

氏 名 (本籍)	早 川 大 輔 (福岡県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医)
学 位 記 番 号	獣医博甲第267号
学 位 授 与 年 月 日	平成21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	帯広畜産大学
学 位 論 文 題 目	Functional and Morphological Studies on the Testis of the Sika Deer ( <i>Cervus nippon</i> ) (ニホンジカの精巣に関する機能形態学的研究)
審 査 委 員	主査 帯広畜産大学 教 授 北 村 延 夫 副査 帯広畜産大学 教 授 松 井 高 峯 副査 岩 手 大 学 教 授 谷 口 和 之 副査 東京農工大学 教 授 田 谷 一 善 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 正 嗣

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

本論文は、日本に唯一分布するシカ科動物であるニホンジカ (*Cervus nippon*) の雄性生殖器についての研究である。ニホンジカは日本において代表的な、短日性季節繁殖の大型陸生哺乳類であり、秋に繁殖期を迎える。近年、ニホンジカの適切な個体数の管理が必要であり、そのためには、ニホンジカの繁殖生理学的情報の集積が急務だとしている。ニホンジカは明瞭な季節繁殖周期を示すことから、繁殖生理学的調節機構を解明するためには有用な動物種だと考えて、精巣の発達段階および季節変化における内分泌調節機構および性腺内の傍分泌や自己分泌制御機構を明らかにすることを目的としている。

本研究では北海道内各地で得られた胎子 (推定胎齢 164～218 日) および生後オスジカから採材した精巣および精巣上体を用いている。胎子および0歳では、精細管と精巣上体管はすでに形成されていたが、精子発生はまだ認められなかった。精子形成は、1歳の繁殖期で初めて確認された。成体では繁殖期の精細管と精巣上体管に多数の精子が確認されたが、その後非繁殖期に入ると精子数は減少し、最終的には精上皮の精子形成は完全に停止した。しかし繁殖期に入る前の7月には精子発生は再開した。精細管直径は成長にともなって大きくなり、また成体では非繁殖期の精細管直径は繁殖期と比べると有意に減少した。成体の繁殖期では、ライディッヒ細胞の占有面積は広がったが、細胞増殖マーカーであるPCNAがライディッヒ細胞にほとんど確認されなかったことから、この変化は細胞分裂による細胞数の増加ではなく、個々の細胞が大きく成長することによると判断している。さらに、ニホンジカの精上皮周期はウシやダマシカと類似した8ステージに分類している。

ニホンジカ精巣における性ステロイドホルモン産生能を解析するために、ニホンジカ精

巢内のステロイド合成酵素の存在と分布を免疫組織化学的に検索した。テストステロン合成にかかわる P450scc, P450c17, 3 $\beta$  HSD および 17 $\beta$  HSD はすべての発達段階でライディッヒ細胞に陽性反応が認められた。また、非繁殖期に比べ繁殖期でこれら合成酵素の反応強度は強かった。この結果を繁殖期でのテストステロン産生能が高いことと関連付けている。また、テストステロンからエストラジオール ( $E_2$ ) への変換に必須である P450arom は 1 歳以降でライディッヒ細胞に確認され、繁殖期で強い反応を示した。これは、1 歳より精子形成が確認されていることと合わせて、 $E_2$  は少なくとも 1 歳以降にライディッヒ細胞で産生され、精子形成の調節に関与すると推測している。

性ホルモンによる調節機構を解析するために、性ホルモン受容体の存在と分布を検索し、加えて成体の血中性ホルモン濃度を測定した。アンドロゲン受容体 (AR) 陽性反応は精巣では胎子でライディッヒ細胞と筋様細胞に、0 歳以降ではこれらの細胞に加えてセルトリ細胞に認められるようになった。また、精巣上体ではすべての発達段階で精巣上体管上皮および間質の細胞に認められた。セルトリ細胞における AR は、精子発生再開時の 7 月で強い発現をみせた。さらに繁殖期のセルトリ細胞における AR 発現は精上皮ステージに非依存的であった。エストロゲン受容体 (ER)  $\alpha$  陽性反応は 1 歳以降のライディッヒ細胞に認められ、ER  $\beta$  陽性反応は同様に 1 歳以降の繁殖期の精細胞にのみ認められた。LH 受容体 (LHR) はライディッヒ細胞および精巣上体管上皮に認められた。血中性ホルモン濃度の解析は、精子発生再開時期である 7 月と活発な精子形成がみられる 11 月の材料を用いて測定された。その結果、テストステロン濃度 および  $E_2$  濃度は 11 月で、LH 濃度は 7 月で高い値を示した。テストステロンおよび LH 濃度の季節変化は、セルトリ細胞における AR 発現およびライディッヒ細胞における LHR 発現の季節変化とは異なっていた。これらの結果から、精子発生再開の時期である 7 月に、光周期の変化にともなう LH 濃度の増大がセルトリ細胞の AR 発現をいち早く増大させ、次いでライディッヒ細胞のテストステロンおよび  $E_2$  の産生を徐々に刺激すると考えている。そして、テストステロン濃度は低いもののセルトリ細胞における AR 発現の増大が低い濃度のテストステロンに対する感受性を増大させ、精子発生の再開を刺激していると推測している。また、繁殖期である 11 月での LH 濃度の減少は、増加したテストステロンによるネガティブフィードバックの結果と考えている。さらに、増加した  $E_2$  は精子発生および精子形成を直接刺激すると推測している。

