幼若黒毛和種雄ウシにおける精巣の発育と精子形成

姫野晃一・徳田陽子・濱野光市・大島浩二*・齋藤　治
・有馬　博

信州大学農学部附属農場，*信州大学農学部動物資源生産学講座

Testicular Development and Spermatogenesis in Young Japanese Black Bulls

Koh-ichi HIMENO, Yoko TOKUDA, Koh-ichi HAMANO,
Koji OHSHIMA*, Osamu SAITO and Hiroshi ARIMA

要　　約

黒毛和種雄ウシの春機発動前後の精巣の発育と精子形成を明らかにすることを目的に、バイオプシーと摘出により，採取した精巣および生殖細胞の変化を調べた．精巣組織は，生後２～５ヶ月齢の黒毛和種雄ウシから，片側ずつ１ヶ月間隔で摘出，あるいはバイオプシーにより同側精巣の２ヶ所について組織を採取し，同時に体重，精巣容積を測定した．組織は，ブアン液に浸漬して固定し，定法に従いパラフィン包埋後，切片にし，ヘマトキシリン・エオシンで染色した．染色後，精細管の直径，精細管に存在する生殖細胞の数とその変化を観察した．バイオプシーにより採取できた精巣内の平均精細管数は30個であった．月齢が進むにつれて，体重，精巣容積，精細管直径は増加した．摘出およびバイオプシー由来の２ヶ月齢のウシの精細管では，胚芽細胞のみ存在した．３ヶ月齢の生殖細胞では，いずれにおいても胚芽細胞から精祖細胞への分化が認められた．３ヶ月齢以降の摘出精巣由来の組織では，精祖細胞から精母細胞への分化も認められたが，バイオプシー由来の組織では同様の分化は認められなかった．

はじめに

精子形成の開始を示す精巣内での胚芽細胞からA型精祖細胞への分化は，春機発動期直前に起こることが知られている[5]．

Almquistら[1]は雄ウシの春機発動期を調べ，ホルスタイン種とアンガス種で，それぞれ273，287日と報告している．黒毛和種雄ウシの春機発動について得られた知見は少ない．濱野ら[3]は，１～８ヶ月齢の黒毛和種の精巣を摘出後，生殖細胞の発生と分化を調べ，３～４ヶ月齢での春機発動の開始を報告している．雄ウシの春機発動あるいは生殖細胞の分化に関するこれまでの報告は，複数の個体から摘出後に調べたものである[1,2]．また，精巣における生殖細胞の分化は，生時体重，月齢と比較して，解析時の体重，あるいは精巣重量と高い正の相関を示し，これらの違いにより精子形成に個体差を生じることも報告されている[2]．姫野らは，黒毛和種雄ウシの精巣からバイオプシーにより採取した精細管の変化と生殖細胞の分化を調べた[4]．

本研究では，黒毛和種幼若雄ウシの春機発動前後の精巣の発育と精子形成を明らかにすることを

目的に，体重，精巣容積の変化と摘出精巣およびバイオプシーにより同一個体から連続採取した精巣内の生殖細胞の変化を調べた．

材料および方法

精巣組織は，信州大学農学部附属農場で生まれた黒毛和種雄ウシから，生後２ヶ月から５ヶ月齢まで，精巣を片側ずつ１ヶ月間隔で摘出後，採取し，体重と精巣の大きさ（長径・短径）を測定した．また，生後２ヶ月から５ヶ月齢まで，姫野ら[4]の方法により，バイオプシーを利用して，同側精巣の２ヶ所について組織を採取し，同様に体重および精巣の大きさを測定した．精巣容積は，測定した精巣の長径と短径から，精巣容積＝（3／4）×π×（精巣長径）×（精巣短径１）×（精巣短径２）によって算定した．バイオプシーは，バードマグナム（メディコン）（図１）を利用して，18Ｇの採取針（メディコン）によって行った．採取後の組織は，直ちにブアン液（ピクリン酸飽和水溶液：局方ホルマリン：酢酸＝15：５：１）に浸漬して固定した．固定後の組織は，定法に従いアルコール系列で脱水し，ベンゼンで置換後，透徹してからパラフィンに包埋した．パラフィン包埋組織は，ミクロトームで８μｍの切片にし，ヘマトキシリン・エオシンで染色した．染色後，精細管の直径，精細管に存在する生殖細胞の数とその変化を観察した．また，バイオプシーにより採取した精巣組織については，精細管の数も測定した．

