



Title	ヒト精巣におけるレニンの存在に関する検討
Author(s)	近藤, 宣幸
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38632
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	近藤宣幸
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第10996号
学位授与年月日	平成5年12月15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	ヒト精巣におけるレニンの存在に関する検討
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 北村 幸彦 教授 萩原 俊男

論文内容の要旨

(目的)

最近、種々の動物やヒトにおいて腎傍糸球体で合成されるレニンを中心とする従来のレニン-アンギオテンシン系(RA系)以外に、種々の組織中にもRA系の存在することが明らかになってきた。すなわち下垂体、頸下腺、副腎、子宮、精巣などに、主として免疫組織化学的手法を用いて、レニンを中心に局在が報告されている。精巣内レニンに関しては、ラット等でLeydig細胞内への局在がほぼ確認されているが、それが局所の細胞で実際に合成されていることの証明にはレニンmRNAの合成を確認する必要がある。そこでヒトにおいても精巣内(特にLeydig細胞内)でレニンが合成されていることを証明するために、in vivo, in vitro両面から検討した。

(方法)

1. 臨床的検討：不妊を主訴とする左精索静脈瘤症例のうち、心循環、内分泌系に異常のない35例を対象とし、内精静脈高位結紮術々前にhCGを負荷した投与群19例と非投与群16例に分け、術中の内精静脈精巣側血中レニン活性(PRA)とテストステロン(T)を測定して比較検討した。
2. 組織培養液中レニン活性の測定：正常精巣およびLeydig細胞腫組織を、hCGを一定濃度加えた培養液にて、CO₂インキュベーターで24時間培養後、培養液中のレニン活性を測定した。
3. RT-PCRによる精巣内レニンmRNAの存在の証明：生検時などに得た成人精巣組織をホモゲナイズ後、Cathehaの方法に準じ、TotalRNAを抽出し、Oligo d(T)₁₆をprimerとする逆転写酵素反応を行なった。次に反応液を被検DNAとし、ヒトレニンのexon 8内にセンス primerを、exon 10内にアンチセンス primerを設定してPCRを行ない、反応液をアガロース電気泳動して得られた300bpのバンドよりDNAを回収し、これをPUC19に組み込み、E-coliに感染させて増幅し、Sanger法にて塩基配列を決定した。
4. In situ hybridization (ISH)による精巣内レニンmRNA存在の証明：ヒト腎および精巣組織を摘出直後に4%paraformaldehydeで浸染固定し、さらに凍結後、10μm切片とした。プローブとしてヒトレニンcDNAをBluescript IIに組み込み、³⁵Sでラベルし、RNA polymeraseで転写させて得たアンチセンスcRNAを用い、コ

ントロールとしてセンス cRNA を用いた。切片とプローブを50°C, 120分 prehybridize し, 50°C, overnight で hybridize した後, autoradiography を行なった。

(結 果)

臨床的検討では、内精静脈血中 PRA は、投与群が非投与群より有意に高値を示した。培養液中レニン活性は、正常精巣では検出感度以下であったものが、hCG100IU/ml 添加にて0.7ng/ml/h と検出可能になった。Leydig 細胞腫では、hCG に dose-dependent な上昇を示した。RT-PCR にて得た300bp の DNA 塩基配列は、ヒトレニン cDNA の901TCT～から1200～ATT と同一であった。ISH では、腎と同様に精巣においても強いシグナルを認め、間質組織への局在が示唆された。コントロールではシグナルを認めなかった。

(総 括)

精巣内レニンは、ラットやヒトにて免疫組織化学的手法で、その Leydig 細胞への局在が報告されていたが、局所での合成を証明するために、今回、精巣内レニン mRNA の存在証明を試み、RT-PCR 法により確認した。局在に関して ISH を試みたが、散在するシグナルは均一ではなく、Leydig 細胞を含む間質組織への局在が示唆された。

論文審査の結果の要旨

最近注目されている腎外レニン-アンギオテンシン系 (RA 系) が、精巣内でも実験動物やヒトにおいて主として免疫組織化学的に証明されている。今回ヒト精巣でのレニンの生合成を証明するために、in vivo, in vitro 両面より検討した。まず臨床症例において内精静脈血中 PRA の hCG 投与後の反応を調べたところ、投与群において非投与群に比し、有意の上昇を認めた。次に正常ヒト精巣および Leydig 細胞腫の組織培養上清中のレニン活性を測定し、特に後者で hCG-dependent なレニン活性の上昇を確認した。次に精巣内レニン mRNA の発現を証明するために、exon 8 および exon 10 内にデザインした合成プライマーを用いた RT-PCR を行ない、得られた300bp の DNA 塩基配列が、ヒトレニン cDNA の901TCT～から1200～ATT と同一であることを確認した。レニンの精巣内局在を調べることを目的としてヒトレニン cRNA をプローブとした in situ hybridization を行ない、精巣内に不均一に存在する陽性シグナルを確認した。

以上のようにヒト精巣における hCG に依存したレニンの生合成を直接的に証明したことは、今後精巣内 RA 系の存在意義の解明にもつながるものとして学位論文に値する。