PP4-147 男性不妊症患者の精巣生検組織における Cx43 の発現

長崎大学泌尿器科¹⁾, 聖フランシスコ病院泌尿器科²⁾, 長崎大学第三解剖学³⁾, 長崎大学附属病院病理部⁴⁾
 松尾 祐三¹⁾, 青木 大勇²⁾, 江口 二郎¹⁾, 野俣 浩一郎¹⁾, 金武 洋¹⁾, 菱川 善隆³⁾, 小路 武彦³⁾, 林 徳真吉⁴⁾
 【目的】細胞間結合の一つであるギャップ結合は約 1kD 以下の小分子の細胞間連絡を介して、細胞の分化と増殖及び多細胞生物のホメオスタシス維持に関与している。近年ラットやマウスなどの精巣において Connexin(Cx)43 が主に発現していると報告されているが、その意義については不明な点が多い。今回我々は男性不妊症患者の精巣生検組織において Cx43 の発現を免疫組織学的に検討した。【対象と方法】対象は 1995 年 7 月から 2003 年 3 月までに得られた無精子症、乏精子症患者に対する精巣生検 29 例においてポリクローナル抗 Cx43 抗体を用いた免疫染色と染色強度の画像解析を行った。また Johnsen's mean score を用い、画像解析の結果との相関を検討した。【結果および考察】normal spermatogenesis では Sertoli 細胞と生殖細胞との細胞間や Leydig 細胞間に Cx43 の発現を認めたが、germ cell aplasia では Leydig 細胞間には発現をみるも、精細管内では著しい低下を認めた。maturation arrest では染色部位が減少し、精細管内の管腔側に発現が強く見られていた normal spermatogenesis と比べ、発現が主に基底側に見られた。また画像解析上、Johnsen's mean score と染色強度は有意に正の相関 ($r=0.5387$) を示した。以上の結果はヒト精巣に於いて、Cx43 の発現の低下と局在の変化が造精機能障害に関連する可能性を示唆した。

PP4-148 ヒト、マウスの精巣における Hepatocyte Growth Factor およびその関連タンパク質の遺伝子発現

宮崎医科大学泌尿器科¹⁾, 宮崎医科大学第二病理学²⁾
 山内 正倫¹⁾, 伊藤 浩史²⁾, 片岡 寛章²⁾, 蓮井 良浩¹⁾, 長田 幸夫¹⁾

Hepatocyte Growth Factor (HGF) は不活性型の前駆体として分泌され、HGF activator (HGFA) によって活性化され MET 受容体発現細胞に作用する。HGFA inhibitor (HAI) は HGFA を特異的に阻害する Kunitz 型インヒビターで HAI-1, HAI-2 の二種類が報告されている。今回これら HGF の活性化に関係するタンパク質のヒトおよびマウスの精巣における遺伝子発現について検討を行った。精巣においては HGF, HGFA, MET それぞれの遺伝子発現が認められた。特に HAI においては HAI-1,2 とともに様々な臓器に発現が認められるが、精巣においては HAI-1 はほとんど発現が認められず、HAI-2 が強発現していた。また免疫染色を行ったところ、精巣における HAI-2 タンパク質は第二精母細胞に局在していることがわかった。さらに精巣における HAI-2 遺伝子の発現様式について 5'-RACE 3'-RACE を用いて検討を行ったところ精巣では他臓器と転写開始点が異なっていることが明らかになったので報告する。

PP4-149 NEDD8 negative regulator protein である NUB1 の精巣における機能解析

大阪市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学¹⁾, Department of Cardiology, University of Texas M.D. Anderson Cancer Center Houston TX USA²⁾
 田中 智章¹⁾, 杉田 省三¹⁾, 栗栖 猛¹⁾, 川嶋 秀紀¹⁾, 杉村 一誠¹⁾, 仲谷 達也¹⁾, Tetsu Kamitani²⁾
 (目的) Ubiquitin-like protein の一つである NEDD8 は ubiquitin ligase (SCF complex) のコンポーネントである Cullin に重合して、その ligase の活性化を通じて ubiquitination system をコントロールしている。NEDD8 の negative regulator である NUB1 は特に精巣において強い発現を示す。NUB1 の精巣における機能解析を目的として、NUB1 に結合する蛋白質の同定を試みた。(方法・結果) NUB1 を bait として yeast two hybrid system を用いてヒト精巣 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。候補因子の一つとして ubiquitin 前駆体である 9 量体 ubiquitin, UbC1 を同定した。Northern blot 解析、In situ hybridization では UbC1 message は NUB1 と同様に精巣、特に精子形成細胞に強発現していた。In vivo binding assay, GST pull-down assay では UbC1 は NUB1 の機能ドメインの UBA に特異的に結合した。In vitro hydrolysis assay では NUB1 免疫沈降分画は UbC1 に対して Ubiquitin-C 末端切断活性を示し、Ubiquitin monomer を産生した。(結語) NUB1 は精巣において Ubiquitin 産生を促進し、特に精子形成過程に関与している可能性が示唆される。

PP4-150 JVS マウス精巣上体におけるカルニチン輸送担体 OCTN2 の局在と閉塞性無精子症との関係

宮崎大学泌尿器科学¹⁾, 千葉大学大学院形態形成学²⁾
 薬師寺 和道¹⁾, 年森 清隆²⁾, 甲斐 砂織¹⁾, 山内 正倫¹⁾, 長田 幸夫¹⁾

カルニチンはミトコンドリア基質内での長鎖脂肪酸の β 酸化に必須の分子であり、細胞外に存在する L-カルニチンはカルニチン輸送担体 OCTN2 (carnitine/organic cation transporter 2) を介してミトコンドリア外膜まで取り込まれる。カルニチンは精巣上体における精子成熟や運動能獲得に関与していると考えられているが、その役割は明らかではない。我々はこれまでに、OCTN2 の機能異常が原因で生じる全身性カルニチン欠乏症の動物モデル juvenile visceral steatosis (JVS) マウスにおいて、精巣上体遠位部で精子通過障害が起こることを報告した (Toshimori et al, 1999)。今回我々は C57 B6 マウス (control) および JVS マウスを用い、精巣上体における OCTN2 の局在および精子閉塞症状との関係を、OCTN2 に対する特異的抗ペプチド抗体を作成し免疫組織化学的に検討した。OCTN2 は精巣上体遠位部より近位精管にかけ上皮主細胞頂面側細胞膜に局在していた。JVS マウスでの検討では、OCTN2 発現開始部位と精子閉塞部位が一致していた。以上より、OCTN2 は精巣上体遠位部から近位精管における管腔内と上皮間のカルニチン輸送を行い、同部位での精子成熟および精子の輸送機能に関与していることが考えられた。