

氏名	RANGGA SETIAWAN		
学位の種類	博 士 (学術)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 7 6 号		
学位授与年月日	令和2年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Roles of Energy Production Pathways in Sperm Motility Regulation in Chickens (鶏精子の運動性制御におけるエネルギー生産経路の役割に関する研究)		
主査	筑波大学助教	博士 (学術)	浅野 敦之
副査	筑波大学教授	Ph.D.(Animal Physiology)	田島 淳史
副査	筑波大学教授	Ph.D.(Ecological Sciences)	Taylor DeMar
副査	筑波大学教授	農学博士	宮崎 均

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、鳥類精子の人為的制御技術の構築に向けて、哺乳類において受精能力と密接な関係性が知られるものの、高い種特異性が存在する精子エネルギー生産経路の機能的役割を検討したものである。本論文で著者は、主要精子 ATP 生産経路である解糖系と酸化的リン酸化経路、さらにその代謝活性に影響を及ぼすカルシウムチャンネルに注目し、発現・局在等の基礎的データに加え、基質代謝経路の実態を明らかにし、鳥類精子では運動性調節に両 ATP 生産経路が補完的に関与するが、受精に際した卵膜通過には解糖系が必須であることを示した。

第1章では、著者は人口増や経済成長により将来動物性タンパク質需要が増加する試算を紹介し、飼料効率および栄養面で優れた家禽肉の重要性が世界的に伝播している現状を紹介している。このような状況下、鳥類の人工繁殖技術の果たす社会的役割は大きいですが、哺乳類と比べ多面的差異のある鳥類精子では、基盤的技術の社会実装が進んでいないこと述べ、この状況打開には家禽精子において受精能力を制御、あるいは保存できるエネルギー代謝経路の解明が有用であると論述している。さらに精子の主要動力源である解糖系および酸化的リン酸化は、その仕組みが複雑且つ種特異的であることを示し、鳥類でエネルギー基質輸送から代謝まで統括的に解明する研究アプローチが必要であると論じている。さらに著者は、グルコースやカルシウムの輸送経路と受精能力との関係を紹介し、本研究で得られる精子のエネルギー生産に関する基本原理は、鳥類精子の機能制御や生息域外保存の技術戦略構築のための基盤データとなると記している。

第2章で著者は、精子において主要なグルコース輸送体である **Glucose transporter 1 (GLUT 1)**、ならびに細胞内カルシウム調節チャンネルである **Plasma membrane calcium ATPase 2 と 4** の発現特性を調べた。その結果、これらは精子形成後期の伸長精子細胞で発現が始まり、

成熟精子ではミトコンドリアを含む中片部へ特異的に局在することから、鞭毛運動性との関係性を推測した。

第3章で著者は、まずATP 産生経路の上流部分に関する基礎的データ獲得のため、様々な特異的阻害剤を用いて GLUT1 の鶏精子鞭毛運動における機能的役割を調べた。その結果、GLUT1 はグルコース取込による ATP 産生とミトコンドリア活性促進を介して精子の鞭毛運動をサポートすることを明らかにした。さらに、鞭毛運動には解糖系と酸化的リン酸化の両者が関与することを明らかにし、グルコースによる精子運動性制御機構の存在を推測した。

第4章で著者は、哺乳類精子では解糖系と酸化的リン酸化への依存様式に種特異性があることに基づき、各種阻害剤とエネルギー基質を使って鶏精子運動性と卵膜通過性を制御する主要ATP 産生経路を調べた。その結果、鞭毛運動は両経路で調節されるが相乗的効果は無いことが明らかになった。これに対し、精子の卵膜通過には解糖系の利用が必須であることを示した。著者はこの原因を酸化ストレスおよび細胞内 pH (pHi) 変化の観点から検討した結果、活性酸素レベルにATP 産生経路による差は無かったが、pHi は ATP 産生に伴い低下することを明らかにした。以上の成果から、鞭毛運動性は解糖系と酸化的リン酸化により補完的に制御されるが、卵膜通過能は解糖系に依存していることを示した。

本論文において、著者は薬理的および細胞生物学的手法を駆使し鶏精子の受精機能におよぼすエネルギー産生経路の影響を明らかにし、精子はグルコースを含む種々のエネルギー基質を元に解糖系と酸化的リン酸化を通して ATP を産生し、鞭毛運動と卵膜通過能を維持していること示した。これらの研究成果は鳥類精子の機能制御に関わる基本的なエネルギー生産経路を明確化すると共に、哺乳類と鳥類精子間の生殖戦略に関する違いに科学的根拠をもたらしており、今後鳥類における生殖補助技術改良にむけた基盤データとして役立つことが期待出来る。

審 査 の 要 旨

本論文は、鳥類精子の運動性調節メカニズムをエネルギー産生経路の解明を通じて明らかにしたものである。その結果、鶏精子は エネルギー生産系に関わる GLUT1 などの輸送体を鞭毛の中片部に集約していることが明らかになった。また GLUT1 は解糖系と酸化的リン酸化にグルコースを供給することで、精子鞭毛運動を上向調節していることを明らかにした。さらに、鞭毛運動性は種々のエネルギー基質を元に解糖系と酸化的リン酸化を通して補完的に調節されているが、精子の卵膜通過能力は解糖系に依存していることを明らかにした。以上の成果は、今後家禽のみならず鳥類全体において人工繁殖技術の最適化を図る上で、受精機能の維持・発揮を支えるエネルギーマネジメントの原理構築に貢献する。また GLUT1 以外のエネルギー基質輸送体の存在と機能的役割の解明が必要ではあるが、本研究で家禽精子の ATP 生産特性は哺乳類と部分的に異なることを見出した成果は、種特異的生殖戦略の成り立ちの理解、および人為的受精制御技術の発展に貢献するものとして、進化遺伝学および動物生産学的観点から意義は大きいと判断される。

令和 2 年 1 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。