野生季節繁殖動物を用いて得られた今回の研究成果が、精子形成調節機構解明の一助になることと、下垂体—性腺軸の内分泌調節機構ならびに性腺内の傍分泌および自己分泌系を解析した本研究が、シカ科動物の繁殖戦略の解明に、さらには季節繁殖動物の保全と管理における更なる研究の基礎として役立つことを期待している。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、日本に唯一分布するシカ科動物であるニホンジカ (*Cervus nippon*) の雄性生殖器官の構造と調節機構を明らかにした研究である。胎子から成体まで入手困難な材料を幅広く検索している。

第 1 章では、短日繁殖性であるニホンジカの精巣および精巣上体における発達変化および季節変化を解析することが季節繁殖動物の内分泌調節機構の解明につながり、ひいては季節繁殖動物の適切な個体数の管理に貢献することになると述べている。

第 2 章および第 3 章では精巣および精巣上体の一般構造と精上皮周期について明らかにしている。成長にともなって、そして繁殖期に精細管直径は大きくなった。細胞増殖マ-

カー (PCNA) の検索によって、繁殖期には個々のライディッヒ細胞が大きくなることで間質も大きくなることを示している。ニホンジカの精上皮周期はウシやダマシカと類似した8ステージに分類されることを明らかにしている。

第3章では、精巣内のステロイド合成酵素の存在と分布を免疫組織化学的に検索している。P450scc, P450c17, 3 $\beta$ HSD および 17 $\beta$ HSD はすべての発達段階でライディッヒ細胞に陽性反応が認められた。非繁殖期に比べ繁殖期でこれら合成酵素の反応強度は強かったので、繁殖期でのテストステロン産生能が高いことと関連付けている。P450arom が1歳以降でライディッヒ細胞に確認され、繁殖期で強い反応を示すことを確認して、精子形成の調節に関与すると考察している。

第4章では、性ホルモン受容体の存在と分布を検索し、加えて成体の血中性ホルモン濃度を測定している。アンドロジェン受容体、エストロジェン受容体  $\alpha$  と  $\beta$ , および LH 受容体のセルトリ細胞、ライディッヒ細胞および精巣上体管上皮における発現状況と性ホルモン血中濃度測定の結果と合わせて、精子発生および精子形成の季節性調節機構について考察している。

第5章では、総括を行い、野生季節繁殖動物を用いて得られた今回の研究成果は、精子形成調節機構ならびに下垂体-性腺軸の内分泌調節機構を解析したことで、シカ科動物の繁殖戦略の解明に、さらには季節繁殖動物の保全と管理における研究に役立つと結んでいる。

以上について、論文の査読および面談による質疑を行った上で、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 : Classification of the seminiferous epithelial cycle in the sika deer (*Cervus Nippon*)  
著 者 名 : Hayakawa, D., Sasaki, M., Suzuki, M., Igota, H. and Kitamura, N.  
学術雑誌名 : Mammal Study  
巻・号・頁・発行年 : 印刷中

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : Serological and molecular survey of rickettsial infection in cattle and sika deer in a pastureland in Hidaka District, Hokkaido, Japan  
著 者 名 : Jilintai, Seino, N., Matsumoto, K., Hayakawa, D., Suzuki, M., Hata, H., Kondo, S., Yokoyama, N. and Inokuma, H.  
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Disease  
巻・号・頁・発行年 : 61(4):315-317, 2008

#### その他

- 1) 題 目 : 馬尾領域の局所解剖  
著 者 名 : 佐々木基樹, 山田一孝, 早川大輔, 岡地 潔, 北村延夫  
学術雑誌名 : Surgeon  
巻・号・頁・発行年 : 11(4):6-20, 2007