



Expression and Distribution of Laminin Chains in the Testis for Patients With Azoospermia

大場, 健史

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2009-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙3061

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003061>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名 大場 健史
博士の専攻分野の名称 博士（医学）
学 位 記 番 号 博ろ第 3061 号
学位授与の要 件 学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与の日 付 平成 21 年 3 月 31 日

【 学位論文題目 】

Expression and Distribution of Laminin Chains in the Testis for Patients With Azoospermia(ヒト
造精機能障害における精細管 Laminin 発現の意義)

審 査 委 員

主 査 教 授 丹生 健一
教 授 上野 易弘
教 授 伊藤 智雄

(論文博士関係)

学位論文の内容要旨

Expression and distribution of laminin chains in the testis for patients with azoospermia

ヒト造精機能障害における精細管 Laminin 発現の意義

(指導教員：神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻 藤澤 正人 教授)

大場 健史

内容要旨

造精機能障害を持つ患者の精巢において精細管の形態に異常を認めることが一般的に知られているが、造精機能障害と精細管基底膜の厚さの相関を検討した報告は極めて少ない。我々は精細管基底膜の肥厚に糖蛋白成分 laminin が関与していると考え、造精機能障害の程度にて精細管基底膜の厚さ及び精細管径と laminin の発現について検討し、さらに造精機能障害と laminin の発現についても検討した。laminin は α 、 β および γ 鎮の三重合体であり、 α 鎮には 5 種類、 β 鎮には 4 種類、 γ 鎮には 3 種類の形態があり現在 15 種類の laminin 重合体が特定されている。ヒト精細管への各種 laminin の発現を調べ、laminin の造精機能への関与を明らかにした。

対象と方法：不妊を主訴に来院し、無精子症と診断された患者において、顕微鏡下精巢生検を施行した 33 例につき検討した。精巢容量をオーキッドメーターにて測定し、血中ホルモン値 (FSH, LH, T, PRL, E2) に関しても比較検討を行った。また生検時に採取した精細管を臨床病理学的に sertoli cell only (SCO 群 : Johnsen's score 1-2, 15 例), maturation arrest (MA 群 : Johnsen's score 4-6, 9 例), obstructive azoospermia (OA 群 : Johnsen's score 8-10, 9 例) の 3 群に分類し、HE 染色にてそれぞれの精細管基底膜の厚さと精細管の最大径に関して顕微鏡を用いて測定し比較検討した。この際、各切片より 10 精細管をランダムに選んで、統計学的に処理した。また精細管基底膜における laminin サブタイプの発現を免疫組織化学的に精査した。Laminin が発現した総面積を精細管断面積で除した値を laminin index と規定し、各群間で比較検討した。精漿中の laminin 濃度についても ELISA 法にて測定し各群間で比較した。

結果：精巢容量に関しては SCO 群でほかの 2 群に比べて有意に低下を認め、血中ホルモンにおいては FSH のみが SCO 群で有意に高値を示した。精細管基底膜の厚さは、SCO 群 13.2 ± 0.4 ($\text{平均} \pm \text{SE}$) μm 、B 群 $11.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 、C 群 $7.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であり、各群の間すべてに有意差を認めた。 $(p < 0.01)$ また精細管最大径については SCO 群 $156.9 \pm 6.7 \mu\text{m}$ 、MA 群 $223.9 \pm 7.6 \mu\text{m}$ 、OA 群 $236 \pm 5.2 \mu\text{m}$ であり、SCO-MA 群間、SCO-OA 群間では有意差を認めた $(p < 0.01)$ が MA-OA 群間では有意差を認めなかった。 $(p = 0.15)$ また精細管基底膜の厚さは精細管径と負の相関を示し、FSH 値と正の相関を示した。Laminin サブタイプの免疫組織化学的検討では、laminin サブタイプのうち、ヒト精細管基底膜の内側に $\beta 2$ 鎮が強く発現した。また $\alpha 1$ および $\gamma 1$ 鎮も弱くではあるが発現した。SCO 群では他群と比較し $\beta 2$ 鎮は特に強く発現した。免疫染色にて染まった面積から導き出した laminin index は $\beta 2$ において SCO 群では他群と比較し有意に高いという結果であった。また $\alpha 1$ においては SCO 群と OA 群との間に有意差を認めたが SCO 群と MA 群との間には有意差が無かった。 $\gamma 1$ においては各群間の laminin index に有意差は出なかった。精漿

