ラット精細管の電顕的細胞化学的研究：発育段階における ホスファターゼ局在の変化

東京大学医学部泌尿器科教室（主任：新島端夫教授）

石 田 仁 男

AN ULTRACYTOCHEMICAL STUDY ON PHOSPHATASE ACTIVITIES IN RAT SEMINIFEROUS TUBULES DURING POSTNATAL DEVELOPMENT

Yoshio Ishida

Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo
(Director: Prof. T. Nijima)

An ultracytochemical study was performed, for the first time, in the rat seminiferous tubules during postnatal development. Differentiation of the spermatogenic and Sertoli cells and changes of phosphatase localizations were studied.

The seminiferous tubules were obtained from the rats of Wistar strain at 1, 2, 3, 4 and 5 weeks and adult age. Rats in a litter mates were also used for the study of the changes during 12 to 18 days after birth. The enzymes studied were acid phosphatase (ACPase) according to Gomori's method and adenosine triphosphatase (ATPase) by the method of Wachstein and Meisel.

ACPase activity was found in the Golgi apparatuses and lysosomes of all spermatogenic cells in all ages of rats. The activity was also positive in the Golgi apparatuses and lysosomes of both immature and mature Sertoli cells. Spermatids began to appear 4 weeks after birth and maturation was completed by 5 weeks. Acrosome vesicles and acrosomes at the beginning of cap formation in the early spermatids was ACPase positive, while ACPase activity disappeared in the acrosomal cap as the spermatids matured. The vesicles in the residual bodies of spermatids showed a positive reaction. ACPase activity in the acrosomes of mid and late spermatids might be masked cytochemically by unknown mechanisms until fertilization.

ATPase activity was negative in both spermatogenic cells and Sertoli cells until 13 days after birth under various conditions of fixation and incubation. In 13 days old rats, ATPase activity started to appear in the Golgi apparatuses of spermatogonia and intercellular spaces (ICS) between Sertoli cells facing each other. In 16 days old rats, the activity became positive in the ICS between Sertoli cells and spermatogenic cells. Gradual increase of the enzyme activity was observed as the rat grew. At the age of 18 days, ATPase activity became stronger but the localization was similar. The time course of ATPase activity in seminiferous tubules was coupled with Sertoli cell differentiation forming tight junctions and spermatocyte development. In adult rats, the activity was found in the Golgi apparatuses of both Sertoli cells and spermatogenic cells as well as in the ICS between Sertoli cells facing each other and in those between Sertoli cells and spermatogenic cells. ATPase activity, however, was negative in the ICS where the spermatogenic cells were facing each other. The present study for the first time described the changes of phosphatase activities during the postnatal development of rat seminiferous tubules. The time course and the distribution of ATPase activity during postnatal testicular development suggest that the enzyme may play some role in metabolic transport between Sertoli cells and developing spermatogenic cells.

要旨：ラット精細管の生後発育を電顕的酵素細胞化学的に研究した。各発育段階のウィスター系ラット精巢を用い、酸性ホスファターゼ（ACPase, Gomori 法）とアデノシントリホスファターゼ（ATPase, Wachstein and Meisel 法）の局在を調べた。経日的観察には同腹ラットを用いた。ACPase 活性は生後 1 週から精細胞およびセルトリ細胞のゴルジ装置とライソゾームに認められ、成熟ラットに至るまで活

性の強さに差はあれ局在部位は同一であった。早期精子細胞の前先体顆粒、初期の先体内には ACPase 活性が陽性であるが、acrosomal cap 形成以後では活性は消失した。ATPase 活性は生後13日に初めて出現し、日を追って増強し18日齢では精細管全域に活性を認めた。局在部位は精細胞とセルトリ細胞のゴルジ装置および両細胞系の形質膜外側であった。ATPase 活性の出現時期はセルトリ細胞の分化にともなう密着結合の形成および精母細胞の出現時期と一致した。形質膜における ATPase 活性の局在はセルトリ細胞同士および精細胞とセルトリ細胞とが接する部分（細胞間隙）であり、精細胞同士の接する間隙には活性を認めなかった。本研究は精細管の生後発育におけるホスファターゼ活性の出現と局在を初めて明らかにしたもので、活性出現時期とその分布からセルトリ細胞が精細胞の分化に関与し、特に代謝移送と関連することが示唆された。

