

尾部懸垂の精子形成における影響

奥野 誠, 向井 千夏(東京大・総合文化), 大平 充宣(大阪大・医)

Effects of tail suspension on spermatogenesis

Makoto Okuno¹, Chinatsu Mukai¹, and Yoshinobu Ohira²

¹Department Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo, Tokyo 153-8902.

²Osaka University, Osaka 560-0043

Abstract: Effect of gravity on reproduction is an important problem for inhabiting in space. We have been investigating the effect of hyper-gravity on male reproductive systems in mouse and found that male reproduction was not affected by hyper-gravity at least 3G. In this paper, we looked at the effect of tail suspension, as a simulation of micro-gravity, in male mouse. We found that tail suspension caused decrease in the weight of testis and suppressed spermatogenesis. In addition, sperm showed low quality comparing with the ground control and hyper gravity. Further experiments are necessary for evaluating if the tail suspension method is appropriate for a simulation of micro-gravity.

マウスを用いて精子形成と精子の機能に対する重力の影響を調べてきた。既に報告してきたように、過重力環境 (3G) は体重や多くの内臓の発達を抑制する傾向にあるが、精巣の発達はあまり影響を受けず、相対的にはむしろ促進させる傾向にあることが分かっている。

一方、宇宙環境を考慮すると、精子形成における重力の作用を明らかにする上で、微小重力の影響は避けては通れない問題である。しかし長期間マウスやラットを宇宙で飼育することは多くの困難がある。いくつかの宇宙実験が試みられているが、生殖は非常にストレス感受性が高く、微小重力のダイレクトな影響か、飼育環境の、例えば姿勢保持のために小型のケージで飼育するために生じる間接的なストレスの影響か、をどのように評価していくかなど多くの問題を抱えている。

ところで筋肉や血流などに関する動物を用いた研究では、下肢もしくは尾部懸垂が微小重力のシミュレーション実験として多く用いられてきた。そこでこのシミュレーション実験が生殖において妥当であるかを評価する意味も含めて、微小重力実験の予備実験として、尾部懸垂が精巣・精子形成に及ぼす影響を調べた。

[方法]

8週齢のC57/B110マウスを5匹ずつ、尾部懸垂、遠心飼育機による過重力飼育(2G)、地上コントロール(1G)の3群にわけ、3ヶ月間飼育した。それらを麻酔させ、体重を測定した後、開腹し、精巣および精巣上体を摘出した。精巣は重量を測定した後、5%パラフォルムアルデヒド溶液中で24hr、4℃固定した。定法に従いエタノールで脱水し、パラフィンで包埋した標本から切片を調製し、エオシンで染色し、観察した。

精子の運動は以下に述べる方法で観察し評価した。精巣上体尾部に注射針で小孔を数個あけ、精子を可能な限り搾り出し、300mM sucrose 溶液に希釈し、その精子密度を血球換算盤で計測し相対的精子密度とした。精子の運動性は、精子懸濁液をHank's液に希釈し、運動率、鞭毛の振動数と振幅を計測した。

[結果と考察]

我々は、3Gの過重力条件下で成長期マウスの長期間飼育を行った結果、過重力によって体重の増加は抑制されるものの、精巣形成の抑制は少なく、結果として体重当たりの精巣重量の比はむしろ増加する傾向にあることを既に明らかにしてきた。今回は2Gで実験を行ったが、Fig. 1に示すように、3Gでの実験と同様に体重抑制の効果が見られた。また精巣重量もわずかに減少していた。ただし3Gと比べるとその差は小さかった。一方、尾部懸垂群では体重も減少するが、精巣重量も顕著な減少を示し、体重当たりの精巣重量の比も大きく減少していた。

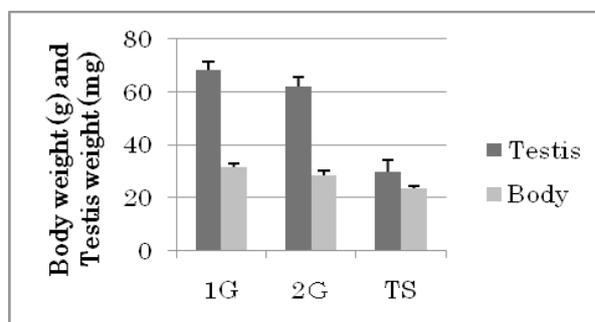


Fig.1A Effects of hyper gravity (2G) and tail suspension (TS) on body weight and testis weight of mouse. Mean and SD are shown. 1G: Ground control. N=5.

