 濃度は、上昇することが明らかとなった。また、この LH の上昇によりライディッシュ細胞の増殖が刺激され、精巣内テストステロン濃度は上昇することが判明した。

第 5 章では、精巣上体で成熟した後の精子が通過する精管を結紮した場合の精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響に関する研究結果を記述した。精巣上体重量は、手術後 3 日から著しく増加したが、手術後 30 日から低下した。35 頭中 4 頭で精巣上体に精液瘤と、退行した精子細胞が観察された。精子運動のパラメーターである VSL、VCL、ALH は手術後 60 日から急激に低下した。運動する精子の割合 (%)、精子の Linearity、および BCF は、手術後 60 日から低下する傾向が認められた。血中 LH、FSH、テストステロン濃度は、結紮後 3 日に有意に低下したが、血中 LH 濃度は結紮後 90 日に著しく上昇した。また、血中 FSH、テストステロン濃度は、結紮後 60 日から低下する傾向が認められた。血中インヒビン濃度は、結紮後 3 日に著しく上昇したが、5 日からは著しい変化が認められなかった。本研究の結果から、精管結紮後長期間を経過すると精子運動能の低下と精巣内分泌機能の低下が起ることが明らかとなった。

第 6 章では、拘束ストレスが精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響に関する研究結果を記述した。ラットにおける拘束ストレスが精子運動能と精巣内分泌に及ぼす影響を調べた。血中 LH、FSH、テストステロンとインヒビン濃度は、拘束ストレス後著しく低下したが、血中 ACTH、プロラクチン、コルチコステロン、プロゲステロン濃度は、著しく増加した。精子運動のパラメーターである運動する精子の割合 (%)、VSL、VCL および ALH は、拘束ストレス負荷後 30 分から著しく低下した。また、精子の Linearity と BCF は、拘束ストレス負荷後 30 分から著しく低下した。これらの結果から、拘束ストレス負荷により短時間に精子運動能と精巣機能が低下することが明らかとなった。

第 7 章では、ストレス時に起こる精巣機能抑制の内分泌学的機構を明らかにする目的で内因性 LH を中和した場合の精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響に関する研究結果を記述した。ラットにおける LH の中和が精子運動能と精巣機能に及ぼす影響を調べた。成熟雄ラットにウマで作製した LH 抗体あるいは正常ウマ血清 0.2ml を頸静脈から 2 日間

隔で4回投与した。LH抗体投与後2日から前立腺、4日から精巣上体と精嚢腺重量が著しく低下した。精子運動のパラメーターである運動する精子の割合(%）、VSL、VCLおよびBCFは、抗体投与後4日から著しく低下した。ALHと精子のLinearityは、LH抗体投与後4日と6日から低下し、6日と8日には著しく低下した。血中インヒビンB濃度は、有意な変化は認められなかったが、血中および精巣内テストステロン濃度は、抗体投与後4日と6日から著しく低下した。本研究の結果から、テストステロンは、精子運動能の維持に重要な役割を果たしていることが判明したが、ストレス負荷後短時間で認められる精子運動能の変化はテストステロンの低下以外の要因によると推察された。

本研究で得られた結果を総括すると、精巣への熱ストレス、精巣からの精子の通過経路の障害（輸出管結紮、輸精管結紮）、拘束ストレスおよびテストステロン分泌量の低下は、精子運動能および精巣内分泌機能に顕著な影響を与えることが判明した。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、各種生理的条件下における精巣機能の変化を明らかにする目的で雄ラットを用いて、潜在精巣、輸出管結紮、精管結紮、拘束ストレスおよびテストステロン分泌量の低下モデルを作出し、それぞれのモデルにおける精子運動能と精巣機能調節機構に関して研究した。

1. 潜在精巣作出が精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響

運動する精子の割合(%)は、潜在精巣作出後1日から低下し、手術後3日以降急激に低下した。精子運動のパラメーターである精子の直線速度(VSL)、曲線速度(VCL)、精子頭部の振幅(ALH)、精子の直進性(Linearity)、および精子が運動する平均経路からいずれかの方向に横切る頻度(BCF)は、潜在精巣作出後5日に著しく低下した。血中LH、FSH、テストステロンとインヒビンB濃度は、潜在精巣作出後1日で有意に低下したが、インヒビンB以外はその後回復し、血中LHおよびFSH濃度は7日後に著しく増加した。また、潜在精巣の人絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)に対するテストステロン分泌反応性が著しく低下した。

本研究の結果から、雄ラットの精巣に対する熱ストレス負荷によって、3日以内に精子運動能の低下と精巣内分泌機能低下が起ることが判明した。また、セルトリ細胞に加えてライディヒ細胞機能も低下することが判明した。

2. 輸出管結紮が精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響

精巣、精巣上体、前立腺の重量と精巣、精巣上体の精子数は輸出管結紮によって著しく減少した。セルトリ細胞は、変性し、精子形成が抑制された。しかし、ライディヒ細胞は、輸出管結紮後7日から著しく増殖した。運動する精子の割合(%)、VSL、ALHは、輸出管結紮5日から低下した。血中FSHとLH濃度は、輸出管結紮7日には著しく上昇し、逆に血中インヒビンBとテストステロン濃度は、著しく低下した。また、精巣内テストステロン濃度は、輸出管結紮後7日から著しく上昇したが、精巣内インヒビン濃度は、逆に著しく低下した。

