

学位論文題名

A mechanism of density-dependent population decline during winter in the grey red-backed vole *Myodes rufocanus*: Effects of low temperature, photoperiod and food on humoral immune function

(エゾヤチネズミにおける冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズム：
体液性免疫機能に対する低温、日長および餌の効果)

学位論文内容の要旨

野ネズミ類の個体数変動は、"Rodent cycle" と呼ばれ、多くの研究者を魅了してきた。日本では、エゾヤチネズミを中心に研究が進められ、様々な個体数変動パターンが密度依存的なプロセスによって生じることが明らかにされている。特にほとんどすべての個体群において、密度依存的な個体数減少が冬季に確認され、季節的な密度依存性要因の重要性が指摘されてきたが、冬季の生態に関する情報が十分でないことから、密度依存的な個体数減少のメカニズムはまだ解明されていない。冬季における野外調査の困難性を補ううえで、飼育環境下において、低温下でのエゾヤチネズミの生理機能を調べることは、冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズムを解明する糸口となると考えられる。そこで本研究では、生命の維持に重要な役割を果たす免疫機能に着目し、エゾヤチネズミについて以下の4項目に関して室内実験を行った。1) 最適な免疫応答をもたらす温度条件および免疫応答期間(第2章)、2) 免疫機能に対する低温ストレスの効果(第3章)、3) 低温下での免疫機能に対する日長の効果(第4章)、4) 低温および短日下での免疫機能に対する餌の効果(第5章)である。また、第6章では、冬季の密度依存的な減少メカニズムに関して議論した。

第2章では、最適な免疫応答をもたらす温度条件および免疫応答期間を検討した。免疫機能が温度や日長などの環境条件の影響を受けることは実験動物であるマウスなどを使った先行研究で明らかにされており、実験に関するプロトコールはマウスを基盤に確立されている。例えば、抗原暴露から第一次応答の抗体産生(IgM)のピークは、抗原暴露から4~6日目であることが知られている。しかし、抗体産生過程は動物種によって異なるとも考えられ、これまで用いられてきた実験プロトコールの有効性をエゾヤチネズミにおいて確認する必要がある。そこで、飼育室生まれの個体を用いて、17°C、20°C、23°Cおよび26°Cの温度条件で、体液性免疫応答を調べた。実験個体は、それぞれ、各々の温度下において、十分量の餌および水を与えられた。10日間飼育後、病原性のない抗原である羊赤血球を腹腔内投与し、投与6日後に抗体産生量を赤血球凝集反応法を用いて調べた。その結果、23°Cで飼育された個体の免疫反応が最も高く、代謝コストが最も低いことが示唆された。また、この最適温度下における抗体産生のピークについて、飼育室生まれ(抗原暴露後4日、6日、8日、10日)および野外捕獲(抗原暴露後6日、8日)の個体を用いて調べた。その結果、抗体産生は、抗原暴露後6

～8日目にピークを持つことが明らかとなった。従って、エゾヤチネズミにおいては、体液性免疫応答に対する最適温度は23℃前後であり、その最適温度条件下において、第一次応答の免疫能を測定するための最適期間は6～8日であると考えられ、エゾヤチネズミにおいて免疫応答に関する実験プロトコルを確立することができた。

第3章では、免疫機能に対する低温ストレスの効果を検討した。冬季における低温ストレスは代謝コストを増大させると考えられる。小型げっ歯類の多くは、低温下において、エネルギー摂取量を増大させ、体温調節および体状態の維持のために、代謝に多くのエネルギーを配分し、体温調節などにかかわる器官を肥大させることが知られている。また、マウスにおいて、低温ストレスによって免疫機能が低下すること、免疫機能と体温調節機能との間にトレードオフがあることが示唆されてきた。本実験において、飼育室生まれ及び野外捕獲のエゾヤチネズミを用いて、日長コントロール下(LD 12:12)での免疫機能に対する低温の効果を調べた。その結果、飼育室生まれ及び野外捕獲個体ともに、低温(5℃)に曝された個体は、室温(23℃)に保たれた個体よりも、餌摂取量が有意に増加し、内臓肥大がみられた。さらに、低温に曝された個体はより劣った免疫反応を示した。このことから、マウスと同様に、寒冷地域に生息するエゾヤチネズミにおいても、低温により代謝コストの増大および免疫機能の低下が生じ、体温調節機能と免疫機能との間にトレードオフが存在することが示唆された。従って、低温はエゾヤチネズミの生理機能に負の影響を与えるため、冬季の密度依存的な個体数減少を導く要因になりうることを示された。

