

【目的】 哺乳動物の精巣で形成される精子は、次世代の個体発生を担う配偶子である。精子が精子幹細胞から適切に分化するためには、体細胞であるセルトリ細胞の支持機能が必須である。セルトリ細胞は上皮細胞であり、互いに接着することによって密着結合を主要構造とする血液精巣関門を形成する。セルトリ細胞間の密着結合が精子形成において重要な役割を担うことはマウスをモデルとした研究によって示唆されているものの、どのようなメカニズムで精子形成を制御するのかについては未だに明らかにされていない。筆者は、セルトリ細胞間の密着結合の構成分子であるクローディン-11 を欠損させたマウスを用いて解析を行い、クローディン-11 が精細管の基底膜上に存在する分化型精祖細胞の生存・維持に必要であることを見いだした。本研究では、分化型精祖細胞の増殖を促すことが知られている幹細胞因子 (Stem cell factor : SCF) に着目し、分化型精祖細胞の生存・維持がクローディン-11 によって制御される仕組みを理解することを目的とした。

【方法】 本研究では、セルトリ細胞における SCF の局在を免疫組織化学的に検討した。セルトリ細胞が発現する SCF の正確な局在を明らかにするために、抗悪性腫瘍剤であるブスルファン (44 mg/kg) をマウスに投与することによって生殖細胞系列の造精細胞を除去し、精細管にセルトリ細胞のみ存在する精巣を用いて解析を行った。ブスルファン処理した精巣を固定し、作製したパラフィン切片の免疫蛍光染色を行い、セルトリ細胞における SCF の局在を調べた。同様に、ブスルファン処理したクローディン-11 欠損マウスの精巣から作製したパラフィン切片を用いて免疫蛍光染色を行い、クローディン-11 が SCF の局在を制御するかどうかを調べた。さらに、セルトリ細胞だけでなく、極性化した上皮細胞において SCF がどのように局在するかを調べるために、C 末端に HA タグを付加した膜貫通型 SCF (SCF-HA) を安定発現させた培養上皮細胞 (イヌ腎臓上皮由来の MDCK II 細胞) を樹立し、免疫蛍光抗体法により SCF-HA の局在を調べた。

【結果】 ブスルファン処理により造精細胞を除去した精巣切片の免疫蛍光染色を行ったところ、造精細胞非存在下でも、密着結合の構成分子 (ZO1) は基底膜近傍のセルトリ細胞間の接着部位に局在していた。SCF もまた、セルトリ細胞間接着部位に集積していた。さらに、クローディン-11 を欠損したセルトリ細胞では、その SCF の集積が消失することがわかった。また、MDCK II 細胞に安定発現させた SCF-HA は、ラテラル膜に局在していた。以上の結果は、SCF が基底区画 (セルトリ細胞間の密着結合と基底膜によって挟まれた区画) に集積し、その局在がクローディン-11 によって制御されることを示唆する。

哺乳動物における精細管内の模式図