中の laminin 濃度については、OA 群で最も高く以下 MA 群、SCO 群の順であった。OA 群と MA 群、OA 群と SCO 群の間には有意差を認めた。

考察：細胞外基質は多くの生物学的活性を持っており、細胞間の調整や固定において重要な役割を果たしている。しかしヒトの男性生殖に関わる機能や病理学的变化を検討した報告は少ない。今回検討した細胞外基質の一つ laminin は精細管基底膜においてコラーゲンの重合には欠かせない重要な働きを持っている。我々は laminin β 2 鎮が Johnsen's score に逆相関して発現することを証明した。特に SCO 群では β 2 鎮は強発現した。すなわち精細管への laminin の過剰発現は男性不妊患者において造精機能障害に起因するものと考えられた。laminin 鎮は精細管基底膜の内側のみに発現し外側には発現しないこともこの度判明した。一般的に Sertori 細胞が laminin やコラーゲン IV を生産することが知られているが、精細管内側の免疫活性が低いと Sertori 細胞から laminin 蛋白が十分に合成されない。今回指摘した SCO 群での精漿内 laminin 濃度の有意な低下は、細胞外基質へのコラーゲン・ファイバー等 (laminin を含む) が沈着したことにより正常な精子形成の過程が阻害された結果起きたものと言えるかもしれない。それ故男性不妊患者において精漿内 laminin 濃度を測定することが精巢組織変性の予測因子となるといえ、同時に laminin 以外の多くの細胞外基質を構成する成分を測定することで男性不妊解明への手がかりとなる可能性が示唆された。

結論：ヒト精巢の精細管基底膜には laminin β 2 鎮が一番多く発現しており、少量ではあるが α 1 および γ 1 鎮も発現するということを証明した。 β 2 鎮の過剰な発現は精細管基底膜の異常な肥厚と関連しており、造精機能の低下にも影響を及ぼすことが考えられた。

Expression and distribution of laminin chains in the testis for patients with azoospermia

ヒト造精機能障害における精細管 Laminin 発現の意義

内容要旨

造精機能障害を持つ患者の精巢において精細管の形態に異常を認めることが一般的に知られているが、造精機能障害と精細管基底膜の厚さの相関を検討した報告は極めて少ない。我々は精細管基底膜の肥厚に糖蛋白成分 laminin が関与していると考え、造精機能障害の程度にて精細管基底膜の厚さ及び精細管径と laminin の発現について検討し、さらに造精機能障害と laminin の発現についても検討した。laminin は α 、 β および γ 鎌の三重合体であり、 α 鎌には 5 種類、 β 鎌には 4 種類、 γ 鎌には 3 種類の形態があり現在 15 種類の laminin 重合体が特定されている。ヒト精細管への各種 laminin の発現を調べ、laminin の造精機能への関与を明らかにした。

対象と方法：不妊を主訴に来院し、無精子症と診断された患者において、顕微鏡下精巢生検を施行した 33 例につき検討した。精巢容量をオーキッドメーターにて測定し、血中ホルモン値 (FSH, LH, T, PRL, E2) に関しても比較検討を行った。また生検時に採取した精細管を臨床病理学的に sertoli cell only (SCO 群 : Johnsen's score 1-2, 15 例), maturation arrest (MA 群 : Johnsen's score 4-6, 9 例), obstructive azoospermia (OA 群 : Johnsen's score 8-10, 9 例) の 3 群に分類し、HE 染色にてそれぞれの精細管基底膜の厚さと精細管的最大径に関して顕微鏡を用いて測定し比較検討した。この際、各切片より 10 精細管をランダムに選んで、統計学的に処理した。また精細管基底膜における laminin サブタイプの発現を免疫組織化学的に精査した。Laminin が発現した総面積を精細管断面積で除した値を laminin index と規定し、各群間で比較検討した。精漿中の laminin 濃度についても ELISA 法にて測定し各群間で比較した。