第4章では、低温下での免疫機能に対する日長の効果を検討した。厳寒及び低資源である冬季を生き残るために、小型げっ歯類は生理機能などを適応させてきたと考えられる。その一つとして、短日条件により、免疫機能が高められることが知られている。本実験では、このような生理反応の存在をエゾヤチネズミにおいても確認した。第3章において低温下(5℃)で免疫機能が低下することが明らかにされてきたエゾヤチネズミにおいて、低温(5℃)日長コントロール下(LD 12:12)の個体と低温(5℃)短日下(LD 10:14)の個体の免疫応答の比較を行った。その結果、低温短日条件下の個体は、低温日長コントロール下の個体に比べて、免疫応答の値が有意に高く、室温(23℃)日長コントロール下の個体の免疫応答と同等の値を示した。

第5章では、低温および短日下での免疫機能に対する餌の効果を検証した。エゾヤチネズミを冬季の環境(短日低温下;LD 10:14,5℃)で、餌コントロール区、餌付加区、餌制限区の3グループに分け、実験を行った。餌コントロール区のエゾヤチネズミには、実験期間中、市販の固形資料および水を自由摂取させ、餌付加区では、実験開始日から抗原暴露までの10日間は、十分量の固形資料および水と3gのヒマワリの種を与え、抗原暴露後から6日間は、十分量の固形資料および水に加え、ヒマワリの種と燕麦をそれぞれ3gずつ与えた。また、餌制限区においては、実験開始から抗原暴露までの10日間は、十分量の固形資料および水を与え、抗原暴露後6日間、各々の個体が低温短日下で摂取する餌量の90%量の固形資料および十分量の水を与えた。その結果、餌制限区のエゾヤチネズミは、餌コントロール区および餌付加区のエゾヤチネズミに比べ有意に体重を減少させ、免疫反応に関しては餌付加区の個体に比べ有意に弱い免疫反応を示した。また、餌制限区のエゾヤチネズミの肝臓、腎臓および心臓は、餌コントロール区および餌付加区に比べ有意に肥大していた。これらの結果より、短日低温下における餌制約は、体温調節および体状態の維持に対して相対的に高いエネルギー配分を課し、免疫反応の低下をもたらすと考えられた。

第6章において本研究の結果を総括し、冬季環境下、すなわち、低温、短日、低資源下でのエゾヤチネズミの免疫機能に関して議論を行い、エゾヤチネズミにおける冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズムについて考察した。また、今後の研究課題についても述べた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齊 藤 隆
副 査 教 授 齋 藤 裕
副 査 教 授 秋 元 信 一
副 査 教 授 笹 賀 一 郎
副 査 教 授 佐 藤 冬 樹

学 位 論 文 題 名

A mechanism of density-dependent population decline during winter in the grey red-backed vole *Myodes rufocanus*: Effects of low temperature, photoperiod and food on humoral immune function

(エゾヤチネズミにおける冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズム：
体液性免疫機能に対する低温、日長および餌の効果)

本研究は91ページの英文論文で、引用文献104を含み、6章で構成されている。他に参考論文3編が添えられている。

我が国では、野ネズミ類の個体数変動の研究は、エゾヤチネズミを中心に進められ、様々な個体数変動パターンが密度依存的なプロセスによって生じることが明らかにされている。特に顕著な密度依存的個体数減少が冬季に確認され、冬季の生態の重要性が指摘されてきたが、野外調査の困難性から、冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズムはまだ解明されていない。野外調査を補ううえから、飼育環境下において、低温下での生理機能を調べることは、そのメカニズムを解明する糸口となると考えられる。そこで本研究では、生命の維持に重要な役割を果たす免疫機能に着目し、エゾヤチネズミを用いて次の4項目の実験を行った。1) 最適な免疫応答をもたらす温度条件および免疫応答期間(第2章)、2) 免疫機能に対する低温ストレスの効果(第3章)、3) 低温下での免疫機能に対する日長の効果(第4章)、4) 低温短日下での免疫機能に対する餌の効果(第5章)である。また、第6章では、冬季の密度依存的な減少メカニズムに関して議論した。