緒 言

精細管上皮は精細胞とセルトリ細胞からなり、これらが精細管内に複雑に層状配列している。精細胞は幹細胞より分化し精祖、精母細胞（第一次、第二次）を経て精子細胞となる。この精子形成過程における細胞の形態変化は著しくかつ特徴的である¹⁾。これに関する組織学的²⁾、細胞動態学的³⁾、電顕的報告⁴⁾は多い。ラット精巣の発育をみると胎生期から存在する原始生殖細胞 (gonocyte) は生後 4 日頃より体細胞分裂が盛んになり、生後 9 日には精祖細胞に分化し、15日頃に第一次精母細胞 (primary spermatocyte) が出現する。減数分裂を行い第二次精母細胞 (secondary spermatocyte) を経て26日に最初の精子細胞が出現する²⁾。早期精子細胞 (early spermatid) においてゴルジ装置の小胞内に前先体顆粒 (proacrosomal granule) が出現する。顆粒は融合してゴルジ嚢とともに核の前端に密着する。その後ゴルジ嚢は核を包むようになり頭帽となる。その中の顆粒が先体 (acrosome) である⁵⁾。ゴルジ装置は先体が形成されると尾部の細胞質に移動し、のちに細胞小滴の中に見い出される。先体からはなれたゴルジ装置はゴルジ遺残体 (residual body) と呼ばれる⁶⁾。精細胞の分裂は成熟した精細管内では整然と波状的に進行しており、各分化段階の細胞は精細管の中でそれぞれの細胞群を形成しており動物種により各分化段階での所要時間や周期は一定している³⁾。一方セルトリ細胞は支持細胞とよばれ精細胞の間に複雑な細胞質突起を出して存在し精子発生を円滑にするための種々の特殊な機能を果たすと考えられている。セルトリ細胞は胎生期には未熟型で占められ生後も未熟型の増殖が続く。生後15日頃に細胞は分化し成熟型が出現する^{2,7)}。セルトリ細胞の分化にともない細胞間には特殊な密着結合が形成される。この細胞間接着装置はランタンの浸透を阻止し、一つの関門として機能する。これが血液-精巣関門 (blood-testis barrier)^{8,9)}

として働くと考えられており、その完成は生後16~20日と報告されている¹⁰⁾。なおヒトでは11~13歳といわれている¹¹⁾。成熟精巣の電顕的酵素細胞化学的研究は1963年 Tice and Barnett¹²⁾によりホスファターゼにつき初めて行われた。その後各種動物において精子形成とホスファターゼ局在との関連が検索され、細胞化学的に形質膜の機能分化が示され、精子形成とゴルジ装置の機能状態との関連も明らかにされてきた¹³⁾。一方精巣の発育段階の研究は電顕的形態観察にとどまってお^{7,14)}、細胞化学的報告は未だなされていない。本研究はラット精巣の生後発育過程におけるホスファターゼ局在を初めて明らかにしたものである。さらに酵素活性の出現時期、局在部位の変化と発育における構造変化とに一定の関連を認めたのでここに報告する。

材料と方法

1) 動物実験

生後 1, 2, 3, 4, 5 週および性的成熟した雄性ウィスター系ラット (各群10, 9, 11, 6, 9, 11匹) を用いた。ラットは日本生物材料センターより購入した。細胞分化のはげしい時期、すなわち生後12ないし

表1 Experiments using litters of rats

Exp.	No. of animal	postnatal days						
		12	13	14	15	16	17	18
A	3	1	—	—	1	—	—	1
B	5	1	1	1	1	1	—	—
C	4	1	1	1	1	—	—	—
D	4	—	—	1	1	1	1	—
E	5	—	1	1	1	1	1	—
F	3	—	—	—	1	1	—	1
G	5	—	—	1	1	1	1	1
H	5	—	—	1	1	1	1	1
I	4	1	1	1	1	—	—	—

(— : Experiment not performed)

18日の観察には一腹のラットを用いた。経日的観察の実際は表1に示した。

ラットにネブタールを腹腔内投与し麻酔下に開腹し、精巣を摘出し直ちに精巣白膜を切開し精細管を取り出した。

2) 電顕標本の作製 (形態観察)

精細管をカミソリで細切し、冷2%グルタルアルデヒド (GLA) 液 (0.1M カコジル酸緩衝液 pH 7.2, 3%蔗糖添加) に一夜浸漬固定した。0.1M カコジル酸緩衝液 (pH 7.2) にて洗滌し冷1%オスミウム酸溶液にて90分間固定し、上昇エタノール系列で脱水し、プロピレンオキサイドで置換した後エポン812に包埋した。

