

Title	A Novel Stage-Specific Differentiation Antigen Is Expressed on Mouse Testicular Germ Cells during Early Meiotic Prophase
Author(s)	小清水, 右一
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38919
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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 し みず う いち 小 清 水 右 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 7 6 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	A Novel Stage-Specific Differentiation Antigen Is Expressed on Mouse Testicular Germ Cells during Early Meiotic Prophase (マウス精巣の減数分裂初期細胞に特異的に発現する抗原分子の解析)
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】

精子形成 (spermatogenesis) は幹細胞である精原細胞の増殖・分化から始まり、減数分裂を経て最終的に精子を産生する一連の分化過程である。この様な著しい形態的な変化のみならず、精子形成の各分化段階において様々な分子の産生が行われていることはよく知られており、特に細胞膜構成成分については今まで数多くの報告がなされている。そしてこれらの分子が精子形成過程の成立・維持に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その大部分は精子形成後期の精細胞にのみ発現しており、分化初期段階の制御機構についてはほとんど知られていない。そこで初期の精細胞のみに特異的に発現する細胞膜上の分子をモノクローナル抗体を用いて同定し、その生化学的特性および機能について解析を行った。

【方法】 モノクローナル抗体 (mAb) の作成

未分化な精原細胞を含む出生直後のマウス精巣より回収した細胞を抗原として雌ラットに脾内免疫を 2 回行った後、常法に基いてハイブリドーマを作成した。精巣の凍結切片を用いた間接蛍光抗体法によりスクリーニングを行った。

免疫組織染色 プアン固定を施した精巣およびその他の組織のパラフィン切片を作成し、mAb を反応させた後、通常の ABC 法により抗原分子の検出を行った。

抗原分子の解析 常法に基いて免疫沈降、SDS-PAGE、酵素抗体法による Western-blotting を行い抗原分子の生化学的特性を調べた。さらにレクチンに対する結合性および糖鎖分解酵素の影響を検討した。

抗体投与実験 精製した mAb を生後 12 日齢のマウスの腹腔内に投与した 3 日後に精巣を回収し、その影響を組織学的に検討した。さらに精細胞-Sertoli 細胞の共生培養系に mAb を添加し、精細胞の接着能を検討した。

【成績】

1. 初期の精細胞を認識する 2 種の mAb (CA12, BC7) が得られた。免疫組織染色の結果、きわめて限定された分化段階の精母細胞、すなわち減数分裂初期の zygotene および early pachytene 期にのみ反応が認められた。一方、より分化した精母細胞や精子細胞、また肝臓や腎臓、脳など他の組織において抗原分子は検出されなかった。

2. CA12 および BC7 は分子量 95K の共通のたんぱく分子を認識することを明らかにした。この抗原分子 (TDA95) は免疫組織染色の結果と同様に、精巣および減数分裂初期の精母細胞に特異的であった。

3. TDA95 は細胞膜表面に存在するシアン酸を含む糖たんぱく分子であることが確認できた。

4. BC7を若齢マウスに投与したところ、精細管内にSertoli細胞から遊離した精細胞が多く見られ、精子形成に顕著な障害が認められた。またBC7, CA12は共生培養系において精細胞のSertoli細胞への接着に阻害効果を示した。

【総括】

マウスの精細胞を認識するモノクローナル抗体を作成し、膜表面に局在する糖たんぱく分子（TDA95）を同定した。この分子は減数分裂初期の精母細胞に一過的に存在し、その後速やかに消失する分化特異抗原であり、すでに報告されている他の抗原分子の発現様式と明らかに異なっている。さらにこの分子が精細胞のSertoli細胞への接着に関与していることを示した。

以上の結果よりTDA95は精細胞-Sertoli細胞間相互作用に関与し、精子形成の初期の分化段階を制御する重要な因子であることが推測される。

論文審査の結果の要旨

ヒトを含めた哺乳動物における精子形成は幹細胞の増殖、分化から始まりその後減数分裂を経て半数体の精細胞を形成し、最終的に精子を産生する一連の複雑な分化過程である。これらの分化過程、特に減数分裂期以降の後期においては各種遺伝子ならびにその産物の特異的な発現が知られているが、一方、精子形成の初期においてはその様な知見がほとんど得られていない現状である。

本研究は初期の精子形成における制御機序を解明する一環として、初期分化段階の精細胞にのみ発現する分化特異抗原分子をモノクローナル抗体を用いて同定し、その分子の生化学的特性および精子形成における機能について解析を行った。今回得られたモノクローナル抗体（BC7およびCA12）は減数分裂前期のzygotene期からearly pachytene期までの限られた分化段階の精細胞のみを認識した。現在までこのような初期の精細胞のみに、しかも一過性に発現する分子は報告されていない。またこの抗原分子（TDA95）が細胞膜上の糖たんぱく分子であることが生化学的実験により明らかにされた。さらに抗体投与実験によりこの分子が雄性生殖細胞の支持細胞であるSertoli細胞との接合もしくは細胞間相互作用に関与する機能分子であることが示唆された。

以上の知見は分化段階初期の精子形成における精細胞-Sertoli細胞間の相互作用の重要性を明確に示唆し、さらに今回同定された新規の抗原分子は今後の精子形成の研究に大きく寄与するものと高く評価できる。よって本研究は学位に値するものと考えられる。