結果：精巢容量に関しては SCO 群ではかの 2 群に比べて有意に低下を認め、血中ホルモンにおいては FSHのみが SCO 群で有意に高値を示した。精細管基底膜の厚さは、SCO 群 13.2 ± 0.4 (平均士SE) μm 、B 群 $11.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 、C 群 $7.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であり、各群の間すべてに有意差を認めた。 $(p < 0.01)$ また精細管最大径については SCO 群 $156.9 \pm 6.7 \mu\text{m}$ 、MA 群 $223.9 \pm 7.6 \mu\text{m}$ 、OA 群 $236 \pm 5.2 \mu\text{m}$ であり、SCO-MA 群間、SCO-OA 群間では有意差を認めた ($p < 0.01$) が MA-OA 群間では有意差を認めなかった。 $(p = 0.15)$ また精細管基底膜の厚さは精細管径と負の相関を示し、FSH 値と正の相関を示した。Laminin サブタイプの免疫組織化学的検討では、laminin サブタイプのうち、ヒト精細管基底膜の内側に β 2 鎌が強く発現した。また α 1 および γ 1 鎌も弱くではあるが発現した。SCO 群では他群と比較し β 2 鎌は特に強く発現した。免疫染色にて染まった面積から導き出した laminin index は β 2 において SCO 群では他群と比較し有意に高いという結果であった。また α 1 においては SCO 群と OA 群

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第 2054 号	氏名	大場健史
論文題目 Title of Dissertation	Expression and distribution of laminin chains in the testis for patients with azoospermia		
ヒト造精機能障害における精細管 Laminin 発現の意義			
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner 副査 Vice-examiner 副査 Vice-examiner	丹生健一 上野易弘 伊藤一貴雄	

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

の間に有意差を認めたが SCO 群と MA 群との間には有意差が無かった。 $\gamma 1$ においては各群間の laminin index に有意差は出なかった。精漿中の laminin 濃度については、OA 群で最も高く以下 MA 群、SCO 群の順であった。OA 群と MA 群、OA 群と SCO 群の間には有意差を認めた。

考察：細胞外基質は多くの生物学的活性を持っており、細胞間の調整や固定において重要な役割を果たしている。しかしヒトの男性生殖に関わる機能や病理学的変化を検討した報告は少ない。今回検討した細胞外基質の一つ laminin は精細管基底膜においてコラーゲンの重合には欠かせない重要な働きを持っている。我々は laminin $\beta 2$ 鎮が Johnsen's score に逆相関して発現することを証明した。特に SCO 群では $\beta 2$ 鎮は強発現した。すなわち精細管への laminin の過剰発現は男性不妊患者において造精機能障害に起因するものと考えられた。laminin 鎮は精細管基底膜の内側のみに発現し外側には発現しないこともこの度判明した。一般的に Sertori 細胞が laminin やコラーゲンIVを生産することが知られているが、精細管内側の免疫活性が低いと Sertori 細胞から laminin 蛋白が十分に合成されない。今回指摘した SCO 群での精漿内 laminin 濃度の有意な低下は、細胞外基質へのコラーゲンファイバー等 (laminin を含む) が沈着したことにより正常な精子形成の過程が阻害された結果起ったものと言えるかもしれない。それ故男性不妊患者において精漿内 laminin 濃度を測定することが精巢組織変性の予測因子となるといえ、同時に laminin 以外の多くの細胞外基質を構成する成分を測定することで男性不妊解明への手がかりとなる可能性が示唆された。

結論：ヒト精巢の精細管基底膜には laminin $\beta 2$ 鎮が一番多く発現しており、少量ではあるが $\alpha 1$ および $\gamma 1$ 鎮も発現するということを証明した。 $\beta 2$ 鎮の過剰な発現は精細管基底膜の異常な肥厚と関連しており、造精機能の低下にも影響を及ぼすことが考えられた。

本研究はヒト造精機能障害について、その造精機能障害と精細管基底膜の厚さの相関を検討したものであるが、従来ほとんど行われなかつた精細管基底膜における laminin 発現の意義について重要な治験を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。