3) 酵素細胞化学

酸性ホスファターゼ (acid phosphatase, ACPase; E.C. 3.1.3.2) 活性の検出は β -グリセリン酸 (第一化学) を基質とし pH 5.0 で Gomori 法 (1952)¹⁵⁾ によった。アデノシントリホスファターゼ (adenosine triphosphatase, ATPase; E.C. 3.6.1.3) 活性の検出はアデノシン 5' トリホスフェート (Sigma) を基質とし pH 7.0 で Wachstein and Meisel 法 (1957)¹⁶⁾ により行った。

酵素細胞化学用には細切した精細管を冷2%GLA (3%蔗糖添加) 溶液にて浸漬し前固定し、0.1M カコジル酸緩衝液で3回洗滌した後、厚さ約40 μ m の凍結切片を作製した。切片を再度洗滌した後、酵素反応液中に37℃で浸漬した。固定および浸漬条件は予備実験により決定した。すなわち ACPase では固定60分間、浸漬15分間であり ATPase では固定30分間、浸漬15分間であった。浸漬終了後、切片は冷1%オスミウム酸溶液にて45分間の後固定を施し、エタノール脱水を経てエポンに包埋した。浸漬終了後の切片の一部は水洗後1%硫化アンモニウム液にて2分間発色した。洗滌後グリセリン封入を行い光学顕微鏡の観察に供した。対照実験として40 μ m 切片を基質を抜いた反応液 (substrate free medium) 中にて浸漬した。ACPase に対しては弗化ソーダを最終濃度10mM となるよう反応液に添加し阻害実験も行った。

4) 電顕的観察

LKB4801型超ミクロトームを用いて超薄切片を作製した。形態観察用超薄切片には酢酸ウランおよびクエン酸鉛の二重電子染色を、細胞化学用切片にはクエン酸鉛単染色を施し、JEM100C 型透過型電子顕微鏡 (80KV) 下で観察した。

結 果

1. 形態観察

生後1週までのラット精細管は原始生殖細胞と未熟型セルトリ細胞によって占められていた。その原始生殖細胞は体細胞分裂をくり返し生後2週にはほとんどみられなくなり、精祖細胞つづいて精母細胞が出現し始めた。生後4週になると早期精子細胞が出現し、以後日を追うにしたがい精子細胞の成熟が観察された。生後2週未満の精細管内のセルトリ細胞は全て未熟型であった。その後細胞質突起の出現、核の多形化、細胞間接着装置の形成などセルトリ細胞の分化が進み生後3週では精細管内のセルトリ細胞は全て分化し成熟型となった。

2. ACPase 活性の局在

生後1週では原始生殖細胞および未熟型セルトリ細胞のゴルジ装置とライソゾームに酵素活性を認めた (Fig. 1)。生後2週では新たに出現した精祖細胞および未熟型セルトリ細胞のゴルジ装置とライソゾームに活性がみられた (Fig. 2)。生後3週になると精母細胞および成熟型セルトリ細胞が出現し、それらのゴルジ装置とライソゾームにも活性を認めた。生後4週では出現し始めた精子細胞内のゴルジ装置とライソゾームに加え形成初期の先体に活性を認めた (Fig. 3, 4)。しかし精子細胞の成熟段階が進み中期および後期精子細胞では頭帽内における ACPase 活性は認められなくなった (Fig. 5)。この所見は成熟ラット精巣においても確認された。即ち同一切片の観察で早期精子細胞内の先体には活性を認めた (Fig. 6)。しかし中期と後期の精子細胞において頭帽形成が進み、頭帽が完成したのものには、ACPase 活性を認めなかった。精細胞のゴルジ装置とライソゾームには生後1週から成熟に至るまで全てに活性がみられた。ゴルジ装置における反応産物の沈着は精細胞では trans 側の層板、小胞に認められた (Fig. 6)。セルトリ細胞では trans 側に活性を認めるものが多いが全体に認めるものもあり一定ではなかった。精子細胞の成熟過程で先体形成が進みゴルジ装置が先体をはなれ尾部の細胞質に移動している時期ではゴルジ装置にはまだ活性が認められた (Fig. 7)。ACPase 活性は後期精子細胞の遺残体中の小胞にも活性を認めた (Fig. 8)。対照実験として酵素基質を抜いた浸漬液および阻害剤 (NaF, 10mM) を加えた浸漬液中で各試料の反応を行った。いずれの標本においても反応産物を認めなかった。

