



Title	ヒト精巣Leydig細胞内のアンドロジエンレセプターに関する生化学的、分子生物学的および免疫組織化学的検討
Author(s)	高, 栄哲
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37755">https://hdl.handle.net/11094/37755</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=" <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</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	こう 高	えい 栄	てつ 哲
博士の専攻分野の名称	博	士	(医 学)
学位記番号	第	9876	号
学位授与年月日	平成3年8月8日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文名	ヒト精巣Leydig細胞内のアンドロジエンレセプターに関する生化学的、分子生物学的および免疫組織化学的検討		
論文審査委員	(主査) 教授 園田 孝夫	(副査) 教授 谷澤 修	教授 松本 圭史

### 論文内容の要旨

#### [目的]

精巣Leydig細胞におけるアンドロジエン生成は間脳一下垂体一性腺軸により制御されている。ラットや他の実験動物ではLeydig細胞自身にアンドロジエンレセプター(AR)が存在していることはすでに報告されているが、ヒト精巣Leydig細胞については定説がない。本論文は生化学的、分子生物学的および免疫組織化学的手法を用いてヒトLeydig細胞におけるARの存在性について検討した。

#### [方法]

前立腺癌患者の去勢術にて得た精巣をコラゲナーゼにて粗(crude) Leydig細胞に分離し、さらに Percoll gradient 法により精製した。これを Leydig 細胞に特異的に存在している  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 活性をもつことを示した後、purified Leydig 細胞として以下の実験に用いた。

- 1) 前立腺、全精巣および purified Leydig 細胞から、核成分を含む total cell extract を得て、標識 R1881 ( $^3\text{H}$ -methyltrienolone) を用いて DCC (dextran coated charcoal) 法にて AR binding assay を施行し、Scatchard curve にて  $K_d$  および  $B_{max}$  を求めた。
- 2) 全精巣および purified Leydig 細胞を用いて Western プロットを行った。一次抗体として抗ヒト AR (hAR) モノクローナル抗体を用いて ABC 法にて染色した。
- 3) hAR cDNA プローブを用いて Northern プロットを行い、前立腺、全精巣、purified Leydig 細胞および膀胱の hAR mRNA の存在を検討した。
- 4) ヒト精巣組織の凍結連続切片を抗 hAR モノクローナル抗体を用いて、ABC 法にて免疫組織化学的

染色を行った。

#### [成 績]

- 1) purified Leydig 細胞の AR は  $K_d = 1.11 \text{ nM}$  と高親和性を認め、 $B_{max} = 9.6 \text{ fmol / mg prot.}$  であった。また、 $K_d$  は 3 者間で有意差（t 検定）を認めなかつたが、 $B_{max}$  については前立腺、全精巣、purified Leydig 細胞の順に有意に ( $p < 0.01$ ) 高かつた。
- 2) 抗 hAR 抗体に特異的に結合する抗原関連蛋白質は 97 kDa および 80 kDa と考えられ、全精巣および purified Leydig 細胞でこの特異バンドを認め、一次抗体を省いた系では現れなかつた。
- 3) 前立腺、全精巣および purified Leydig 細胞に 9.5 kb 付近に hAR mRNA と考えられるバンドを認め、negative control である膀胱には認めなかつた。
- 4) Leydig 細胞の核に陽性所見を得た。なお、negative control として一次抗体の代わりに PBS および normal rat IgG を用いた系では陽性所見は得られなかつた。

#### [総 括]

ヒト purified Leydig 細胞を分離し、その生物活性が intact であることを示した後、

- 1) AR binding assay にて高親和性 AR の存在を認めた。
- 2) Western ブロットにて AR 特異蛋白質を認めた。
- 3) Northern ブロットにて AR mRNA を認めた。
- 4) 免疫組織化学的方法にて Leydig 細胞の核に存在する AR を認めた。

以上の結果よりヒト Leydig 細胞に AR の存在が明らかとなつた。

ヒト Leydig 細胞における AR 存在の意義については今後の研究を待たねばならないが、アンドロジエンは spermatogenesis にとって必須であり、アンドロジエン産生細胞自身にそれ自身のレセプターが存在している事実は、限局した精巣内ホルモン環境の維持（たとえば、実験動物で証明されている精巣内 ultrashort loop negative feedback などの存在）などに重要な役割を演じている可能性を示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

Percoll gradient 法で分離、純化したヒト精巣 Leydig 細胞を用いてアンドロジエンレセプター (AR) binding assay 法により、高親和性 AR の存在を証明し、Western ブロット法により 97 KDa, 80 KDa の AR 特異的蛋白の存在を証明した。また、Northern ブロット法により AR mRNA の存在を証明した。さらに免疫組織化学的方法を用いて、ヒト精巣 Leydig 細胞の核に AR が存在することを証明した。

以上の結果は、アンドロジエン産生細胞自身にアンドロジエンレセプターが存在していることを示

し、いわゆる、autocrine と呼ばれる精巣内での限局したホルモン環境の存在を明かにしたもので学位論文に値する。