

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (農 学)	氏名	Anqi Huang
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目 Studies on the Sperm Storage Mechanism in the Hen Oviduct (ニワトリ卵管における精子貯蔵機構に関する研究)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	吉村 幸則	
審査委員	教 授	前田 照夫	
審査委員	教 授	都築 政起	
審査委員	准教授	磯部 直樹	
〔論文審査の要旨〕			
<p>鳥類卵管の子宮腔移行部 (UVJ) には精子細管 (SST) が形成され、精子が 2 - 3 週間にわたって生存できる。SST での精子の生存機構を明らかにすることは受精率を向上させるために重要であるが、この機構は解明されていない。本研究は、ニワトリ卵管の SST で精子が長期間生存するために働く要因を明らかにすることを目的としたものである。</p> <p>第 1 章では、緒論として、家禽生産における繁殖機能の重要性と卵管の機能、卵管における精子貯蔵機構の先行研究の報告をまとめ、本研究では、SST において、精子の運動性を制御する pH の調節機能、脂肪酸やエキソゾームと精子生存との関係を追究して、ニワトリ卵管の SST で精子が長期間生存するために働く要因を明らかにするという背景と目的を述べている。</p> <p>第 2 章では、卵管において、SST 管腔内の pH を制御して精子の運動を抑制すると思われる炭酸脱水素酵素 (CA2) が受精率に関係する可能性を検討した。卵管各部位のうち、SST 細胞を含む UVJ で最も多くの CA2 蛋白が局在し、遺伝子の発現も認められた。しかし、UVJ の CA2 蛋白と遺伝子の発現は、人工授精しても変化せず、受精率や加齢による変化も示さなかった。このことから、CA2 の精子貯蔵機能への関与は不明であるが、UVJ の pH 調整に関与することを示唆した。</p> <p>第 3 章では、精子の生存に脂肪酸が関わる可能性を追究するために、SST 細胞の脂肪酸代謝関連分子と脂肪酸を同定し、これが精子の生存に及ぼす影響を検討した。SST 細胞には脂質が豊富で、脂質を取り込む受容体とトリグリセリドリパーゼ(ATGL)が発現すること、ATGL の発現は人工授精後に増加することを示し、SST に精子が侵入すると脂質の分解が促進されることを示唆した。UVJ 組織に含まれる脂肪酸を解析すると、オレイン酸と</p>			

リノール酸を含む 5 種類の主要脂肪酸が検出された。培養精子にオレイン酸とリノール酸を添加すると生存性が高まった。産卵鶏にオレイン酸添加飼料を給与し、人工授精後の受精率を解析すると、オレイン酸給与で受精率が向上した。一方、オレイン酸が多い天然資源のオリーブ粕を飼料添加した場合には受精率の変化は認められず、これには正味のオレイン酸摂取量が少なかったものと推定した。これらのことから、SST は脂肪酸を豊富に含み、オレイン酸が精子の生存と受精率の向上に有効に働くことを示唆した。

第 4 章では、卵管の細胞に由来するエクソゾームが精子の生存に及ぼす可能性を追究した。エクソゾームのマーカである CD63 蛋白は UVJ の SST と表面上皮、膣部の表面上皮に検出され、人工授精後に精子を貯蔵している SST の細胞から管腔内へ放出される所見を示した。SST を含む UVJ と膣部の細胞培養上清を超遠心すると分子量の異なる 4 種類のエクソゾーム様物質が得られ、このうちの 1 つに CD63 が検出された。培養精子にエクソゾーム様物質を添加すると、精子の生存率は UVJ 由来の物質の影響を受けなかったが、膣部の物質により低下した。これらのことから、SST 内ではエクソゾームにより SST 細胞から精子への物質移送が起こる可能性を示唆したが、これの精子生存性に及ぼす影響は不明である。膣部細胞由来のエクソゾームは精子を死滅させて、良好な精子を選択する可能性があることも示唆した。

第 5 章では、卵管内の精子生存機構を総合考察し、SST 内で精子を貯蔵中に、CA2 による管腔内の pH 環境が制御され、さらに、SST 細胞の脂肪酸代謝により生じたオレイン酸が精子の生存に寄与し、SST 細胞から精子への脂肪酸や有効物質の輸送にエクソゾームが関わる可能性がある結論している。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。