3. ATPase 活性の局在

生後12日以前の精細管上皮には種々の条件を設定したにもかかわらず酵素活性を認めなかった。酵素活性が初めて認められたのは日齢13日のラット精巣でその局在は精祖細胞のゴルジ装置およびセルトリ細胞同士の細胞間隙であった (Fig. 9)。反応は弱い活性は確実に認められた。14日齢ではセルトリ細胞同士の細胞間隙 (Fig. 10) のみならず、セルトリ細胞のゴルジ装置 (Fig. 11) にも活性を認めた。16日齢では新たに出現した精母細胞のゴルジ装置およびセルトリ細胞と精祖、精母細胞との細胞間隙にも活性を認めるにいたった (Fig. 12)。この反応は徐々に増強し生後18日では酵素活性はさらに明瞭となり成熟例と同様な所見を認めるに至った。成熟ラットでは精細胞、セルトリ細胞ともゴルジ装置に活性が認められた。さらに全ての精細胞 (精祖、精母、精子細胞) とセルトリ細胞との細胞間隙、セルトリ細胞同士の細胞間隙に活性を認めた (Figs. 13, 14)。しかし幼若および成熟精巣とも精細胞同士が相接する細胞間隙には酵素活性を認めなかった (Figs. 12, 14 arrow head)。なお反応産物の沈着は形質膜では膜の外側に存在し、ゴルジ装置ではゴルジ槽と小胞の内部に存在した。しかし cis 側, trans 側に対する規則性は認められなかった。酵素基質を抜いた溶液中で浸漬を行った精細管内には各日齢とも反応産物は認められなかった。

考 察

精細管上皮は精細胞とセルトリ細胞からなり層状に配列している。精細胞は精子に至る過程で著明な形態的变化を起こし、これに関して数多くの報告がある³⁾⁵⁾。セルトリ細胞は精子形成を円滑にするための種々の特殊な機能を果たすと考えられている¹⁷⁾。

成熟精巣におけるホスファターゼの局在は1963年 Tice and Barnett¹²⁾によりラットにおいて初めて報告された。その後ハムスター¹⁸⁾、ヒト¹⁹⁾、マウス²⁰⁾などにおいての報告がなされた。1961年 Novikoff²¹⁾および Allen²²⁾がホスファターゼ活性を細胞化学的に検出する方法を報告し thiamine pyrophosphatase (TPPase), nucleoside diphosphatase (NDPase) がゴルジ装置に局在することを指摘した。その後の研究からゴルジ装置に局在する酵素として ACPase, ATPase, alkaline phosphatase (ALPase) が知られるにいたり、これらの酵素をマーカーとしてゴルジ装置の消長を追跡することが可能となった¹²⁾²³⁾。本研究において成熟ラットの ACPase 活性の局在は Tice らの報告¹²⁾と基本的に一致していた。若干の相違点は Tice らはセルトリ細胞のゴルジ装置には ACPase 活性は認めなかったと記載しているが本研究では明らかに反応陽性であった。また他の報告例¹³⁾でも陽性とされている。また Barham ら¹⁹⁾はヒトに関して精細胞のゴルジ装置と先体には活性がなかったとしている点がラットでの本研究と相違していた。精子形成過程では Tice ら¹²⁾がラット精子細胞で TPPase, ACPase, NDPase, NTPase 活性を検出しゴルジ装置における活性を指標として先体がゴルジ装置の変形により形成されてくることを観察した。その後ラット精子細胞に関しての報告²⁴⁾もふえている。ゴルジ遺残体中の小胞には本研究においても報告と同様に ACPase 活性を弱いながら認めたが、この時期には先体に活性はなかった。先体はゴルジ装置由来の膜によってつつまれた一種の蛋白性分泌顆粒と同等のものと考えられており PAS 反応陽性を呈し多糖類のほか多数の加水分解

Fig. 1~8 ACPase cytochemistry in developing rat testis.

