The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Biologically active kit ligand growth factor is produced by mouse Sertoli cells and is defective in SId mutant mice
Author(s)	田島, 陽一
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38902
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

【39】

氏　　名	田島陽一（たじまよういち）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　11277　号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	**Biologically active kit ligand growth factor is produced by mouse Sertoli cells and is defective in SI^d mutant mice** **（精巣における c-kit 分子のリガンド産生細胞について）**
論文審査委員	（主査） 教　授　西宗　義武 （副査） 教　授　北村　幸彦　　教　授　奥山　明彦

論文内容の要旨

【目的】

マウスの生殖細胞,Mast 細胞，赤血球，色素細胞が増殖・分化するためには，これらの細胞自身あるいは前駆細胞が正常の W 遺伝子を発現していることと，これらの細胞の増殖・分化を支持する微小環境が正常の *SI* 遺伝子を発現していることが必要であると考えられている。W 遺伝子産物はレセプター型チロシンキナーゼの一つである c-kit を，また，*SI* 遺伝子はそのリガンドの *SI* 因子（kit－ligand）をコードしていることが報告された。c-kit 受容体とそのリガンドである *SI* 因子はこの複雑な精子形成過程，特に初期の分化段階の情報伝達系に関与する分子として注目されている。精巣における c-kit 受容体の発現は，精原細胞と Leydig 細胞に認められるが，精細胞分化過程に，このレセプター・リガンド相互作用がどのように働いているかを明らかにするために，これらの遺伝子の突然変異マウスを用いて Sertoli 細胞におけるこのリガンドの産生について調べた。

【方法ならびに成績】

精巣の支持細胞を培養し，Mast 細胞の c-kit 受容体依存増殖を指標として *SI* 因子の産生を追求した。Mast 細胞は，WB B6F1＋／＋，W／W^v マウスから得た骨髄細胞を PWM-SCM10%含有 α-MEM で 4 週間培養することにより得た。共生培養に使用した初代培養 Sertoli 細胞は生後18日の C57BL／6＋／＋,W^v／W^v,SI^d／SI^d マウスの精巣をコラーゲナーゼおよびヒアルロニダーゼで処理して得た。*SI* 因子の活性は c-kit 分子依存性 Mast 細胞増殖を指標にし，Mast 細胞の増殖は，共生培養48時間後の S 期 Mast 細胞の割合から判定した。

1）野生型（＋／＋）マウス由来の Mast 細胞を野生型 Sertoli 細胞と共生培養したところ，増殖し，2 週間以上維持された。

2）c-kit 受容体に異常を持つW／W^v マウス由来の Mast 細胞は同じ条件下で増殖できず，又維持もされなかった。これは，この Mast 細胞増殖系が c-kit 分子依存性であることを示している。

3）一方，生殖細胞を欠損しているW^v／W^v および SI^d／SI^d マウス由来の Sertoli 細胞と共生培養したところ，W^v／W^v マウス由来の Sertoli 細胞上では分裂，増殖するのに対し，SI^d／SI^d マウス由来の Sertoli 細胞上では増殖できず，又維持されなかった。

4）Sertoli 細胞は，膜結合型あるいは分泌型のどちらのタイプの *SI* 因子を産生しているのかを調べるために Mast 細胞との直接の接触を妨げる bicamera chamber を用い調べたところ，Mast 細胞増殖刺激には，両者の接触が必要

である事が分かった。

【総括】

これらの結果は＋／＋,W^v／W^v由来のSertoli細胞は生理活性を持つの膜結合型*SI*因子を産生しており，SI^d／SI^d Sertoli細胞はそれを産生していない事を示している。さらにc-kit受容体を発現している精原細胞の増殖・分化にはセルトリ細胞から供給される膜結合型の*SI*因子が必要であると考えられる。また，SI^d／SI^dマウス精巣で精細胞が増殖・分化しないのは，この膜結合型の*SI*因子が供給されないためと考えられる。

論文審査の結果の要旨

精子形成が阻害されるマウスの突然変異にSteel（*SI*）とdominant white spottig（W）がある。この2つの突然変異は表現型が基本的に同じで，精子形成のみならず血液細胞，色素細胞の分化，増殖能も低下する。W遺伝子は細胞膜表面のチロシンキナーゼ型レセプターのc-kitをコードしており，細胞外からの増殖，分化シグナルを細胞内部に伝達する機能を持つ。他方，*SI*遺伝子はc-kitのリガンドである*SI*因子をコードしていることが明らかとなった。精巣では，c-kitは精原細胞と間質組織のLeydig細胞に発現しているが，*SI*因子についての知見がほとんど得られていない。

本研究は，精細胞分化過程におけるこのc-kitレセプター・リガンド相互作用の役割を解明する一環として，構造的にも機能的にも精細胞と密接に関わっているSertoli細胞の*SI*因子産生能を検討した。*SI*因子の産生は生物学的活性で示すことが最善である事から，c-kitを発現し*SI*因子による増殖刺激を受けるMast細胞をindicator cellに用いた。その結果，＋／＋,W^v／W^vマウス由来のSertoli細胞は活性型の*SI*因子を産生しており，SI^d／SI^d由来のSertoli細胞は産生していないことを確認した。また，Mast細胞との直接の接触を妨げるbicameral culture chamberを用いて調べたところ，Sertoli細胞は膜結合型の*SI*因子を産生していることが明かとなった。

以上の知見はc-kitレセプターを発現している精原細胞の増殖・分化にセルトリ細胞から供給される膜結合型の*SI*因子が重要な役割を担っていることを示唆し，精子形成の研究に大きく寄与するものである。よって本研究は学位に値するものと考える。