

氏名	諸井誠司
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2240号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Occludin is concentrated at tight junctions of mouse/rat but not human/guinea pig Sertoli cells in testes (オクルディンはマウス, ラットの精巣セルトリ細胞間のタイト・ジャンクションに濃縮しているが, ヒト, モルモットのそれには認められない)
論文調査委員	(主査) 教授 中村憲夫 教授 塩田浩平 教授 小川 修

### 論文内容の要旨

精巣では, 間質(血液)と精細管内の体液組成がかなり異なることから, 精細管内を精子の発生に適した環境に保つための「血液精巣関門(Blood-testis barrier; BTB)」と呼ばれる特殊な構造が想定されてきた。トレーサーを用いた形態学的研究などから, セルトリ細胞間のタイト・ジャンクション(TJ)が, BTBの主な場であるといわれている。しかし, その分子構造はほとんど明らかにされていなかった。

TJの膜蛋白として初めてオクルディン(Oc)がクローニングされ, その分布が調べられた結果, ほぼすべての臓器の上皮や内皮のTJに局在することがわかった。そこで, OcはTJにおいて何らかの重要な役割を果たしていると予想され, 精巣のBTBでも当然Ocの局在が期待された。

そこで本研究ではまず, Ocの特異抗体を用いてマウス, あるいはラットの精巣を免疫染色して, その局在を検討してみた。すると, Ocは果たしてセルトリ細胞間に, TJに局在する裏打ち蛋白であるZO-1と同様に強く濃縮していることが認められ, 更に免疫レプリカ法にて確かに他の組織と同様に, セルトリ細胞間のTJ strand上に局在していることが示された。セルトリ細胞間以外でも, 間質の毛細血管の一部にもOcは認められた。ウエスタン法ではOc特有のリン酸化による~65 kDaのmultiple banding patternが認められ, 他臓器同様, 高度にリン酸化された分子はNP-40不溶画分に含まれていた。また, これまで電子顕微鏡上で指摘されてきたTJ strandの変化と同様に, 精細管の発達に伴ってOcはセルトリ細胞の側面に点状に存在していたものが, 基底膜側に線状に濃縮してくることが示された。

このため, Ocは他臓器同様精巣においてもそのTJ(BTB)において何らかの役割を果たしているであろうと予想された。しかし, 興味深いことに, その一方で同じ様なBTBを有するヒト, モルモットの精巣を, それらのOcを認識するはずの抗体を用いて染色してみたところ, セルトリ細胞の間にZO-1は認められたが, Ocはほとんど発現していなかった。抗原のマスキングの可能性もあったため, ウエスタン法を行ったが, マウスでは精巣のOcの発現は腎臓のそれと比べると遜色ないのに対し, やはりモルモットでは精巣でのOcの発現は腎臓に比べ遙かに弱かった。

このことは, TJに普遍的に存在すると思われていたOcが実はTJの構成膜蛋白のうちの1つでしかなく, 少なくとも精巣においては他に1種類以上の膜蛋白が存在し, OcなしでもBTBとしての機能を有していることが強く示唆された。その(新規)蛋白は, (1)OcなしでTJ strandを形成する, (2)ZO-1と直接あるいは間接的に相互作用する, (3)マウスやラットの精巣で見られたように, Ocと相互作用するなどの特徴を持っているであろうと予想された。

## 論文審査の結果の要旨

精巣には、精細管内を精子の発生に適した環境に保つため「血液精巣関門 (Blood-testis barrier; BTB)」と呼ばれる特殊な構造が想定されてきた。形態学的研究から、セルトリ細胞間のタイト・ジャンクション (TJ) が、BTB の主な場であるといわれている。しかし、その分子構築はほとんど明らかにされていなかった。

TJ の膜蛋白として初めてオクルディンがクローニングされ、その分布を調べられた結果、ほとんどの臓器の上皮や内皮の TJ に局在することがわかった。そこで、オクルディンは TJ において何らかの重要な役割を果たしていると予想され、精巣の BTB でも当然オクルディンの発現が期待された。

本研究において、オクルディンの特異抗体を用いてマウス、あるいはラットの精巣を免疫染色すると、セルトリ細胞間に強く濃縮していることが認められた。また、これまでの形態学的研究で知られていたように、精細管の発達に伴ってオクルディンはセルトリ細胞の基底膜側に濃縮してくることが示された。しかし予期せぬことに、その一方で同じく BTB を持つヒト、モルモットの精巣を同様に染色してみたところ、セルトリ細胞の間にはほとんどその発現が見られなかった。

以上の研究は、オクルディンは必ずしも普遍的に TJ に存在するのではなく、他にも TJ を構成する膜蛋白が少なくとも 1 つは存在することを示しており、TJ の理解をより深めることに寄与している。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 2 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け合格と認められたものである。