Fig. 1 1week old. Reaction products are found in the Golgi apparatus of a gonocyte. $\times 33,000$

Fig. 2 2weeks old. Reaction products are localized in the Golgi apparatus of immature Sertoli cell. $\times 10,000$

Fig. 3 4weeks old. The acrosome (arrow) at the beginning of cap formation as well as Golgi apparatus are ACPase positive. $\times 19,000$

Fig. 4 4weeks old. Reactive sites for ACPase are in the Golgi apparatus and lysosomes of the mature Sertoli cell. $\times 4,000$

Fig. 5 4weeks old. ACPase activity disappears in the acrosome (arrow) as the cap formation progressed in the mid spermatid, while the activity is positive in the Golgi apparatus. $\times 14,000$

Fig. 6 Adult. Reaction products are found in the Golgi apparatus and acrosomal granule (long arrow) and lysosomes (short arrow) of the early spermatid. $\times 6,000$

Fig. 7 Adult. ACPase was positive in the residual Golgi apparatus of late spermatid. $\times 18,000$

Fig. 8 Adult. Reaction products are found in the vesicles of the residual body (arrow) of the late spermatid. $\times 11,000$

Fig. 15 Schematic representation of positive sites for ACPase and ATPase in seminiferous tubules of 18days old rat.

15

ACPase

ATPase

(Go denotes gonocyte, Sc: spermatocyte, Sd: spermatid, Se: Sertoli cell, Sg: spermatogonium, Ac: acrosome, G: Golgi apparatus, L: lysosome, N: nucleus, respectively) (Scales in the figures indicate one micron.)

酵素を含んでいる。これらプロテアーゼ、ヒアルロニダーゼ、酸性ホスファターゼや他の水解酵素は先体が受精過程で卵丘細胞群や卵子透明帯への通過時に重要な役割をはたしていることが知られている²⁵⁾。ACPaseが精子細胞の先体形成初期の先体に活性を呈している事を考えると、先体形成中期以後受精まで何らかの機序にて、この活性がおさえられていると考えられる。この機序に関してはさらに検討が必要と思われる。

成熟ラットではATPase活性が精細胞とセルトリ細胞との細胞間隙に認められる事はすでに報告されており¹³⁾²⁰⁾²⁶⁾、今回の研究でも同様の結果をみた。しかしATPase活性が発育段階のいつ頃から出現するかについては今だ報告をみない。その出現時期は各個のラットを用いた実験で生後2週前後であった。生下時間の同定に幅があるので、時期および活性発現の経日的変化を正確に追究すべく同腹ラットを用いた実験を行った。すなわち同腹のラットを用い生後12, 13, 14,

Figs. 9~14 ATPase cytochemistry in developing rat testis.

Fig. 9 13days old. Reaction products can be seen in the Golgi apparatus of the spermatogonium. $\times 18,000$

Fig. 10 14days old. Reaction products are observed in the intercellular spaces (ICS) between Sertoli cells facing each other. $\times 9,000$

Fig. 11 14days old. Reaction products are found in the Golgi apparatus of Sertoli cell and the ICS between Sertoli cells facing each other. $\times 39,000$

Fig. 12 16days old. Reaction products are found in the Golgi apparatus of the spermatocyte and in the ICS between Sertoli cells facing each other and in the spaces between Sertoli cell and the spermatocyte. No reaction is observed in the ICS between spermatocyte facing each other (arrow head). $\times 9,000$

Fig. 13 Adult. Reaction products are found in the ICS between the spermatid and Sertoli cell. The spaces between Sertoli cells facing each other also are positive. $\times 15,000$

Fig. 14 Adult. Reaction products localize in the Golgi apparatus of spermatid and in the ICS between Sertoli cells facing each other and in spaces between Sertoli cell and the spermatid (arrow). No reaction is observed in the ICS between spermatids facing each other (arrow head). $\times 18,000$

15, 16, 17, 18日の時期に分布するよう実験を計画した(表1)。その結果1日前後のずれがみられる事もあったが13日にはATPaseの活性が弱いながら認められ始め、16日には成熟ラットと活性の出現部位はほぼ同様となった。この活性の出現時期は精母細胞の出現時期⁹⁾および血液—精巣関門が完成するといわれている時期¹⁰⁾とよく一致する。膜ATPase活性はセルトリ細胞同士およびセルトリ細胞と精細胞との細胞間隙の細胞膜に反応陽性で、精細胞同士の細胞間隙の細胞膜には反応陰性であった。これは成熟ラット¹²⁾、マウス²⁰⁾、ハムスター¹⁸⁾²⁶⁾の報告と一致し、成熟マウスでのadenylate cyclase²⁷⁾の分布ともよく類似していた。しかしBarhamのヒトでの所見¹⁹⁾とは精祖—精祖細胞の接点で反応を認め、セルトリ細胞同士の細胞間隙には反応をほとんど認めなかったとしている点で本研究と相違をみた。

