

|           |                                                                                                                                                                                                 |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | チ池 旻 映                                                                                                                                                                                          |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (農 学)                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号 | 農 博 第 1638 号                                                                                                                                                                                    |
| 学位授与の日付   | 平 成 19 年 3 月 23 日                                                                                                                                                                               |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                                         |
| 研究科・専攻    | 農 学 研 究 科 応 用 生 物 学 専 攻                                                                                                                                                                         |
| 学位論文題目    | Effect of Protopanaxatriol Saponin (PT) on Spermatogenic Stem Cell Survival and Fertility of the Busulfan Treated Mice<br>(ブスルファン処理マウスにおける精子幹細胞の生存性および受精能力に及ぼすプロトパナキサトリオール・サポニン (PT) の影響に関する研究) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 今 井 裕 教 授 久 米 新 一 教 授 廣 岡 博 之                                                                                                                                                      |

### 論 文 内 容 の 要 旨

ブスルファン (Myleran, 1,4-butanediol methanesulfonate) は、50年前から白血病などの血液癌に対する化学療法剤として使われてきた。一方で、嘔吐、骨髄機能抑制、貧血、乳房肥大症、無月経などの副作用が報告されており、特に男性の場合は、無精子症、精子の減少による一時的な不妊、もしくは永久不妊になる例が報告されている。

*Panax ginseng* C. A. Meyer (高麗人参) は、薬用植物としてアジア各国で幅広く使用されてきた。その薬理効果の多くは、ジンセノサイド (サポニン) の作用に起因する。ジンセノサイドは、その構造によってオレアノール酸、プロトパナキサジオールそしてプロトパナキサトリオールに分けられる。このジンセノサイドの効果としては、抗癌作用、免疫調節作用、抗酸化作用、抗ストレス作用、ホルモン分泌作用などが知られているが、哺乳類の精子形成過程における薬理作用は、これまでに明らかになっていない。本研究では、ブスルファンで処理した雄マウスを用いて、精巣あるいは男性生殖細胞へのブスルファンの影響を検討するとともに、ジンセノサイドのなかで一番薬理作用が高いことが知られているプロトパナキサトリオール (PT) による精巣機能の回復又は保護効果について検討した。また、精巣から精原細胞を回収し、体外における精原細胞の生存性および増殖に及ぼす影響についても検討した。

雄マウスに対する濃度依存的なブスルファンの処理 (13, 28あるいは 35 mg/kg) によって、精巣および副精巣の重量は顕著に減少するとともに、精巣内の精細管は崩壊し、精子形成は阻害された。しかし、ブスルファンの処理後に PT (10 mg/kg) を投与すると、ブスルファンの毒性によって引き起こされた精巣の機能的害作用は軽減、あるいは回復した。また、ブスルファン処理後の PT 投与は、精原細胞数の回復と奇形精子発生率を低下させることが明らかとなった。

ブスルファン処理 (35 mg/kg) あるいはブスルファンを処理後に PT (10 mg/kg) を投与したマウスの精子を用いて体内受精率と体外受精率を比較した。ブスルファン単独投与では、精巣に対する害作用によって、体内および体外のいずれの場合にも受精は全く認められなかったが、ブスルファン処理後に PT を投与することによって、体内および体外受精の受精率は向上するとともに、雌マウスとの交配によって受胎率を改善することができた。

PT は A 型精原細胞の体外での増殖を刺激する効果を示した。生後10日目の雄マウスから A 型精原細胞を回収し、精原細胞の体外培養前にブスルファン (10, 50あるいは 100 µg/ml) 処理後に、PT (10, 50あるいは 100 µg/ml) の存在下で 6 時間前処理し、その後 3 日間細胞を培養した結果、PT の濃度依存的に A 型精原細胞の増殖効果が認められた。

以上の結果から、PT はブスルファンの生殖毒性に対して、男性生殖器官の回復や保護作用、さらに精原細胞の生存性を維持し、その細胞増殖を刺激する効果があることが明らかになった。さらに、PT は、無精子症や精子減少症のような男性不妊の障害改善にも応用の可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ブスルファンは白血病などの血液癌に対する抗癌剤として利用される一方、多くの副作用も報告されている。特に、男性

の場合は、精子の減少による無精子症、精子減少症の原因となることが知られている。一方、高麗人参は、薬用植物として古くから汎用され、その薬理効果はほぼジンセノサイド（サポニン）に起因することが知られている。ジンセノサイドの効果として、抗癌作用、免疫調節作用、抗酸化作用、抗ストレス作用、ホルモン分泌作用などがあるが、精子形成過程における薬理作用はこれまでに検討されていない。そこで、本研究では、ブスルファンを処理した雄マウスを用いて、精巣あるいは生殖細胞へのブスルファンの影響を検討するとともに、ジンセノサイドのなかで一番薬理作用が高いことが知られているプロトパナキサトリオール（PT）による、精巣機能の回復又は保護効果、精巣由来の A 型精原細胞の生存性および増殖に及ぼす影響について検討した。評価できる点は、以下の通りである。

1. マウスへのブスルファン投与によって、濃度依存的に精巣および副精巣の重量は顕著に減少するとともに、精巣内の精細管は崩壊し、精子形成は阻害された。しかし、ブスルファン処理後の PT 投与によって、ブスルファンによる精巣の機能的害作用は軽減、あるいは回復した。また、ブスルファン処理後の PT 投与は、精原細胞数の回復と奇形精子発生率を低下させることを明らかにしている。
2. ブスルファン処理後に PT 処理を行なった精巣から回収した精子を用いて、体内受精率と体外受精率を比較した結果、ブスルファン単独投与では、精巣に対する害作用によって、体内および体外のいずれの場合にも受精は全く認められなかったが、PT の投与によって、体内および体外受精の受精率は向上するとともに、雌マウスへの交配によって受胎率を改善することができた。
3. PT は濃度依存的に、精巣から回収した A 型精原細胞を体外培養した場合の、体外での生存性と増殖を刺激することを明らかにしている。

以上のように、本論文は、高麗人参に由来するジンセノサイドの構成成分である PT が、ブスルファンの生殖毒性に対して、雄性生殖器官の回復や保護作用、さらに体外での精原細胞の生存性の維持と細胞増殖を刺激する効果があることを明らかにするとともに、無精子症や精子減少症のような男性不妊の障害改善にも応用の可能性を示唆したものであり、家畜繁殖学、生殖毒性学、実験動物学、泌尿器科学の分野に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成19年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。