

学位論文の審査結果の要旨

申請論文は、ウシ精子の運動性と受精機能を明らかにするため、走温性と走化性の作用機構を調べたものである。

現在、海産動物を中心に卵子由来の化学物質等に誘引され移動する精子の走化性が知られており、哺乳動物の含め、精子の運動性に関する研究が進められている。最近、ヒト、ウサギ、マウスの精子における走温性、走化性が調べられている。運動能、移動能を有する精子が卵管膨大部へ高率に移動し、受精するために走温性と走化性が関与すると推察され、その作用機構が調べられてきた。しかしながら、ウシにおける報告は少なく、得られた知見も十分ではない。一方、最近、人工授精後の雌ウシの受胎率が50%以下に低下し深刻な問題となっている。現在、雌雄から原因が調べられ、改善のための早急な対応が求められている。

以上のような背景から、申請論文ではウシ精子の走温性と走化性を調べることで移動能と受精機構を解明し、ウシの増産に貢献できる精度の高い精子の検査技術、雄ウシの繁殖性評価技術を確認することを目的に、運動性に及ぼすカルシウムの影響、頭部と尾部における運動性を詳細に解析した。

異なる温度におけるウシ精子の運動性、移動能を調べ、ウシの体温に近似の38°Cで高い運動性が認められた。34~42°Cにおいて1°Cあるいは2°C異なる温度勾配を設定し、ウシ精子の移動、および受精能獲得と雄ウシの繁殖性との関係を調べた。その結果、ウシ精子は38°Cから2°C、および1°Cの温度差を認識し高温度域に移動する走温性が確認された。また、培地におけるカルシウムイオン、カルシウムキレート剤の影響、およびカルシウムチャンネル、細胞内カルシウム放出の阻害の影響を調べ、カルシウムチャンネル、および細胞内カルシウムがウシ精子の走温性に関与することを示した。また、受精能獲得誘起処理前後の走温性を調べ、他の動物種と異なり、受精能獲得前での走温性の発現を確認した。さらに、例数は少ないが、雄ウシの繁殖性と走温性の関係も示唆された。この成果は *Journal of Reproduction and Development* に受理され、掲載予定である。

走化性はウシ卵胞液への精子の移動、および精子の頭部と尾部の運動性を

精子運動解析装置 (CASA) により調べ、培地で 1000 倍希釈したウシ卵胞液への高率の精子の移動が確認され、ウシ精子における走化性が示された。また、受精能獲得前の精子における走化性も確認され、受精機構との関連も推察された。さらに、繁殖性の異なる雄ウシ由来の精子の卵胞液へ移動を調べ、繁殖性の高い雄ウシ由来の精子の頭部における軌跡速度 (VCL)、直線速度 (VSL) が高いことが認められた。また、走化性を発現しながら卵胞液の濃度勾配を移動、曲折中の精子の尾部屈曲率 (FCR) が、曲折前、および曲折後の精子の値と比べ、有意に高いことが確認され、走化性物質である卵胞液の勾配を認識後、尾部屈曲の特異的な変化により移動の方向を変化させることが推察された。これらの成果は *Reproductive Medicine and Biology* に受理され、掲載予定である。

以上のとおり、申請論文はウシ精子の走温性と走化性の発現、および走温性におけるカルシウムイオン、カルシウムチャネル、細胞内カルシウムの関与、および走化性における運動機能の変化、受精能獲得、雄ウシの繁殖性の関係を示唆した。現在までに、これらの研究成果は、申請者を筆頭著者として学術雑誌 2 報に受理され、掲載予定であり、学位論文に値することが確認された。

公表主要論文名

- 1) MD Anisuzzaman Mondal, Yuji Takagi, Shoji A Baba, Koh-ichi Hamano. Involvement of calcium channels and intracellular calcium in bull sperm thermotaxis. *Journal of Reproduction and Development*, in press (accepted for publication)
- 2) MD Anisuzzaman Mondal, Yuji Takagi, Shoji A Baba, Koh-ichi Hamano. Possible ability of bovine follicular fluid to attract migrating bull spermatozoa. *Reproductive Medicine and Biology*, in press (accepted for publication)