



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | マウス精巣上皮細胞のアンドロゲン反応性の多様性  |
| Author(s)    | 山根, 哲実   |
| Citation     | 大阪大学, 1986, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/34979">https://hdl.handle.net/11094/34979</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|         |                         |      |   |    |    |
|---------|-------------------------|------|---|----|----|
| 氏名・(本籍) | 山                       | 根    | 哲 | み  | 実  |
| 学位の種類   | 医                       | 学    | 博 | 士  |    |
| 学位記番号   | 第                       | 7118 |   | 号  |    |
| 学位授与の日付 | 昭和                      | 61   | 年 | 2  | 月  |
| 学位授与の要件 | 27                      | 日    |   |    |    |
| 学位論文題目  | マウス精囊上皮細胞のアンドロゲン反応性の多様性 |      |   |    |    |
| 論文審査委員  | (主査)                    | 教    | 授 | 松本 | 圭史 |
|         | (副査)                    | 教    | 授 | 宮井 | 潔  |
|         |                         | 教    | 授 | 北村 | 幸彦 |

## 論文内容の要旨

## (目的)

性ホルモンは依存性組織に働いて標的細胞の増殖と分化を誘導する。従来性ホルモンによる標的細胞の動態に関する研究は、ラジオオートグラフなどの組織学的方法があるいは、DNA量、蛋白量を測定するといった生化学的方法のどちらかのみを用いて行なわれてきており、両者を総合して依存性組織における性ホルモン作用の全体を理解する試みはあまりなされていない。私は(<sup>125</sup>I) iododeoxyuridine((<sup>125</sup>I) IdUrd)のDNAへの取込み量の測定と、組織学的方法を併用し、対象をマウス精囊上皮にしほって、性ホルモン作用時における、標的細胞の動態の解析を試みた。本研究の結果、精囊上皮細胞が従来考えられていたよりも、はるかに低量の男性ホルモンにより増殖すること、しかしこのような低濃度の男性ホルモンにより増殖した細胞では分化がおこらず、増殖後速やかに死滅し排除されてしまうことが明らかになった。

## (方法)

マウスは(WBxC 57 BL/6) F<sub>1</sub>の雄を用い、2—3ヶ月齢で去勢して、去勢後1ヶ月より実験に使用した。男性ホルモンとしてはテストステロンプロピオネート(TP)を使い、0.05 mlのステロイド注射用液に懸濁して皮下注射した。DNA量はBurton法により、蛋白量はLowry法により測定した。

(<sup>125</sup>I) IdUrdの取込み量の測定は、まずマウスにfluorodeoxyuridine (FdUrd)を注射して内因性のthymidine合成を抑制し、1時間後に(<sup>125</sup>I) IdUrdを注射した。(<sup>125</sup>I) IdUrd注射後にマウスを殺して精囊を摘出した。緩衝ホルマリンで3日間洗い、DNAに取込まれなかった(<sup>125</sup>I) IdUrdを除いた後におののおのの精囊のradioactivityをautowell  $\gamma$ -counterで測定した。取込み量は測定した全精囊に

とりこまれたradioactivityを注射全量のradioactivityで割って%で表示した。

mitotic indexを求めるために、マウスにコルヒチンを注射して2時間後に殺した。精嚢の組織標本を作り、顕微鏡下で1000個の上皮細胞中の分裂細胞の数を求めて%で示した。labeling indexを求めるために、マウスFdUrdを注射し、その1時間後に [<sup>3</sup>H] thymidine ([<sup>3</sup>H]Tdr) を注射した。 [<sup>3</sup>H]Tdr注射3時間後にマウスを殺して精嚢を摘出し、通常の方法により精嚢のオートラジオグラフを作製した。1000個の上皮細胞を数え、その核の上に5個以上のgrainを有する細胞 (labeled cell) の数を求めて%で示した。

