

Title	レクチンを用いたマウス精巢における精細胞と体細胞の分離
Author(s)	前川, 眞見子
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34671">https://hdl.handle.net/11094/34671</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	まえ 前	かわ 川	ま 真	み 見	こ 子
学位の種類	医	学	博	士	
学位記番号	第	6826	号		
学位授与の日付	昭和60年3月25日				
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当				
学位論文題目	レクチンを用いたマウス精巣における精細胞と体細胞の分離				
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三				
	(副査) 教授 松本 圭史 教授 北村 幸彦				

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

精巣は、2つの全く異ったタイプの細胞、精細胞と体細胞とから成り立つ。精細胞は減数分裂をへて最終的には精子となる細胞で、精原細胞、第一次・第二次精母細胞、精子細胞に分けられる。体細胞には、精細胞とともに精上皮を構成する Sertoli 細胞や、精細管壁を構成する peritubular myoid 細胞、間質に存在しアンドロゲンを分泌する Leydig 細胞などがある。このような複雑な系において、精細胞そのものの特性を生化学的に研究するためには精細胞のみを純粋に分離することが必要となる。従来の方法には細胞の大きさや密度の差による分離法があるが、それらの分離の精度は必ずしも十分とは言えない。

そこで本研究では、マウスを用いて、精細胞と体細胞との細胞表面膜の特異的な差を認識するレクチンを利用し、簡便でかつ効率のよい精細胞の分離法の確立を目的とした。

#### (方法ならびに成績)

まず、精細胞を識別するため精細胞特異的抗血清を作製した。成体マウスから調製した精細胞を主とする細胞画分を抗原とし、ウサギに免疫した。採血後マウスで *in vivo* 吸収を行い、このマウス血清を精細胞特異的抗血清として用いた。この抗血清の特異性は組織切片および細胞培養系を用いて酵素抗体法により確認した。

今回用いたレクチンは peanut agglutinin (PNA) で、細胞表面膜の糖タンパクのうち、末端ガラクトース残基をもつもの (PNA レセプター) を特異的に認識する。この PNA レセプターが精細胞に存在し、体細胞には存在しないことを蛍光染色により確めた。この蛍光は PNA に対し結合阻止の働きをもつガラクトースにより阻害され、その特異性が確認された。

次に、この精細胞に特異的な PNA レセプターを使って精細胞の分離を試みた。生後30日のマウス精巣からの遊離細胞を、PNA レセプターをもつウサギ赤血球の存在下で、PNA と反応させた。PNA レセプター陽性(PNA<sup>+</sup>)細胞は、赤血球とのPNAを介した混合凝集によって高比重の凝集塊となり、レセプター陰性(PNA<sup>-</sup>)細胞から分離された。このPNA<sup>+</sup>細胞をガラクトースと反応させ赤血球を取り除いた。こうして得られたPNA<sup>+</sup>細胞が精細胞であることを確認するため二重染色法を施した。精細胞を酵素抗体法により、またLeydig細胞を3 $\beta$ -hydroxy-steroid dehydrogenase 活性を利用して酵素化学的に染色し、以下の結果を得た：精細胞99.5 $\pm$ 0.1%、Leydig細胞0.3 $\pm$ 0.1%、その他の体細胞0.2 $\pm$ 0.0%。

このように精細胞のみを高純度を集めることが可能になったため、精細胞における plasminogen activator (PA) 産生能を調べた。その結果、PAはこれまで精巣においてはSertoli細胞のみが産生するとされていたが、精細胞でも産生され、Sertoli細胞とはinducerに対する反応性が異なることがわかった。

(総括)

マウス精巣の体細胞にはPNAレセプターが存在せず、PNA<sup>+</sup>細胞はすべて精細胞特異的抗血清と反応することが示された。この事実に基づき、PNAを用いた分離法を確立し、ほとんどすべての体細胞を除いた高度に純粋な精細胞集団を得ることが可能となった。これは、とくに体細胞のcontaminationが問題となる系において、精細胞そのもののいろいろな活用を調べる上で非常に有力な手段となりうる。実際に、この分離法を用いて、Sertoli細胞のみならず、精細胞にもPA産生能があることが示された。

### 論文の審査結果の要旨

本研究では、マウス精巣において植物凝集素の一つであるPNAのレセプターが精細胞に存在し、体細胞には存在しないことを明らかにした。また、この知見に基づき、PNAを用いてこれら2つの細胞集団の分離に成功した。その結果、ほとんどすべて精細胞からなる細胞集団を容易に得ることが可能となった。さらに、この技術を用いると精巣機能の理解に役立つことが可能で発展性にも富んでいる。したがって本論文は学位論文として価値あるものと認める。