セルトリ細胞は生後15日頃より成熟型への分化が始まるとされる²⁷⁾。胎生期にはMüller管に対する抑制物質である糖蛋白²⁸⁾を分泌し、成熟化が始まり血液—精巣関門が完成する直前にはアンドロゲン結合蛋白(androgen binding protein; ABP)¹⁰⁾を産生分泌し始める。セルトリ細胞間の密着結合により精細管は2つの生理的部分すなわちbasal compartmentとadluminal compartmentに分けられる²⁹⁾。basal compartmentは基底膜と密着結合との間の部分で、ここには精祖細胞が存在する。adluminal compartmentは密着結合から管腔までの部分で精祖細胞から分裂増殖した精母細胞、精子細胞を含む。セルトリ細胞はこの2つのcompartmentにまたがって存在する。basal compartmentでは血液から浸透してきた物質と基底膜で直接接触できるがadluminal compartmentでは血液—精巣関門によりそれらの物質と精細胞とは直接接触できない環境となる。セルトリ細胞間の密着結合はtightで高分子物質を通過させず、したがって分化しつつある精細胞への栄養物質の移送はセルトリ細胞を介して行われると推定される²⁹⁾。

細胞形質膜に存在するATPaseは細胞の代謝移送と関連があるといわれている。形質膜にATPase活性が出現するのは生後13~16日で、セルトリ細胞が成熟型に、精細胞が精子への分化を始める時期とよく一致した。さらに全ての形質膜にATPase活性が出現するのではなく、セルトリ細胞と接する部分にのみ活性が認められた事は注目に値する。以上の所見はセルトリ細胞が精巣の生後発育において精細胞の分化に関与

し、特に栄養物質の移送も含め代謝移送と関連することを示唆する。

結 語

精巣の生後発育にともなう精細管内の変化を電顕的細胞化学的に検索し精細胞およびセルトリ細胞の形態の変化と機能との関連を追究した。生後1, 2, 3, 4, 5週および性的成熟した雄性ウィスター系ラットを用い、さらに形態変化のはげしい生後12ないし18日については同腹のラット群を用い、精細管内の酵素細胞化学を行い電顕にて観察した。

ACPase活性は生後1週から成熟精巣まで精細胞およびセルトリ細胞のゴルジ装置とライソゾームに反応を認めた。精子細胞では形成初期の先体内に活性を認めた。先体形成が進むとACPase活性は認められず、何らかの機序でおさえられたものと考えられた。

ATPase活性は生後13日から出現し始め、生後16日では成熟したものと同様の部位に活性を呈した。セルトリ細胞と精細胞との細胞間隙にATPase活性を認めたが精細胞同士の細胞間隙には反応は陰性であった。活性の出現時期はセルトリ細胞が分化を始め血液—精巣関門が完成する時期と精母細胞の出現時期と一致した。以上の結果は精巣の生後発育過程においてセルトリ細胞が精細胞の分化に関与し、特に代謝移送と関連することを示唆する。

本論文の要旨は第1回日本アンドロロジー学会(昭和57年6月17日~18日)、第24回日本組織細胞化学会総会(昭和58年10月27日~28日)、第72回日本泌尿器科学会総会(昭和59年4月2日~5日)において発表した。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った恩師新島端夫教授、直接御指導いただいた横山正夫助教授(現虎の門病院部長)に心から感謝致します。東京大学泌尿器科教室各位の御協力および福田寛氏(東京大学医学部電顕室)、黒沢園子氏(東大分院泌尿器科)の技術的援助に感謝致します。

文 献

- 1) Perey, B., Clermont, Y. and Leblond, C.P.: The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *Am. J. Anat.*, 108, 47—77, 1961.
- 2) Clermont, Y. and Perey, B.: Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.*, 100, 241—267, 1957.
- 3) Clermont, Y.: Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.*, 52, 198—236, 1972.
- 4) De Kretser, D.M.: Ultrastructural features of