生理的条件下で死滅しつつある細胞は核が濃縮し、細胞質がエオジン好性となりapoptosisと呼ばれる像を示す。そこで1000個の上皮細胞中のapoptosisを示す細胞を数えて%表示しapoptotic indexとした。

#### (成績と考按)

種々の量のTPを連日投与し、増殖の完了したTP投与10日目に精嚢重量、蛋白量、及びDNA量を、最大増殖率を示すTP投与3日目に [<sup>125</sup>I] IdUrdの取込み量をそれぞれ測定し、おののの測定量に有意の増加をひきおこすのに必要なTPの最低投与量を決定した。精嚢重量、蛋白量及びDNA量に有意の増加をひきおこすためには0.4 μg/g BWのTPが必要であった。一方 [<sup>125</sup>I] IdUrdの取込み量に有意の増加をひきおこすためには0.04 μg/g BWのTPで十分であった。測定量に有意の増加をひきおこすのに必要なTPの最低投与量の違いの原因として、低濃度 (0.04 μg/g BW) のTP投与の際に認められる [<sup>125</sup>I] IdUrdの取込みは細胞分裂にともなうDNA合成をみているのではなくDNAの修復にともなうDNA合成を検出している可能性が考えられた。そこで実際に低濃度のTP投与に際して細胞が分裂しているかどうかをmitotic indexとlabeling indexを求ることによってしらべた。低濃度 (0.04 μg/g BW) のTP投与でもmitotic indexとlabeling indexはステロイド注射用液のみを注射した群と比べて有意に増加し細胞が分裂していることが分かった。それでは細胞が分裂しているにもかかわらずDNA量に有意の増加がみられないのはなぜであろうか。低濃度のTP投与では細胞が分裂するが、分裂してきた娘細胞が死滅するためDNA量は増加しない可能性が考えられた。そこでTP投与3日目に [<sup>125</sup>I] IdUrdを注射して、その時DNA合成を行なっている細胞に取込ませてラベルし、精嚢のradioactivityの推移をみると、ラベルされた細胞のその後の動態をしらべた。高濃度 (4.0 μg/g BW) のTP投与では、TP投与を続けるかぎり精嚢のradioactivityが維持されたが、低濃度 (0.2 μg/g BW) のTP投与では、TP投与を続けても、radioactivityが減少したので、低濃度のTP投与では分裂して [<sup>125</sup>I] IdUrdを取込んだ細胞がTP投与を持続しても、死滅することが示唆された。更に組織学的にも低濃度のTP投与では細胞の死滅が検証されるかどうかをしらべるために、apoptotic indexを求めた。高濃度の (4.0 μg/g BW) のTP投与ではapoptosisを認めなかったが、低濃度 (0.2 μg/g BW) のTP投与ではapoptosisを認め細胞が死滅することが確認された。

#### (総括)

- 1) 去勢雄マウスの精嚢上皮細胞を標的として男性ホルモンによる細胞の動態をしらべた。
- 2) 高濃度の男性ホルモンは精嚢上皮の分裂と分化をもたらし、分化した細胞は安定して存続する。

一方、低濃度の男性ホルモン投与は細胞分裂を誘導するだけで、分裂した細胞を分化させず、不安定な状態の細胞は死滅する。従って、高濃度の男性ホルモンにより精嚢上皮の細胞数は増加するが、低濃度の男性ホルモン投与は細胞数の増加をおこさない。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は [ $^{125}\text{I}$ ] イオドデオキシリジンの全精嚢への取り込み量の測定と、組織学的方法を併用し、対象をマウス精嚢上皮にしほって、性ホルモン作用時における、標的細胞の動態の解析を試みたものである。その結果、精嚢上皮が従来考えられていたよりも、はるかに低量の男性ホルモンにより増殖すること、しかしこのような低濃度の男性ホルモンにより増殖した細胞では分化がおこらず、増殖後速やかに死滅することが明らかになった。学位論文として価値あるものと考える。