

松尾祐三 論文内容の要旨

主論文

Immunohistochemical Analysis of Connexin43 Expression in Infertile Human Testes

男性不妊症患者の精巣組織における Connexin43 発現の免疫組織学的解析

松尾 祐三、野俣 浩一郎、江口 二郎、青木 大勇、林 徳真吉、菱川 善隆、
金武 洋、柴田 義貞、小路 武彦

ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA, 40 巻, 3 号, 69-75, 2007 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：金武 洋 教授)

緒言

不妊症の原因は約 50%が男性因子であり、その約半数が特発性造精機能障害である。精子形成過程において、精細胞とその支持細胞である Sertoli 細胞間の相互作用は必須であり、細胞間結合が重要な役割を果たしていると考えられている。細胞間結合の一つの様式であるギャップ結合は、細胞間の興奮の伝達や物質の移動に関与すると共に、細胞の分化と増殖、組織の恒常性維持のために重要な役割を果たしている。コネキシン 43 (Cx43)は、様々な組織においてギャップ結合を構成する主要な蛋白である。精巣でも精細胞、Sertoli 細胞及び Leydig 細胞で発現し、また Cx43 欠損マウスでは精子形成不全が起こることから、ギャップ結合が Sertoli 細胞と精細胞間の相互作用に深く関与していることが示唆されている。しかしながら不妊症患者における Cx43 蛋白の発現動態と造精機能状態については不明である。

このため、本研究では男性不妊と診断された患者精巣標本を用いて、Cx43 蛋白の発現動態と、精子形成能の評価法である Johnsen's score count (JS)との関連を検討することにより、ヒト精巣におけるギャップ結合と造精機能障害との関連について検討した。

対象と方法

本研究倫理委員会の承認を得て、患者の同意を得た検体を用いた。病理検体として、乏精子症、無精子症患者の精巣生検検体のうち、29 症例（平均 31.5 歳）を対象とした。

検体は病理学的に、germ cell aplasia 4 例(平均 JS 値 2.14)、maturation arrest 13 例(平均 JS 値 5.36)、hypospermatogenesis 3 例(平均 JS 値 8.84)、normal spermatogenesis (平均 JS 値 8.66)に分類し使用した。また正常検体として、前立腺癌患者 3 例 (70~75 歳) の摘出精巣の一部を用いた。検体は、ブアン固定液及び 4%パラホルムアルデヒド/リン酸緩衝液(4%PFA) (pH 7.4) で固定し、パラフィン包埋し、5 μ m の連続切片を作成した。検体組織の病理組織学的分類及び、JS による精子形成段階の評価はヘマトキシリン・エオジン染色により行い、Cx43 蛋白の発現は免疫組織化学により検討した。精巣組織における Cx43 蛋白の発現量は、画像解析装置を用い定量的に検討した。

結果

正常な精子形成を示すヒトコントロール精巣では、Sertoli 細胞間、Sertoli 細胞と精祖細胞または精母細胞間、Leydig 細胞間において Cx43 蛋白の発現が見られた。不妊患者精巣で正常な精子形成または、hypospermatogenesis を示す検体において同様の発現が見られた。しかし maturation arrest を示す精巣では、Cx43 蛋白の発現が減少し、その局在も正常な精子形成を示すものに比べ、Sertoli 細胞において管腔側から基底側へと局在の変化が見られた。Cx43 蛋白発現の定量的解析では、精子形成過程の段階を示す JS と Cx43 蛋白発現量に正の相関が見られた。($p=0.0294$)

考察

本研究では、正常及び造精機能障害を示す精巣における Cx43 の発現動態を検討した。造精機能障害を示す精巣において、Sertoli 細胞での Cx43 蛋白の発現低下と局在の変化が認められ、Cx43 の発現量は精子形成段階を示す JS と相関した。しかし Leydig 細胞での Cx43 の発現量は JS との相関を示さなかった。これらの結果から、Sertoli 細胞間及び Sertoli 細胞と精細胞間における Cx43 の発現の維持がヒト精子形成に関与していることが示唆された。また農薬などの化学物質は、Sertoli 細胞のギャップ結合を障害し、精子形成に影響を与えることが示唆されている。Cx43 は精巣におけるギャップ結合の主要蛋白であることから、造精機能障害を示す精巣では、Sertoli 細胞、精細胞における Cx43 の発現の異常がギャップ結合の構造に障害を与え、結果として精子形成が阻害されている可能性が示唆された。