- human spermatogenesis. *Z. Zellforsch.*, 98 : 477—505, 1969.
- 5) Susi, F.R., Leblond, C.P. and Clermont, Y.: Changes in the Golgi apparatus during spermiogenesis in the rat. *Am. J. Anat.*, 130, 251—268, 1971.
 - 6) 永野俊雄：精子形成—とくに acrosome について—。代謝, 14, 2013—2019, 1977.
 - 7) Ramos, A.S. and Dym, M.: Ultrastructural differentiation of rat Sertoli cells. *Biol. Reprod.*, 21, 909—922, 1979.
 - 8) Fawcett, D.W., Leak, L.V. and Heidger, P.M.: Electron microscopic observations on the structural components of the blood-testis barrier. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 10, 105—122, 1970.
 - 9) 古屋聖児：睾丸機能の研究(第6報) ヒト血液—睾丸(精巣)関門の電顕的研究 (lanthanum-trace 法および Freeze-etching 法)。日泌尿会誌, 66, 829—855, 1975.
 - 10) Tindall, D.J., Vitale, R. and Means, A.R.: Androgen binding protein as a biochemical marker of formation of the blood-testis barrier. *Endocrinology*, 97, 636—648, 1975.
 - 11) Furuya, S., Kumamoto, Y. and Sugiyama, S.: Fine structure and development of sertoli junctions in human testis. *Arch. Androl.*, 1, 211—219, 1978.
 - 12) Tice, L.W. and Barnett, R.J.: The fine structural localization of some testicular phosphatases. *Anat. Rec.*, 147, 43—64, 1963.
 - 13) 横山正夫：精子形成過程の細胞化学。臨泌, 29, 849—852, 1975.
 - 14) Novi, A.M. and Saba, P.: An electron microscopic study of the development of rat testis in the first 10 postnatal days. *Z. Zellforsch.*, 86, 313—326, 1968.
 - 15) Gomori, G.: In microscopic histochemistry, principles and practice, p. 189, Univ. Chicago Press, Chicago, 1952.
 - 16) Wachstein, M. and Meisel, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH. *Am. J. Clin. Path.*, 27, 13—23, 1957.
 - 17) Fawcett, D.W.: Ultrastructure and function of the Sertoli cell. *Handbook of physiology, endocrinology* (ed. by Hamilton, D.W. and Greep, R.O.), Vol. 5, p. 21, Williams and Wilkins, Baltimore (1975).
 - 18) Chang, J.P., Yokoyama, M., Brinkley, B.R. and Mayashara, H.: Electron microscopic cytochemical study of phosphatases during spermiogenesis in Chinese hamster. *Biol. Reprod.*, 11, 601—610, 1974.
 - 19) Barham, S.S., Berlin, J.D. and Brackeen, R.B.: The fine structural localization of testicular phosphatases in man: The control testis. *Cell Tiss.*, 166, 497—510, 1976.
 - 20) Chakraborty, J. and Nelson, L.: Organization and redistribution of adenosine triphosphatase during spermiogenesis in the mouse. *Biol. Reprod.*, 10, 85—97, 1974.
 - 21) Novikoff, A.B. and Goldfischer, S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 47, 802—810, 1961.
 - 22) Allen, J.M. and Slater, J.J.: A cytochemical study of Golgi associated thiamine pyrophosphatase in the epididymis of the mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 9, 418—423, 1961.
 - 23) 齊藤多久馬, 松下正也：ゴルジ装置の細胞化学。生体の科学, 31, 12—21, 1980.
 - 24) Tang, X.M., Lalli, M.F. and Clermont, Y.: A cytochemical study of the Golgi apparatus of the spermatid during spermiogenesis in the rat. *Am. J. Anat.*, 163, 283—294, 1982.
 - 25) 犬浦親善, 年森清隆：哺乳類の精子進入。細胞, 12, 82—91, 1980.
 - 26) Gravis, C.J., Yates, R.D. and Chen, I.: Light and electron microscopic localization of ATPase in normal and degenerating testes of Syrian hamsters. *Am. j. Anat.*, 147, 419—431, 1976.
 - 27) Chakraborty, J. and Nelson, L.: Adenylate cyclase in mouse testis. *Biol. Reprod.*, 20, 131—139, 1979.
 - 28) Josso, N., Picard, J.Y. and Tran, D.: The antimüllerian hormone. *Rec. Progr. Horm. Res.*, Vol. 33, (ed. by Greep, R.O.), p. 117, Acad. Press (1977).
 - 29) Russell, L.: Movement of spermatocytes from the basal to the adluminal compartment of the rat testis. *Am. J. Anat.*, 148, 313—328, 1977.
(1986年10月22日受理, 特別掲載)