



| | |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | Characterization of development-specific, cell type-specific mouse testicular antigens using testis-specific polyclonal antibodies |
| Author(s) | 土田, 順司 |
| Citation | 大阪大学, 1998, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40728 |
| 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"〉 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 | つち だ じゅん じ 土 田 順 司 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 1 3 7 1 3 号 |
| 学位授与年月日 | 平成10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 | Characterization of development-specific, cell type-specific mouse testicular antigens using testis-specific polyclonal antibodies (精巣特異的ポリクローナル抗体を用いたマウス精巣抗原の免疫学的解析) |
| 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】

雄性生殖細胞の最終産物である精子は、精原細胞の増殖・分化、精母細胞の減数分裂及び精子細胞の著しい形態変化を含む一連の複雑な分化過程を経て産生される。これらの分化過程において多くの特異分子が発現または消失しており、それらは精子形成に深く関わっていると考えられる。従って生殖細胞に特異的に発現し、またその分化段階特異的に発現する分子の解析は、精細胞の特性や分化メカニズムを理解する上で重要である。本研究は精細胞の分化段階特異的に発現する分子を同定する目的でマウス精細胞を免疫して特異的抗体を作製し、それを用いて精巣の成熟にともなって発現する分化段階特異的な抗原分子について解析を行ったものである。

【方法】

分画した精細胞をウサギに免疫し、得られた抗血清を去勢マウスの腹腔に注射し、3時間後鼠径部からマウスの血清を回収した。それによりマウス体細胞を認識する抗体を吸収除去 (*in vivo* 吸収) し、マウス精細胞に特異的なポリクローナル抗体を作成した。

作製した抗体が認識する精巣内抗原分子をウエスタンブロッティング法により解析した。出生後まもなく精子形成が同調しておこなうことを利用して電気泳動するサンプルには、様々な分化段階の精細胞を含む各日齢の精巣 [7日 (~分化精原細胞), 10日 (~レプトテン期精母細胞), 13日 (~ザイゴテン期精母細胞), 16日 (~パキテン期精母細胞), 19日 (~球型精子細胞), 成熟個体 (~精子)] を用いた。また未分化精原細胞のみを含むサンプルとして jsd / jsd 突然変異マウスと人工停留を施したマウスの精巣を、精細胞を全く含まないサンプルとして W / W^v 突然変異マウスの精巣を用いた。体細胞抗原のコントロールとして肝臓と脾臓の抽出液を泳動した。

【成績】

行われた実験条件下において、作製したポリクローナル抗体は、成体マウス精巣に存在する26~110kDaの分子量をもつ20個の抗原 (p26~p110) を認識した。それらの中には、幼若な精巣から発現し、以後量的に増加する抗原や精細胞の分化に伴って新たに発現する抗原が存在した。

p67, p88, p100, p105抗原は7日齢の精巣においてすでに検出されるが、A型精原細胞のみ存在している jsd /

jsdの精巣と人工停留精巣には検出されなかった。従って、これらの抗原は中間型もしくはB型精原細胞に存在することが示唆された。

p93抗原は10日以降で、p31とp85抗原は13日以降で、そしてp55とp80抗原は16日以降で発現が確認された。従って、これらの抗原はそれぞれ減数分裂前期のレプトテン期、サイゴテン期、パキテン期精母細胞に発現が起こることが示唆された。

p35, p48, p71抗原は成熟個体精巣において初めて発現が確認された。従って、これらの抗原は精子細胞において発現していることが示唆された。

精細胞特異的抗原のうちp67, p71, p80, p88, p93, p100, p105抗原は成熟個体精巣には存在しているが、成熟精子には消失し存在が確認されなかった。これに対して、p26, p58抗原は精子特異的な抗原として検出された。これらの抗原は精子の成熟過程でプロセッシング、分解及び修飾などを受けるかと推測された。

p38, p53, p57, p65, p96, p108抗原は成熟個体精巣に発現が確認されただけでなく、W/W^vマウスの精巣においても発現が確認された。従ってこれらの抗原はセルトリ細胞やライディッヒ細胞、筋様細胞といった精巣内に存在する体細胞において発現していることが示唆された。これらの抗原のうちp38, p53, p57, p96抗原は精子にも発現が確認され、精細胞での発現も示唆された。また、p57, p65, p108抗原は成熟に従って発現量が増加することも確認された。

【総括】

in vivo 吸収法を用いることにより、精巣特異的ポリローナル抗体を作成した。その抗体を用いた免疫学的解析により、マウス精巣に特異的な約26~110kDaの分子量をもつ20個の抗原(p26~p110)を同定した。そのうち12個の抗原が精細胞にのみ発現する分化段階特異的な抗原であることが明らかとなった。また、作成した抗体を用いて、精巣内体細胞に発現している分化段階特異的な抗原も同定することができた。このような特異的抗体作製の技法は、精細胞分化における抗原分子の生理的役割を解析することだけではなく、cDNAクローンの単離にも有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

精細胞の分化は、精原細胞の増殖・分化、精母細胞の減数分裂及び半数体精子細胞の形態形成の3段階に分かれ、生物学的に興味ある素材である。また、これらの段階の障害は、精細胞腫瘍の発生や男性不妊症とも密接な関係があり、臨床的にも大きな問題となっている。この複雑な精細胞分化を理解するには精巣で特異的に発現する分子を単離し、その機能を調べることは有用である。このような目的のもとに、これまでマウス精巣を特異的に認識する抗体が作成され、その抗原解析がなされてきた。しかしその特異機能や生理的役割についての情報は殆ど得られていない。

本研究では、“*in vivo* 吸収”という特殊な技法によって、精巣特異的ポリクローナル抗体が作成されたこと、またその抗体を用いて、すべての分化段階に特異的な発現を示す抗原が網羅的に解析されたことが独創的である。今後、この抗体を用いて精細胞分化段階特異的な遺伝子を単離・解析することは、複雑な精細胞分化を理解するうえで重要な手がかりを与えるものと考えられる。よって、本研究は学位論文に値するものと認める。