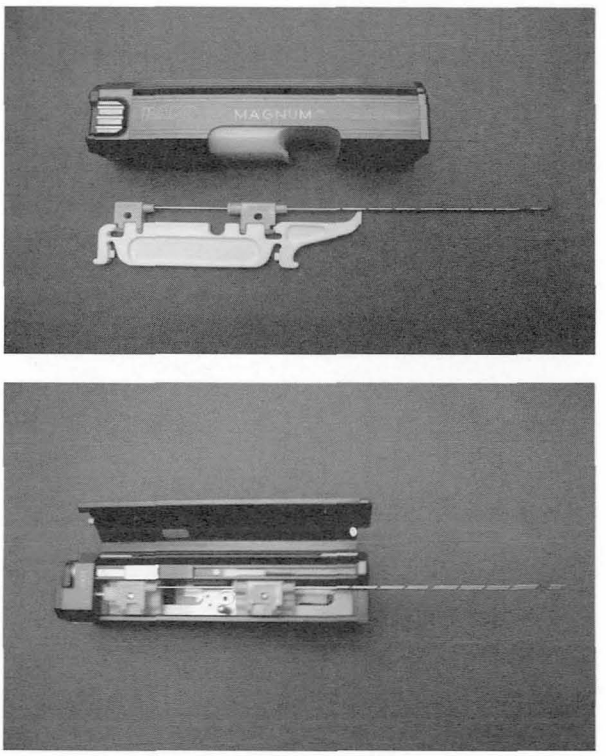

図１　バイオプシー装置

結　　果

１回のバイオプシーによって採取することができた精巣組織中の精細管数の平均は30個であった．

生後２～５ヶ月齢に精巣組織を採取した雄ウシの解析時の体重と精巣容積，精細管直径の変化を図２に示した．月齢が進むにつれて，解析時の体重，精巣容積，精細管直径はそれぞれ増加した．また，

解析時の体重，精巣容積，精細管直径のそれぞれの関係を図3に示した．摘出およびバイオプシー由来のいずれにおいても，それぞれ高い正の相関が認められた．

２～５ヶ月齢の雄ウシにおける胚芽細胞と精祖細胞，精母細胞の発生と分化を図４に示した．バイオプシー由来の精巣組織では，２ヶ月齢の精細管において，未成熟のセルトリ細胞と胚芽細胞のみ存在したが，３ヶ月齢の精細管では精祖細胞が認められた（図４，５）．摘出精巣由来の精巣組織では，バイオプシー由来のものと同様に，２ヶ月齢の精細管において，未成熟のセルトリ細胞と胚芽細胞のみ存在したが，３ヶ月齢の精細管では精祖細胞に加え，精母細胞も認められた（図４，６）．

胚芽細胞の大きさは，２ヶ月齢ではセルトリ細胞に比べて明らかに大きかったが，月齢が進むにつれて小さくなる傾向がみられた．１つの精細管断面に存在する胚芽細胞は平均１個以下であった．３ヶ月齢，体重65kg，精巣容積30cm³の雄ウシのバイオプシー由来の精細管では，胚芽細胞からＡ型精祖細胞への分化が認められた．しかし，すべての精細管において分化が認められたわけではなく，５ヶ月齢においても胚芽細胞は少数ではあるが認められた．３ヶ月齢，体重105kg，精巣容積62cm³の雄ウシの摘出精巣由来の精細管では，胚芽細胞からＡ型精祖細胞への分化が認められたが，バイオプシー由来のものとは異なり，精母細胞への分化も認められた．５ヶ月齢においては，胚芽細胞は認められなかった．

