

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ビビン・ビンタン・
アンドリアナ

セルトリ細胞核内に存在する Multivesicular nuclear body (MNB) は反芻類の精巣において特異的に観察され、他の哺乳類では認められない。MNB は小胞、管状構造、およびリボゾーム様構造からなる。本研究では、まずシバヤギ精巣の生後発達における MNB の形成過程を明らかにした。1, 2, 3, 4, 5 ヶ月齢および成体のシバヤギより精巣を取り出し、グルタルアルデヒド/オスミウム酸二重固定後、アラルダイトに包埋。精巣の厚切り切片および連続超薄切片を作製、光顕および透過電顕で形態学的、形態計測学的に観察した。シバヤギの MNB は種々の大きさの小胞、管状構造、およびリボゾーム様構造を含んでいた。各発達段階（1, 2, 3, 4, 5 ヶ月齢および成体）における MNB の体積は、それぞれ $269.3 \mu\text{m}^3$, $327.1 \mu\text{m}^3$, $361.3 \mu\text{m}^3$, $431.2 \mu\text{m}^3$, $525.0 \mu\text{m}^3$, および $760.4 \mu\text{m}^3$ 。1セルトリ細胞当たりの小胞数の平均は、それぞれ 0, 7.4, 11.1, 12.3, 15.5, および 32.7 であった。1 ヶ月齢では、セルトリ細胞核内に線維成分を含む 1 ー数個の核小体が確認されたが、MNB は全く認められなかった。2 ヶ月齢で MNB は初めて確認されたが、まだ未発達で希にしか観察されなかった。この段階で MNB は少数の小胞とリボゾームからなり、核の辺縁に位置していた。3 ヶ月齢以降、MNB は次第に発達し、数を増し、核の辺縁から中央部へ移動し、核小体と融合して成熟した MNB を形成した。

次に原始的な反芻類とされるマメジカの成体における MNB の有無を検討した。他の反芻類と同様、マメジカのセルトリ細胞においても MNB が存在した。MNB は小胞、不規則な形状の管状構造およびリボゾーム様構造からなっていたが、他の反芻類と比べ希にしか観察されなかった。1セルトリ細胞当たりの MNB の小胞の数は平均 4.4 であり、小胞の直径は 30ー180 nm の範囲にあった。マメジカの MNB は、ウシやヤギのそれに比べ未発達であったが、最も原始的な反芻類であるマメジカに存在したことから、MNB は反芻類精巣に共通した特有の構造だと考えられる。マメジカの精巣には、もう一つ特徴的な構造が認められた。それはライディッヒ細胞に存在するフィラメントの束である。アクチンフィラメントからなる束はライディッヒ細胞の細胞質と核の両方に存在したが、中間径フィラメントからなる束は細胞質のみに認められた。この構造は他の哺乳類の精巣では確認されておらず、マメジカのライディッヒ細胞に特有の構造と考えられるが、その機能、存在意義については不明である。

次にシバヤギ精巣の培養系を用いて、内分泌かく乱物質である mono(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) および Bisphenol A (BPA) のリスク評価試験を試みた。2ヶ月齢のシバヤギより採材した精巣を細切後、培養液に移し、精巣器官培養系とした。この培養系に MEHP ないし BPA を種々の濃度 (0, 100, 1×10^{-3} , および 1×10^{-6} nmol/ml) で添加し、添加後 1, 3, 6, および 9 時間後に採材。顕微鏡による観察に供した。添加後 1 時間では、セルトリ細胞内での空胞の出現および核膜の崩壊が認められた。この現象は時間依存的、濃度依存的に増大する傾向を示した。添加後 3 時間以降においては、アポトーシスを示す精細胞 (クロマチン濃縮、形質膜の崩壊を伴わない細胞質萎縮、機能している細胞小器官、および膜で境界された小体内の密集した細胞成分を特徴とする。)、ネクローシスを示す精細胞 (膨化し崩壊したミトコンドリア、形質膜の溶解、散在した細胞成分およびクロマチンの凝集を特徴とする。)、アポトーシスを示すセルトリ細胞 (核膜の溶解、核質の濃縮を特徴とする。)、およびネクローシスを示すセルトリ細胞 (核周囲に沿う辺縁クロマチン、膨化崩壊した細胞小器官を特徴とする。) が観察された。MNB の小胞の崩壊も同時に認められた。結論として、MEHP, BPA はともに、低濃度では精細胞をアポトーシスに、高濃度では精細胞およびセルトリ細胞をネクローシスに導くことが示唆された。セルトリ細胞初代培養系への MEHP, BPA の添加試験においても、細胞内における空胞の出現によるセルトリ細胞の変性および核膜の溶解が確認された。次に対照試験として、幼若ラット精巣器官培養系への MEHP 添加試験を試みた。添加後 1 時間で Tunnel 陽性精細胞が出現し、その数は時間依存的、濃度依存的に増加した。また電顕観察により、MEHP は主に精細胞をネクローシスに導くことが示唆された。

本論文は、反芻類精巣に特異的な MNB について多くの新知見を提供し、また精巣器官培養系が内分泌かく乱物質リスク評価試験に有用であることを示した。これらの成果は、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。