

# マイクロミニピッグにおける生殖器の発達と特徴に関する組織学的研究

寒川 彰久

(静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター 〒439-0037 静岡県菊川市西方2780)

Kangawa, A. (2019): Histological development and features of the reproductive organs in microminipigs

All about SWINE 54, 15-19

## 1. はじめに

ブタは解剖学および生理学的にヒトと類似していることから、医学・薬学分野を始め、様々な研究分野において有用な実験動物として利用されています。また、倫理面からもイヌやサルの使用が難しくなっている中で、ブタは実験動物として不可欠な動物となっています。ブタの中でもミニブタは小型であるため、投与物質の量や飼育コストを減らせる、ハンドリングが容易である、長期試験が可能であるといった利点から、近年、医薬品開発において重要性が増しています。

## 2. マイクロミニピッグおよび本研究の目的

マイクロミニピッグ(写真1, 富士マイクラ株, 静岡)は6ヵ月齢時の平均体重が約10kgであり、一般的なミニブタの体重幅が15~25kg, 西洋種家畜ブタでは100~120kgであるのと比較して小型であるのが特徴です。マイクロミニピッグはより小型なミニブタである利点から、近年は再生医療分野での利用を始め、疾患モデルや感染実験モデルとしても有用性が示されてきています。このようにマイクロミニピッグは実験動物として

大きなポテンシャルを秘めていますが、基礎情報の集積については未だ十分とは言えません。特に医薬品開発においては、若齢個体と性成熟個体との間で薬物動態や薬効、毒性が異なってくるため、供試する動物の性成熟時期の把握が重要となります。また、他の器官や臓器とは異なり、雄の精巣や雌性生殖器では生理的に組織像の周期的変化が起こっているため、病理評価を行う際には種々の段階における正常組織像を理解しておくことが必須となります。そこで本研究では、組織学的手法を用いてマイクロミニピッグにおける生殖器の発達と特徴を明らかにすることにしました。



写真1 マイクロミニピッグ(雄, 5ヵ月齢)  
提供: 富士マイクラ株式会社

### 3. 雄性生殖器官の発達および精子形成のステージ分類と分化時間

#### (1) 雄性生殖器官の発達

0ヵ月齢から12ヵ月齢の雄のマイクロミニピッグ合計35頭を組織学的検査に供与し、精巣、精巣上体および副生殖腺である前立腺、精嚢腺、尿道球腺の構成細胞並びに組織構造の発達を評価しました。その結果、精細管を構成する精祖細胞、精母細胞、精子細胞の数の増加と副生殖腺の分泌像の完成より、雄のマイクロミニピッグの性成熟は4.5ヵ月齢であることが分かりました(図1)。また、一般的に精細管には健全な個体においても偶発的に観察される変化(自然発生変化)が出現しやすく、時には物質の投与等の外的要因による影響なのか否かを判断するのが難しいことがあります。今回、精細管の自然発生変化(図2-a, b)についても定量的検査を行いました。自然発生変化は全精細管断面のうちの1%程度とごく少数であることが確認されました。これは精巣病変を評価する上で非常に有利であると考えられます。

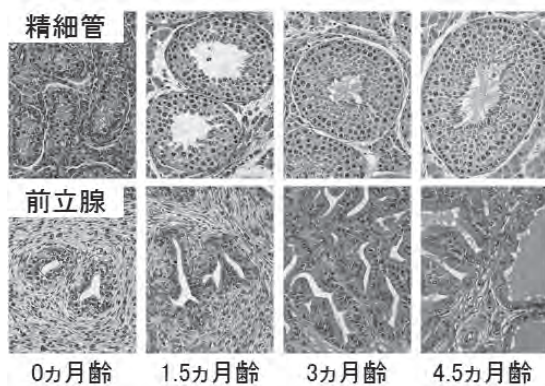


図1 マイクロミニピッグの雄性生殖器官の発達

#### (2) 精子形成のステージ分類と分化時間

6ヵ月齢から9ヵ月齢のマイクロミニピッグ11頭分の精巣を検索に供しました。精巣の断面には様々な見た目(組織像)の精細管が存在し、各断面が精子形成のある一時点を示しています。精細管の断面は、最も管腔側に配列する精子細胞の形態変化や精母細胞の減数分裂像の有無を基に複数の段階(ステージ)に分類されます。検索の結果、精子細胞の形態は先体や核、鞭毛の経時的变化から15過程(ステップ)に分類され(図3)、精細管断面は11ステージに分類されました(図4)。また、DNAの増幅を標識する物質(BrdU)を用いた検査により、精子形成サイクルの一周期(11ステージ)は約9.1日、精祖細胞から成熟精子までの分化時間は約40.9日であることが明らかとなりました。これら時間は家畜豚の報告例と概ね同様でした。精子形成に障害を引き起こす物質が投与ないし吸収された場合、精子形成のどのステージが障害されたのかを把握することが精細