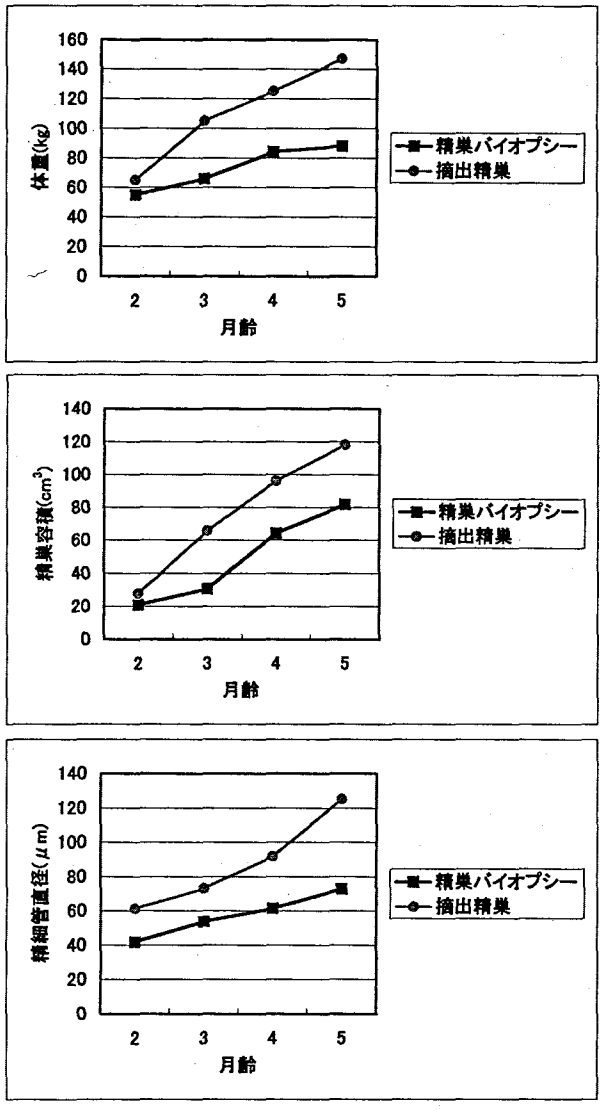

図２　ウシの体重と精巣容積、精細管直径の変化

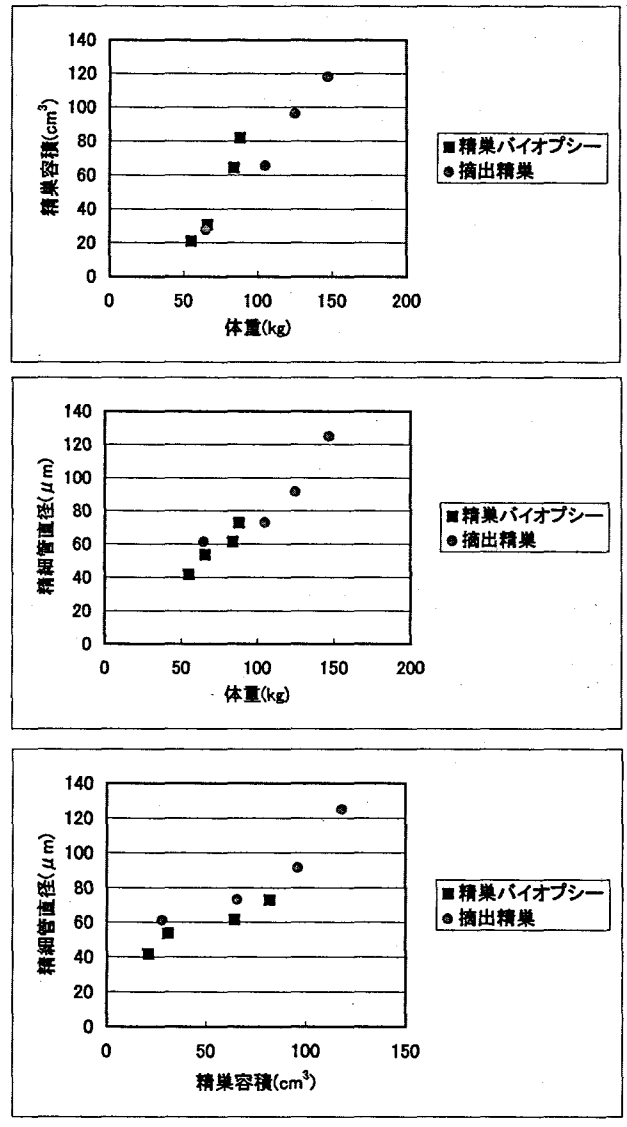

図３　ウシの体重と精巣容積、精細管直径の変化

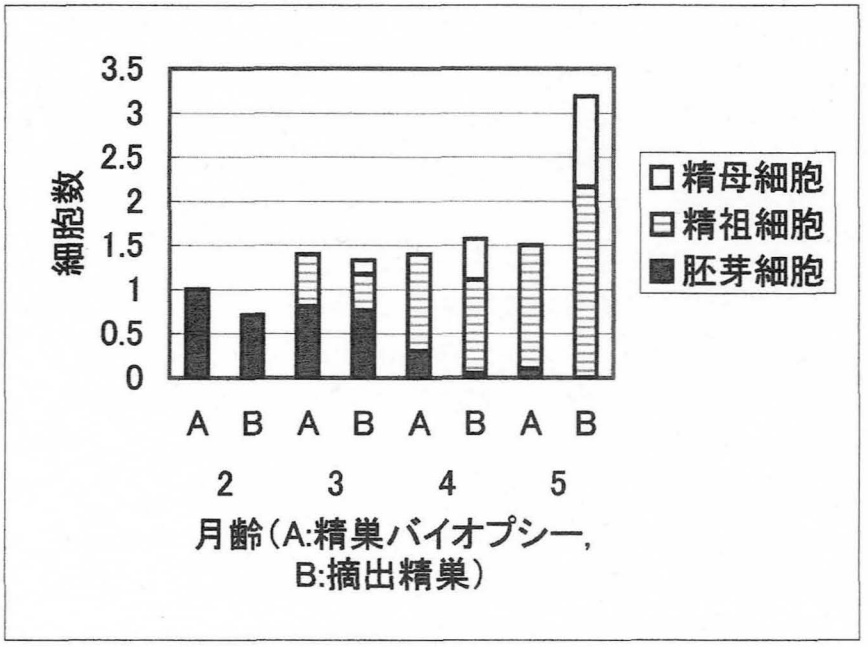

図4　ウシ生殖細胞の発生と分化

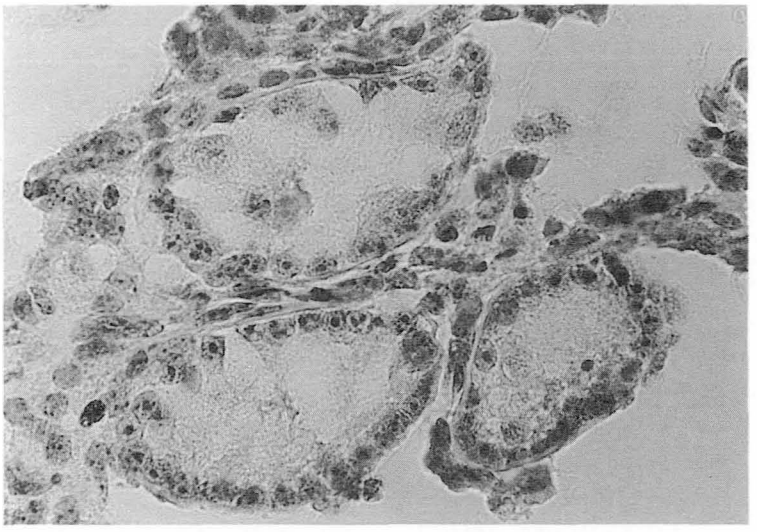

図5　ウシ精細管断面図（精巣バイオプシー）

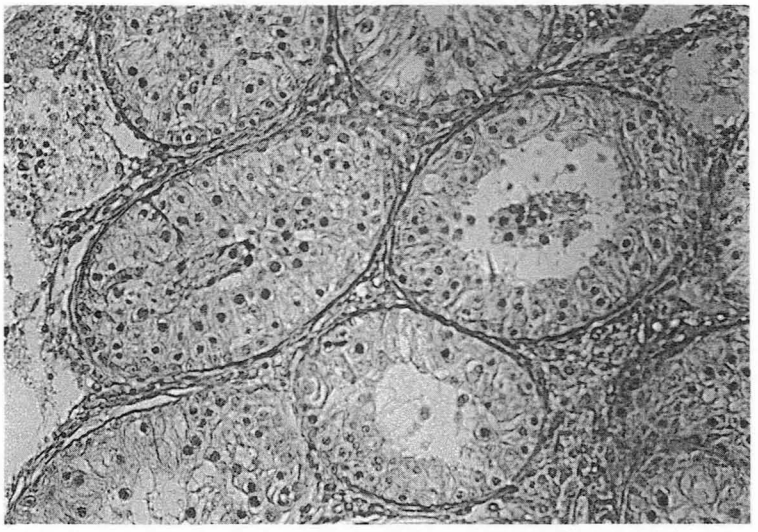

図6　ウシ精細管断面図（摘出精巣）

考　　察

黒毛和種雄ウシにおける春機発動期前後の変化，特に精子形成開始時期について得られた知見は少ない．本研究では，幼若黒毛和種雄ウシの体重，精巣容積および精細管直径の変化と，バイオプシーおよび摘出により採取した生殖細胞の発生と分化を調べた．本研究で調べた2～5ヶ月齢の黒毛和種雄ウシの体重，精巣容積，精細管直径は月齢が進むにつれて増加した．これらの値について，Curtisら[2]が調べたホルスタイン種ウシの値と比較すると，バイオプシー由来ではいずれも低い値を示し，摘出精巣由来では高い値を示した．これらの違いは，バイオプシーを利用したウシと，精巣を摘出したウシの栄養状態，生育条件などの違いが原因で，ウシの成長，すなわち，体重，精巣容積，精細管直径が異なったためと考えられる．

月齢，体重および精巣容積には，おのおの高い正の相関性が認められた．これは，3ヶ月齢のウシ精巣内での胚芽細胞から精祖細胞への分化，および生殖細胞の活発な分裂，増殖と密接に関係すると思われる．

