

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	Rafaela Sayuri Cicalise Takeshita
論文題目	Factors regulating steroid hormones in Japanese macaques and orangutans （ニホンザルとオランウータンにおけるステロイドホルモンの動態を調節する要因）		
（論文内容の要旨） The ability to determine hormonal profiles of animal populations can help to monitor reproductive status, health and physiological responses to environmental changes. In this study, I examined steroid hormones in captive, semi-captive and free ranging Japanese macaques (<i>Macaca fuscata</i>), and captive, semi-captive, and wild orangutans (<i>Pongo pygmaeus</i>), in order to determine the potential factors that influence hormonal levels, to clarify their mechanism of biological action in physiological responses, and to test their reliability in monitoring reproductive state and stress levels using noninvasive techniques. I conducted hormonal analyses using enzyme immunoassay for determination of fecal dehydroepiandrosterone-sulfate (fDHEAS), fecal glucocorticoids (fGC), fecal estrogens (fE), fecal progesterone (fP) and fecal testosterone. Hormonal concentrations were analyzed as function of age, reproductive state (pregnancy, lactation, castration), environment (housing condition, season, temperature) and behavior (dominance rank, aggression, grooming). I found that age influences fecal DHEAS (fDHEAS) in both Japanese macaques and orangutans, but in different ways. Japanese macaques have a linear decrease on fDHEAS with age, while orangutans have a significant increase between juvenile and adolescent period, a phenomenon known as adrenarche. In both species, fGC and fDHEAS increase in acute stress, but a delay between fGC and fDHEAS peaks of one-day interval suggests that DHEAS increases in response to GCs as an antagonist, to modulate stress response. There were no influences of dominance rank or season in fDHEAS of female Japanese macaques, but fGC was higher during the mating season than the birth season in both males and females. Additionally, fT concentrations rose during the mating season in intact male Japanese macaques, and it was significantly associated with their dominance rank. In castrated males, on the other hand, there was no endocrine association with dominance rank, which was correlated with age. They were less aggressive than intact males, but there was no difference in grooming time. In intact males, fGC concentrations were negatively associated with grooming time, indicating that males ameliorate stress levels by spending time in affiliative social interactions. I also found that pregnant female Japanese macaques and orangutans at late gestation have high fDHEAS concentrations, which are originated from the fetal adrenal to provide estrogens for the mother. Hence, fDHEAS did not increase at late gestation in stillbirth cases in Japanese macaques, whereas fE and fP remained elevated above baseline levels. On the other hand, early abortion detected by ultrasonography resulted in a drop of both fE and fP concentrations to pre-pregnancy levels in one Japanese macaque. In orangutans, fGC levels were higher in the morning than afternoon samples, but this effect was not observed in Japanese macaques. There was a significant increase in fGC levels and the GC/DHEAS ratio during the first year of orangutan lactation (early lactation), but fDHEAS concentrations were not affected, indicating that the first year is the most energetically costly for the mother. The GC/DHEAS ratio was significantly higher in infants (<5 years old) than adolescents and adults, suggesting that the low levels of DHEAS in early ages might be associated with a developing immune system. Results indicate that dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEAS), a poorly studied adrenal steroid, plays major roles in female reproduction and stress regulation, and it should be given more attention. An association of DHEAS and glucocorticoids (GCs) can provide an efficient index of physiological stress (GC/DHEAS ratio), and a concomitant analysis of ‘female sex steroids’ and DHEAS during pregnancy is useful for monitoring primate gestation and can predict fetal outcome. In male reproduction, the association between ‘stress hormones’ and ‘male sex steroids’ is an important index for analyzing the complex relationship between hormones and behavior, and help in the understanding the dynamics of primate social interactions. These methods are particularly relevant in studies of wild populations, to estimate fertility rates, population growth, survivability, ability to adapt in challenging environments, and for developing strategies of population control.			

(論文審査の結果の要旨)

霊長類における社会的相互作用の動態を理解するためには、生理・環境・行動の関係性を研究することが不可欠である。特にステロイドホルモンは、生理学的な状態および機能の重要な指標の一つで、生殖・成長・発達を調整し、健康に影響を与え、恒常性（ホメオスタシス）を維持する機能を有す。そのなかでもデヒドロエピアンドロステロン（DHEA）およびその硫酸化代謝産物デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体（DHEAS）は、霊長類の血液中に多くみられるステロイドである。しかし、その生物学的作用機序についてはほとんど理解されていない。これら二つのステロイドホルモンが詳細に研究されてこなかったのは、その分析過程において動物に対する非侵襲的手法が確立されておらず、簡易に分析することが困難であったためである。

申請者はこの難点を克服するため、非侵襲的サンプルである霊長類の糞便を用いてDHEASを測定する手法の開発を検証した。本検証のため、ニホンザルとボルネオオランウータンという系統的に遠く、社会性も異なる二種を対象として研究を実施した。特に行動および生理的变化のモニタリングに応用されてきた糞中ステロイドホルモン（グルココルチコイド、テストステロン^{さようきじよ}など）濃度測定法の測定系を応用して研究を実施した。本種におけるDHEASの作用機序、および異なる生殖やストレス状態における測定の信頼性を検証するために、年齢および社会的・環境的ストレスの影響および、メスの生殖状態とオスの行動について分析を実施した。本研究では、研究対象とした二種の霊長類におけるDHEASのデータを比較した。まず、年齢に関連したDHEASのパターンには種間差があり、発育前のDHEASの増加（adrenarche）はヒトおよび類人猿に限定されていることが示唆された。また両種において、DHEASはストレス調節の主要な役割を果たすため、グルココルチコイドと組み合わせることで、ストレス状態の有効な指標となることがわかった。さらに、DHEASはニホンザルとオランウータンの両方で妊娠後期に上昇し、胎児の健康の予測因子としても応用できる可能性を見出した。またニホンザルにおいては、高テストステロンレベルはオスの高順位と関連するものの、その順位の主要な決定要因は年齢であり、順位はグルココルチコイド濃度とは無関係であることを示した。

本研究は、ステロイドホルモン、行動および環境の間に存在する複雑な関係性の解明に寄与している。申請者が確立した非侵襲的手法とその結果は、飼育下における繁殖プログラムや、野生個体群のストレスレベルと適応度をモニタリングする保全プログラムへの応用も可能であり、幅広い用途があることを提示した。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年12月4日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。