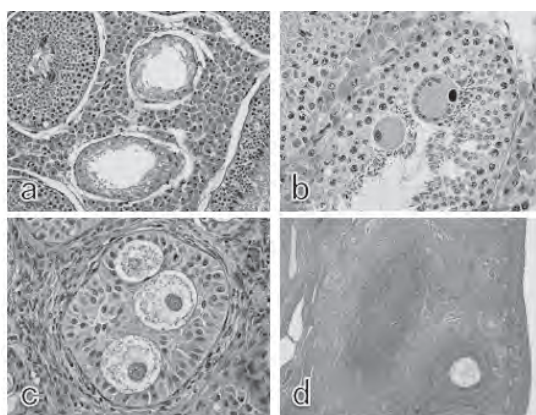


図2 マイクロミニピッグの生殖器官の自然発生変化

- (a) 精細管の萎縮/低形成 (b) 精細管内の多核巨細胞  
(c) 卵巣の多卵性卵胞 (d) 卵巣の褐色色素沈着

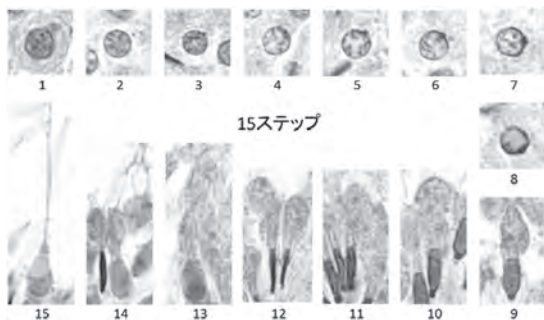


図3 マイクロミニピッグの精子細胞の形態変化

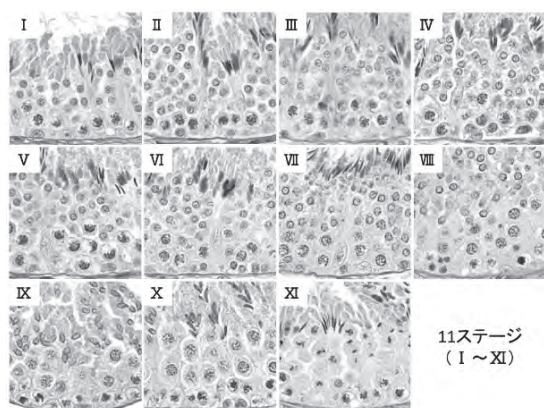


図4 マイクロミニピッグの精細管のステージ分類

胞に対する毒性やその機序の解明に不可欠となります。よって今回明らかとなった精子形成の特徴は、ある物質の精巣に対する影響を評価する上で重要な基礎情報になると考えています。

#### 4. 雌性生殖器の発達と発情周期に伴う変化

##### (1) 雌性生殖器の発達

0ヵ月齢から26ヵ月齢の雌のマイクロミニピッグ合計33頭について卵巣、卵管、子宮、子宮頸および膈を組織学的検査に供し、卵巣における卵胞、黄体および白体の有無や子宮における粘膜構造等の完成度を調査しました。結果、5ヵ月齢で

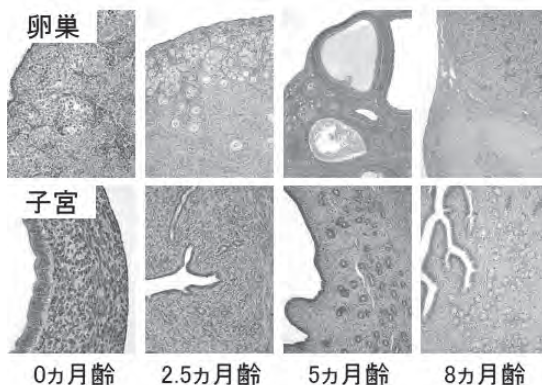


図5 マイクロミニピッグの雌性生殖器の発達

大型卵胞の発育が観察され始め、8ヵ月齢には黄体に加え白体が存在し、子宮粘膜では十分に発達した子宮腺が確認されました(図5)。卵巣における黄体と白体の存在は発情周期が回っている証拠となることから、雌のマイクロミニピッグは5ヵ月齢で春機発動を迎え、8ヵ月齢で性成熟に達することが分かりました。また、雌性生殖器における自然発生変化について調査したところ、何種類かの変化は観察されたものの(図2-c, d)、その程度や頻度はともに非常に軽微でした。このことから、雌性生殖器でみられる自然発生変化が病理評価に与える影響はほとんどないと考えられました。