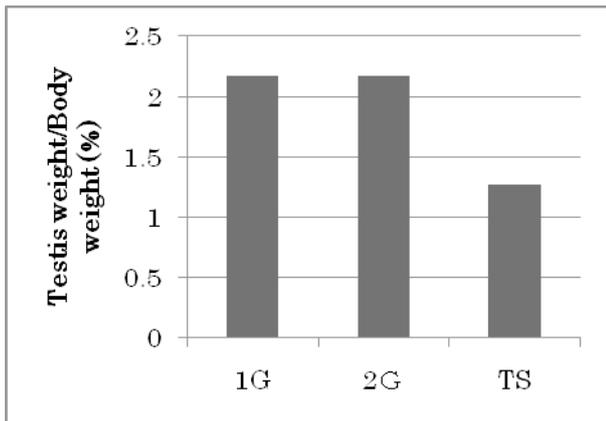


Fig. 1B Ratio of Testis weight /Body weight of mouse exposed by 1G, 2G and tail suspension calculated from Fig. 1. 1G: Ground control. 2G: 2G environment. TS: Tail suspension. N=5.

この差は Fig. 1B に見られるように、精巣重量の体重との比をとってみると顕著であった。1G 群と 2G 群ではほとんど差が見られなかったのに対し、尾部懸垂群では著しい精巣の委縮が見られた。

次に精巣の状態を調べるために、固定した精巣の切片を作成し観察した。Fig. 2 は地上コントロール (1G)、2G、および尾部懸垂群の精巣から得られた典型的な精細管の写真映像である。1G および 2G 群では精細管が太く、またルーメンに完成した精子が多数見られるのに対し、尾部懸垂群ではルーメン内の精子数が極めて少なかった。これは精細管の委縮と、それに伴う精子形成の不全が起きていることを示している。

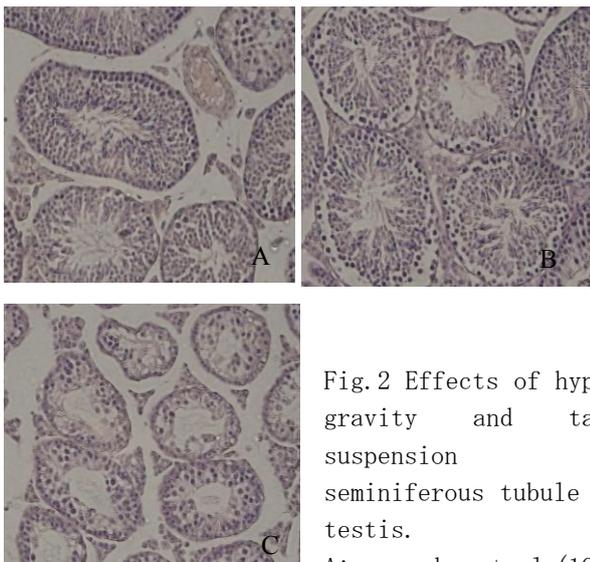


Fig. 2 Effects of hyper gravity and tail suspension on seminiferous tubule of testis.

A: ground control (1G).

B: 2G. C: tail suspension. In C, only small number of mature sperm can be seen in the lumen of the tubules.

次に精子の質について検討した。Table 1 にその結果を示す。いずれも相対的な評価で示してある。精子密度については、切片の写真記録から算出した精細管ルーメン中の精子密度および、精巣上体から得た精子サンプルにおける密度について評価した。ともに 1G 群と 2G 群ではほぼ等しく、差は見られなかった。しかし尾部懸垂群ではほとんど精子が見られないものもあり、平均して 1G 群、2G 群の 20%以下であった。また運動率も悪くほとんど運動精子が見られないものも 5 例中 2 例あり、他の 3 例も非常に運動率が悪かった。

それぞれの精子を Hank' s 液に希釈し、遊泳運動もしくは頭部をガラス表面に接着させたまま鞭毛屈曲運動運動性を続けている精子の屈曲波形および振動数を比較した。その結果はやはり 1G と 2G 群では鞭毛運動において差が見られず、ともに大きい振幅と高い振動数を示した。それに対し、尾部懸垂群では振幅が小さく振動数も低かった。また精子の形態も原形質分離が十分に行われず、細胞質液滴が付着している未成熟精子が多かった。

Table 1. Effects of hyper gravity and tail suspension on sperm motility.

	1G	2G	Tail suspension
Sperm density (seminiferous Tubule)	High (++++)	High (++++)	Low(+)
Sperm density (cauda epididymis)	High (++++)	High (++++)	Low (±)
Motility (%)	High (++++)	High (++++)	Low (±)
Flagellar wave form	Normal	Normal	Low amplitude
Flagellar beat frequency	High	High	Low (small vibration)

今回の実験では、3ヶ月という長期間、過重力もしくは尾部懸垂環境に曝すという実験を行ったが、短期間の尾部懸垂を行った先行研究と、ほぼ同様の結果となった。尾部懸垂による著しい精巣萎縮の原因究明のために、今後は性ホルモンやストレスホルモンなどへの影響を調べる必要がある。また尾部懸垂が、生殖に関して微小重力の適当なシミュレーションであるかを検討するため、後肢を開脚させるなどして精巣の体温を下げる、またヘッドダウン姿勢での飼育などを試みたいと考えている。