第2章では、実験動物のマウスなどで確立されてきた実験プロトコルの有効性をエゾヤチネズミにおいて確認するため、免疫応答に関する最適な温度条件および免疫応答期間を検討した。4つの温度条件(17°C, 20°C, 23°C, 26°C)で体液性免疫応答を比べた結果、23°Cで飼育された個体の免疫反応が最も高く、代謝コストが最も低かった。また、この最適温度下における抗体産生は、抗原暴露後6~8日目にピークを持つことが明らかとなった。従って、エゾヤチネズミにおいては、体液性免疫応

答に対する最適温度は23℃前後であり、免疫応答能を測定するための最適期間は6～8日であると考えられ、エゾヤチネズミにおいて免疫応答に関する実験プロトコルを確立することができた。

第3章では、免疫機能に対する低温ストレスの効果を検討した。小型げっ歯類の多くは、低温下においてエネルギー摂取量を増大させ、体温維持などに多くのエネルギーを配分し、体温調節などにかかわる器官を肥大させることが知られている。本実験において、エゾヤチネズミを用いて、標準日長下(12L:12D)での免疫機能に対する低温の効果を調べた結果、低温(5℃)に曝された個体は、室温(23℃)に保たれた個体よりも、餌摂取量が有意に増加し、内蔵肥大がみられた。さらに、低温に曝された個体はより劣った免疫反応を示した。このことから、低温により体温維持コストの増大および免疫機能の低下が生じ、体温調節機能と免疫機能との間にトレードオフが存在することが示唆された。従って、低温はエゾヤチネズミの生理機能に負の影響を与えるため、冬季の個体数減少を導く要因になりうることが示された。

第4章では、低温下での免疫機能に対する日長の効果を検討した。小型げっ歯類では、厳寒及び低資源である冬季を生き抜くために、短日条件で免疫機能が高められることが知られている。本実験では、エゾヤチネズミにおいて、低温(5℃)標準日長下(12L:12D)の個体と低温(5℃)短日下(10L:14D)の個体の免疫応答を比較した。その結果、低温短日条件下の個体は、低温標準日長下の個体に比べて、免疫応答の値が有意に高く、室温標準日長下の個体の免疫応答と同等の値を示すことが明らかになった。

第5章では、低温短日下での免疫機能に対する餌の効果を検証した。エゾヤチネズミを冬季の環境(短日低温下;10L:14D, 5℃)で、対照区、餌付加区、餌制限区の3グループに分け、実験を行った。その結果、餌制限区のエゾヤチネズミは、対照区および餌付加区の個体に比べ有意に体重を減少させ、餌付加区の個体に比して有意に弱い免疫反応を示した。また、餌制限区のエゾヤチネズミの肝臓、腎臓および心臓は、対照区および餌付加区に比べ有意に肥大していた。これらの結果より、低温短日下における餌制約は、体温調節および体状態の維持に対して相対的に高いエネルギーを配分し、免疫反応の低下をもたらすものと考えられた。

第6章において本研究の結果を総括し、冬季環境下(低温、短日、低資源)でのエゾヤチネズミの免疫機能に関して議論を行い、エゾヤチネズミにおける冬季の密度依存的な個体数減少のメカニズムについて考察した。

以上のように本研究は、野ネズミ類の冬季の密度依存的な個体数減少機構に関して新たな知見を提供し、個体数変動の解明に貢献した。得られた成果は学術的に貴重なものであり、野生動物管理のための資料としても高く評価される。よって審査員一同は、楠本華織が博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。