

氏名(本籍)	とも まさ ひろし 友 政 宏 (東京都)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 乙 第 900 号
学位授与年月日	平成 5 年 6 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
審査研究科	医 学 研 究 科
学位論文題目	ラット精巣上体におけるシステインプロテアーゼの局在に関する研究
主 査	筑波大学教授 医学博士 河 野 邦 雄
副 査	筑波大学教授 医学博士 大 塚 藤 男
副 査	筑波大学教授 医学博士 小 山 哲 夫
副 査	筑波大学教授 医学博士 村 上 正 孝
副 査	筑波大学教授 医学博士 渡 邊 照 男

## 論 文 の 要 旨

### 〈目的〉

精巣上体管は、精巣を出た精子を精管に運ぶ1本の管状の器官である。その長さは3~4mに及び、精子の運搬および貯留の場としての働きのみならず、精巣機能として重要な精子に運動能や受精能を賦与する場として、また余剰の精子を吸収する場としても働く。本研究は、精巣上体上皮細胞からの分泌物や内容物の吸収によって精巣上体管内の環境が整えられることが精子の成熟や精子の吸収過程などの精巣上体機能にとって重要であるとの認識のもとに、精巣上体上皮細胞の蛋白代謝に特に深く関与するリソゾームのシステインプロテアーゼの局在及びその活性の分布を免疫組織化学的かつ生化学的に検討した。また実験的な精路閉塞モデルを用いて、これらのシステインプロテアーゼの活性の分布とその変動を検索した。

### 〈対象と方法〉

実験動物として13週齢のWistar系雄ラットを用いた。免疫組織化学的検討はABC法により、1次抗体としてウサギ抗ラットカテプシン抗体、2次抗体としてビオチン化ヤギ抗ウサギIgG抗体を用い、DABで発色させた。酵素活性はZ-Arg-Arg-MCA(カテプシンB)、Arg-MCA(カテプシンH)、Z-Phe-Arg-MCA(カテプシンL)をそれぞれ特異基質とし、それぞれの酵素の作用で遊離したaminomethylcoumarinを蛍光分光光度計で測定することにより決定した。病的状態の作製には9週齢の雄ラットを用い、手術操作の4週間後(13週齢)に正常ラットと同様の免疫組織化学的検討を加えた。

### 〈結果と考察〉

正常ラットの免疫組織化学的な検討では、カテプシンBは精巣上体の頭部側に多く分布し、特にそ

の主細胞の核上部に豊富な顆粒状の陽性反応として認められた。それに対してカテプシン H は精巣上体の尾部に多く分布し、特に明調細胞の核周囲に強い局在が観察された。カテプシン L は間質のマクロファージに強い反応が観察され、精巣上体の一部の上皮の細胞質内にびまん性の反応として観察されるのみであった。

正常ラットの精巣上体上皮の酵素活性測定では、免疫組織化学的検討と一致して、頭部にカテプシン B が、尾部にカテプシン H の強い活性がみられた。また精漿液中にはカテプシン L の活性がみられ、精巣又は精巣上体上皮からの分泌によるものと考えられる。

精管結紮ラットの精巣上体では、尾部におけるシステインプロテアーゼの分布に変化はみられなかったが、頭部においてこれらの酵素の免疫反応の増強が認められた。これは排泄路を失った精子の一部がこの部位で分解吸収されている可能性を示唆するものと思われる。

精巣を除去したラットでは、精巣上体の萎縮がみられ、構成上皮の数の減少が顕著であった。システインプロテアーゼの免疫反応性も低下し、一部の上皮では自己融解像に一致してカテプシン B および L の強い反応性が見られた。テストステロンの消滅による精巣上体上皮の吸収作用の低下と細胞の壊死によるものと推測される。

精巣輸出小管の結紮では精巣を温存したまま精巣上体への精子の流入を阻止することができ、精巣高位固定術では一過性に精巣上体内の無精子状態をつくり出すことができる。こうして作り出された無精子状態の精巣上体では、頭部にカテプシン B, H, L の免疫反応性の増強がみられるが、尾部における明調細胞のカテプシン H の明調細胞特有の免疫反応は失われていた。

以上の結果から、ラット精巣上体上皮におけるシステインプロテアーゼの分布には明らかな heterogeneity が存在し、精巣上体管の通過性や管内の精子の有無、テストステロンの作用によって変化することが明らかにされ、さらにこれらの酵素の局在の違いはそれぞれが分解する基質の違いによることが示唆された。

## 審 査 の 要 旨

精子は曲がりくねった精巣上体管を通過する間に、運動能と受精能を獲得して精子として成熟する。本研究は精巣上体の精子成熟に果たす役割が頭部側上皮と尾部側上皮で特徴的差異を有することを免疫組織化学的、生化学的に、正常および実験モデル動物を用いて蛋白代謝の側面より詳細な検討を試みた価値の高い論文である。ここに見いだされた事実は男子不妊症などの原因を究明する上で常に考慮すべき重要な問題を含んでおり、臨床医学的にも注目される。以上より本論文は学位論文として十分に評価できるものと判断した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。