本研究の結果から、輸出管結紮により、精巣機能は低下し、精子数と精子運動能が低下することが判明した。また、血中インヒビンBとテストステロン濃度が低下する結果としてフィードバック作用が低下し、LH、FSH濃度は、上昇することが明らかとなった。増加したLHは、ライディヒ細胞を増殖させ、結果的に精巣内テストステロン濃度が上昇することが判明した。

3. 精管結紮が精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響

精巣上体重量は、手術後3日から著しく増加したが、手術後30日から低下した。35頭中4頭で精巣上体に精液瘤が認められ、退行した精子細胞が観察された。精子運動のパラメーターであるVSL、VCL、ALHは手術後60日から急激に低下した。運動する精子の割合(%)、精子の

Linearity、および BCF は、手術後 60 日から低下する傾向が認められた。血中 LH、FSH、テストステロン濃度は、結紮後 3 日に有意に低下したが、血中 LH 濃度は結紮後 90 日に著しく上昇した。

本研究の結果から、精管結紮 60 日後から精子運動能の低下と精巣内分泌機能の低下が起ることが明らかとなった。

4. 拘束ストレスが精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響

血中 LH、FSH、テストステロンおよびインヒビン濃度は、拘束ストレス後著しく低下したが、血中 ACTH、プロラクチン、コルチコステロン、プロゲステロン濃度は、著しく増加した。精子運動のパラメーターである運動する精子の割合(%), VSL、VCL および ALH は、拘束ストレス負荷後 30 分から著しく低下した。また、精子の Linearity と BCF は、拘束ストレス負荷後 30 分から著しく低下した。これらの結果から、拘束ストレス負荷により短時間に精子運動能と精巣機能が低下することが明らかとなった。

5. 内因性 LH の中和が精子運動能と精巣内分泌機能に及ぼす影響

LH 抗体投与後 2 日から前立腺、4 日から精巣上体と精嚢腺重量が著しく低下した。精子運動のパラメーターである運動する精子の割合(%), VSL、VCL および BCF は、抗体投与後 4 日から著しく低下した。ALH と精子の Linearity は、抗体投与後 4 日と 6 日から低下し、6 日と 8 日には著しく低下した。血中インヒビン B 濃度は、有意な変化は認められなかったが、血中および精巣内テストステロン濃度は、抗体投与後 4 日と 6 日から著しく低下した。

本研究の結果から、テストステロンは、精子運動能の維持に重要な役割を果たしていることが判明した。しかし、ストレス負荷後短時間に認められる精子運動性の変化はテストステロンとは異なる因子によるものと推察された。

本研究で得られた結果を総括すると、精巣への熱ストレス、精巣からの精子の通過経路の障害（輸出管結紮、輸精管結紮）、拘束ストレスおよびテストステロン分泌量の低下は、いずれも精子運動能および精巣内分泌機能に顕著な影響を与えることが判明した。

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があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Effects of experimental cryptorchidism on sperm motility and testicular endocrinology in adult male rats

著 者 名 : Ren, L., Medan, M. S., Li, C., Watanabe, G. and Taya, K.

学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development

巻・号・頁・発行年 : 52(2) : 2006 発表予定

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Inhibin B regulating follicle-stimulating hormone secretion during testicular recrudescence in the male golden hamster

著 者 名 : Jin, W., Herath, C. B., Yoshida, M., Arai, K. Y., Saita, E., Shi, Z., Ren, L., Watanabe, G. and Taya, K.

学術雑誌名 : Journal of Andrology

巻・号・頁・発行年 : 23 (6) : 845-853, 2002

- 2) 題 目 : Immunolocalization of steroidogenic enzymes in the corpus luteum and placenta of the Japanese shiba goat
著 者 名 : Weng, Q., Medan, M. S., Ren, L., Watanabe, G., Tsubota, T. and Taya, K.
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development
卷・号・頁・発行年 : 51 (2) : 247-252, 2005
- 3) 題 目 : Immunolocalization of nerve growth factor (NGF) and Its receptors (TrkA and p75LNGFR) in the reproductive organs of shiba goats
著 者 名 : Ren, L., Medan, M. S., Weng, Q., Jin, W., Li, C., Watanabe, G. and Taya, K.
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development
卷・号・頁・発行年 : 51 (3) : 399-404, 2005
- 4) 題 目 : Immunolocalization of inhibin/activin subunits in the shiba goat fetal, neonatal, and adult testes
著 者 名 : Weng, Q., Medan, M. S., Ren, L., Watanabe, G., Arai, K. Y. and Taya, K.
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development
卷・号・頁・発行年 : 51 (4) : 521-526, 2005
- 5) 題 目 : Immunolocalization of steroidogenic enzymes in the fetal, neonatal and adult testis of the shiba goat
著 者 名 : Weng, Q., Medan, M. S., Ren, L., Watanabe, G., Tsubota, T. and Taya, K.
学術雑誌名 : Experimental Animals
卷・号・頁・発行年 : 54 (5) : 451-454, 2005