

氏名・本籍	藤内 慎悟 (大分県)
学位の種類	博士 (生命システム科学)
学位記番号	博甲 第60号
学位授与の日付	令和4年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	鉄欠乏を誘導した雌雄マウスにおける生殖機能に関する基礎的研究
学位論文審査委員	主査 准教授 山下 泰尚 副査 教授 齋藤 靖和 教授 稲垣 匡子 准教授 阿部 靖之

学位論文の要旨

近年、不妊治療に訪れる女性の約9割が鉄欠乏であることや鉄欠乏の男性患者の精子の質の低下が報告されている。しかし、鉄欠乏が雌雄生殖機能へ及ぼす影響を明確に示した報告はない。本研究では、低鉄飼料(Low Fe Diet; LFD)を給餌した鉄欠乏モデルマウスを作出し、通常飼料(Normal Diet; ND)を給餌したマウスと比較解析を行い、鉄欠乏の雌雄生殖機能への影響を検討した。

第2章では、鉄欠乏の雌性生殖機能への影響を調べた。初めに鉄欠乏が誘導される低鉄飼料割合と給餌期間を検討し、鉄欠乏を誘導できた100%のLFDを3週間給餌したマウスをLFDマウスとした。鉄欠乏が性周期変動、妊娠率、産仔数に与える影響を調べた結果、LFDマウスでは発情休止期から性周期が進行せず、交配試験により妊娠した個体は全く得られなかった。鉄欠乏が雌性生殖の卵胞発育、排卵、受精、発生への影響を検討した結果、LFDマウスの卵巣は卵胞発育不全を呈し、この結果排卵、受精、発生も著しく低下した。二次卵胞からの卵胞発育は下垂体から放出されるFSHが顆粒膜細胞のFSH受容体(FSHR)に結合し、エストロゲン産生酵素(CYP19A1)の遺伝子発現を増加させ、細胞増殖制御因子(CCND2)発現が増加し生じるが、これらの発現は全てNDマウスに比べLFDマウスで有意に低い値を示した。加えて、体内成熟させたLFDマウスの卵子の受精能および発生能も著しく低下した。さらに鉄欠乏による妊孕性の低下が鉄の補給で回復するかを調べた結果、性周期は正常に進行し、妊娠率も回復した。以上の結果から、雌の鉄欠乏は、顆粒膜細胞のFSH応答性を低下させ卵胞発育不全を誘導し、不妊を生じさせることを初めて明らかにした。さらに、鉄欠乏が原因の雌性不妊は、鉄の補給による鉄欠乏の改善により回復することを明らかにした。

第3章では、鉄欠乏が誘導される低鉄飼料割合と給餌期間を検討した結果、雄においても100%LFD

を3週間給餌により鉄欠乏が誘導された。雄性生殖への影響を検討するため、組織重量、性行動回数、妊孕性、産仔数を調べた結果、LFDマウスの精巣重量はNDマウスに比べ著しく減少した。さらに、LFDマウスの性行動回数は減少し、LFD雄マウスと交配した雌マウスはすべての個体が妊娠に至らなかった。LFDマウスの精巣上体精子は、NDマウスと比べ奇形率が著しく高く、精子の運動性が有意に低下した。この精子を用いてND雌マウス由来の卵子と受精試験を行ったところ、受精率は、著しく低い値であった。鉄欠乏が精巣を構成する各種生殖細胞に与える影響を解析した結果、精母細胞、円形精子細胞、伸長精子細胞数が低下し、この低下は精母細胞の増殖細胞割合の低下にあることが明らかになった。精母細胞以降の精子形成にはライディッヒ細胞(LC)から分泌されるテストステロンが重要であることから、鉄欠乏がLC細胞に及ぼす影響を検討した結果、LC細胞数とその増殖細胞割合はNDマウスに比べLFDマウスで有意に減少した。さらに、血中のLH量は鉄欠乏の影響は認められなかったが、LH受容体(*Lhcgr*)のmRNA発現が低下し、それに伴い下流因子の*Cyp17a1* mRNA発現、精巣テストステロン量が減少していた。加えて、LFDマウスのLC細胞には、NDマウスに比べてテストステロン産生能を持たない幼若LC細胞(HSD11B陽性細胞)が多く存在し、テストステロン産生能を持つ成獣LC細胞(CYP17A1, HSD17B3陽性細胞)は有意に低い値を示した。また、LFDマウスへ通常飼料を給餌したLFD Rescue(LFDR)マウスを作出し鉄の補給試験を行った結果、LFDにおいて低下した精子の質および妊孕性がLFDRマウスではNDマウスと同程度まで劇的に回復した。このことから、雄の鉄欠乏は、成獣LC細胞の数を低下させ、この結果、テストステロン合成が低下し、精母細胞以降の精子形成不全による雄性不妊を誘導することが明らかになった。さらに、鉄を含む通常飼料の給餌は鉄欠乏により生じる雄性不妊を劇的に回復させることに成功した。

第4章では、第2章および第3章の結果を以下のように総合考察した。本研究により、低鉄飼料給餌により鉄欠乏を誘導した雌雄マウスは、雌では顆粒膜細胞のFSHの応答性、雄ではLC細胞のLHの応答性が低下する結果、それぞれエストロゲンおよびテストステロン分泌能が著しく低下することが明らかになった。さらにこれらの結果、雌雄とも完全不妊となるが、鉄を含む飼料の摂取により、雌雄の生殖機能不全は劇的に回復することも明らかにした。これらの結果から、ヒトにおいても鉄欠乏性の女性不妊症と男性不妊症が存在することが示唆されたが、これらの症状は、鉄剤の補給により予防や治療が可能であると考えられた。