

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 坂上 元栄

近年、ヒトの射出精子数が減少しているという報告があり、その原因として、環境中のエストロゲン様物質が精子発生を妨げるとする仮説がある。一方で、エストロゲンの雄性生殖器系における重要な役割が明らかになりつつあり、その一つとして、精子発生に不可欠であるテストステロンの産生抑制作用があるが、エストロゲンがステロイド合成系に及ぼす影響について分子生物学的に検討した報告は少ない。本論文では、エストロゲンおよびエストロゲン様活性を持ち、内分泌かく乱化学物質とされるビスフェノール A (BPA) がステロイド合成系遺伝子の発現に与える影響を検討した。

第 I 章では、BPA の精子発生への影響について検討した。13 週齢の雄 Sprague-Dawley (SD) ラットに BPA を 6 日間強制経口投与し、投与開始 8 日目 (W14) および 36 日目 (W18) に解剖した。W18 において、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重以上の投与群で、両側精巣重量が減少傾向を示し、1 日精子産生数および精巣重量あたり 1 日精子産生数が有意な減少を示したことから、BPA の精子発生への影響が示された。さらに BPA 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重単回投与し、精巣の細胞質分画を 2D-PAGE により解析したところ、投与群で、いくつかのスポットに変化が見られたことから、BPA が精巣に影響を与えることがタンパク質レベルにおいても示された。

一般的に BPA はエストロゲン様作用を持つとされており、精子発生に重要であるテストステロン産生に影響を及ぼすことが考えられる。しかしながら、エストロゲンのテストステロン産生抑制機序については不明な点が多い。そこで、第 II 章では、まず、精巣のステロイド合成系遺伝子発現レベルへのエストロゲンの作用を検討した。雄 SD ラットに Estradiol-3-benzoate (EB) を筋肉内単回投与し、24 時間後に精巣内のテストステロンレベルおよびステロイド合成酵素 mRNA レベルを観察したところ、ラットの精巣内テストステロンレベルは著しく減少し、ステロイド合成酵素のうち、シトクローム P450 側鎖切断酵素 (P450<sub>sc</sub>)、シトクローム P450 17 $\alpha$ -hydroxylase/C<sub>17-20</sub> lyase および 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 III 型の発現が有意に減少した。さらに投与後の経時的変化の解析では、精巣内テストステロンレベルは投与 1 時間後に増加し、その後は減

少した。この精巣内テストステロンレベル変化に対応して、ステロイドホルモン合成短期調節タンパク (steroidogenic acute regulatory protein: StAR) の発現が有意に上昇していた。これらの結果から、投与初期には StAR の発現増加によりテストステロン産生が亢進し、その後、P450scc, P450c17 の発現が減少することでテストステロン産生が抑制されることが明らかになった。

第Ⅲ章では、BPA 投与によるステロイド合成系への影響を検討した。BPA 200 mg/kg 体重を 6 日間強制経口投与し、投与開始 8 日目において観察したところ、血清中テストステロンレベルが減少しており、ステロイド合成酵素では、P450scc の発現だけが有意に減少していた。さらに BPA 2 mg/kg 体重単回経口投与による経時的な検討では、精巣内テストステロンレベルは投与 2 時間後には上昇し、3 時間後では減少する傾向にあった。また Scavenger receptor, class B, type I (SRBI) および P450scc の発現が、投与 2 時間後には増加していた。従って、BPA 投与初期には SRBI および P450scc の増加がテストステロン産生の増加を引き起こし、6 日間投与後におけるテストステロンの減少は P450scc の減少によることが明らかになった。

以上のことから、エストロゲンによるテストステロン産生抑制はステロイド合成系の遺伝子発現の抑制が一因であること、また、BPA 投与によって精子発生が抑制されること、および精巣内ステロイド合成系に影響を及ぼすことが示された。さらに精巣内ステロイド合成系遺伝子発現レベルへの影響パターンが、エストロゲンと BPA で差異があることから、エストロゲンとは異なる BPA の作用機序が存在すると思われた。そして、BPA 投与による精子発生の抑制は、おそらくテストステロン産生が影響を受けることによると推測された。

本論文は、BPA の精子発生およびステロイド合成系への影響を明らかにし、エストロゲンの影響と差異があることから、別の作用機序の存在可能性を示したものである。この結果は、新規の知見および概念を含み、獣医学学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。