Tesarikら[6]は，ヒト無精子症患者の精巣からバイオプシーによって生殖細胞を採取して培養後，精子形成を観察している．本研究において，バイオプシー由来の平均精細管数は30であり，生殖細胞の分化を調べるのには十分な数であった．バイオプシーによって採取したヒト精巣組織の培養後，胚芽細胞の分化が観察されている[6]．今後，バイオプシーの利用が，ウシ生殖細胞の分化に及ぼす影響を調べる必要がある．

雄ウシにおいて，片側精巣の除去後，残りの精巣が肥大することが知られている．しかしながら，本実験で調べた2～5ヶ月齢の黒毛和種雄ウシの精巣では，除去後1ヶ月での代償性肥大は認められなかった．

胚芽細胞のA型精祖細胞への分化は，春機発動期への移行，精子形成の開始を示すことが知られている[2]．本研究において，バイオプシーおよび摘出精巣由来の2ヶ月齢の精細管にはセルトリ細胞と胚芽細胞が存在した．バイオプシー由来の3ヶ月齢の精細管では精祖細胞が少数見られ，4ヶ月齢では精祖細胞が存在した．摘出精巣由来の3ヶ月齢の精細管では，精母細胞も少数存在した．これらのことから，3～4ヶ月齢の黒毛和種雄ウシでは，精祖細胞から精母細胞への分化が始まり，春機発動期の開始が示唆された．ホルスタイン種ウシでは4～6ヶ月齢で精子形成を開始する[2]と報告されており，黒毛和種における，春機発動開始月齢が早い傾向にあると考えられるが，体重，精巣容積についても比較する必要がある．

以上のことから，3ヶ月齢の黒毛和種雄ウシの精細管内では，精巣バイオプシー，摘出精巣のいずれにおいても，胚芽細胞から精祖細胞への分化が確認され，春機発動の開始が推察された．また，春機発動後の生殖細胞の分化に差が認められ，個体間の体重あるいは精巣容積の違いに起因すると思われた．さらに，黒毛和種雄ウシの体重あるいは精巣容積から，精細管内の分化，さらには春機発動の開始を予測できることが示唆された．

参考文献

1）Almquist J O, Amann R P. Reproductive capacity of dairy bulls. Jounal of Dairy Science, 59:986-992. 1976.

2) Curtis S K, Amann R P. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. Journal of Animal Science, 53:1645-1657. 1981.

3) 濵野光市・徳田陽子・大島浩二・河人亜紀・北村圭・齋藤治・有馬博. 黒毛和種幼若雄ウシにおける精巣細胞の分化に関する組織学的研究. 信州大学農学部紀要, 37:127-135. 2001.

4) 姫野晃一・濵野光市・大島浩二・齋藤治・有馬博. 幼若黒毛和種から精巣バイオプシーにより採取した生殖細胞の発生と分化. 日本畜産学会北陸支部会報, 83:(印刷中). 2001.

5) Johnson L. Spermatogenesis in the bull. Proceedings of the 15th Technical Conference on Artificial Insemination & Reproduction. 9-24. 1994.

6) Tesarik J, Mendoza C, Annibalo R, Greco E. In-vitro differentiation of germ cells from frozen testicular biopsy specimens. Human Reproduction, 1713-1716. 2000.