##### (2) 発情周期に伴う変化

8ヵ月齢以降の個体12頭について、採材時期を許容開始日(2頭)、許容最終日の翌日(2頭)、許容最終日の3日後(3頭)、8~10日後(3頭)、17~18日後(2頭)に設定し、卵胞発育期、排卵期、黄体前期、黄体中期、黄体後期の5段階の組織像を調査しました。結果、卵巣における卵胞



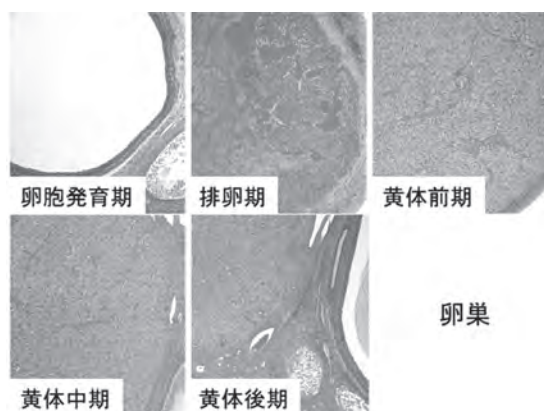


図6 マイクロミニピッグの発情周期に伴う卵巢の変化

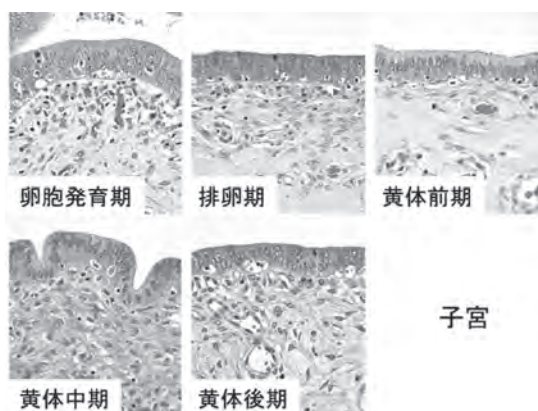


図7 マイクロミニピッグの発情周期に伴う子宮粘膜の変化

と黄体の有無や黄体細胞の形態変化に応じて、卵管、子宮、子宮頸および膣における粘膜上皮の組織像は同期的に変化していました(図6, 7)。今回確認された発情周期に伴う組織像の変化は、ミニブタや家畜ブタでの報告と一致していました。雌性生殖器の周期的な変化は性ホルモンのバランスによって調整されています。ある発情周期の一時点において、本来は同期的に変化するべき雌性生殖器に同期性の乱れが観察された場合には、外的あるいは内的要因による直接的影響ないし何らかのホルモン異常が疑われます。よって今回明らかとなった周期的に変化する雌性生殖器の正常像は、投与物質の影響を把握する際や繁殖障害の要因解明といった研究分野においても基礎情報として活用が期待されます。

## 5. まとめ

本研究によりマイクロミニピッグの雄の性成熟時期は4.5ヵ月齢、雌は8ヵ月齢と推察され、雌雄で性成熟時期に差異があることが明らかとなりました。よって性成熟個体を用いるのが望ましい

試験研究を実施する際には、マイクロミニピッグの雌雄による性成熟時期の違いを考慮すべきと考えられます。また、マイクロミニピッグの雄の精子形成や雌の発情周期に伴う組織像の変化は、ミニブタや家畜ブタでの過去の報告と類似していました。このことはマイクロミニピッグにおいてもブタという種の特異性が維持されていることを示していると考えられます。

ブタは家畜としての有用性のみでなく、実験動物としての認知も進んできています。今回得られた結果が今後の試験研究を実施する上での有用な基礎情報になり、しいては国内におけるブタを用いた医薬研究の発展の一助となれば幸いです。

## 参考文献

- ・ Bode, G., Clausing, P., Gervais, F., Loegsted, J., Luft, J., Nogues, V., and Sims, J. 2010. The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. *J Pharmacol Toxicol Methods* 62, 196-220.
- ・ Swindle, M. M., Makin, A., Herron, A. J., Clubb

- Jr, F. J., and Frazier, K. S. 2012. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet pathol* 49, 344-356.
- ・Kangawa, A., Otake, M., Enya, S., Yoshida, T., Kangawa, Y., and Shibata, M. 2016. Spermatogenesis in the microminipig. *Toxicol pathol* 44, 974-986.
- ・Kangawa, A., Otake, M., Enya, S., Yoshida, T., and Shibata, M. 2016. Histological development of male reproductive organs in microminipigs. *Toxicol pathol* 44, 1105-1122.
- ・Kangawa, A., Otake, M., Enya, S., Yoshida, T., and Shibata, M. 2017. Normal developmental and estrous cycle-dependent histological features of the female reproductive organs in microminipigs. *Toxicol pathol* 45, 551-573.