

## 腫瘍壊死因子 (TNF) の精巣における作用

本道栄一

獣医学科家畜解剖学助手

### 1. 緒言

腫瘍壊死因子(TNF)は, Meth A 肉腫に出血性壊死を引き起こす因子として, 1975年に Carswell らによって記載された分子量約 17 kDa の蛋白質である。TNF は, 腫瘍壊死, 細胞増殖, 分化誘導等, 生体において様々な作用を持っており, 雄の生殖腺に対しても, いくつかの報告がある。ラットに TNF を投与すると, 精子発生が停止し, 精上皮の退行が起こることが, Mealy らによって 1989 年に報告された。Hales らは, この精上皮の退行が, ステロイド合成阻害によって起こることを示唆している。現在では, TNF は常在性 macrophage によって産生され, Leydig 細胞に作用して, testosterone 合成阻害を引き起こすことが通説となっている。testosterone 濃度の低下による精子発生停止の実験モデルは, 下垂体除去術を施したラットに代表されるが, TNF による精上皮の退行は, このモデルと比べて, 時間的に極めて素早く起こる。このことは, TNF が精細胞に直接作用する可能性を示していると思われる。そこで今回, ラットの精巣を用いて, この可能性についての検討を試みた。

### 2. 材料と方法

10 週齢ラットを材料として用いた。ペントバルビタール (50 mg/kg) 麻酔下で, 9  $\mu$ g/kg の量の TNF を伏在静脈より投与し, 4 時間および 12 時間後にサンプリングを行った。右側精巣を採取し, ゲノム DNA の抽出を行った。左側精巣は, 胸大動脈よりブアン液にて灌流固定した。生理食塩水を投与した対照群についても同様の処理を施した。抽出した DNA は, 1 レーン当たり 5  $\mu$ g ずつ, 1% アガロースゲルにて電気泳動を行った。固定した精巣は常法に従い, パラフィン包埋後, HE 染色を行った。

### 3. 結果

光学顕微鏡による左側精巣の観察の結果, TNF 投与 4 時間後では対照群と比較して, いくつかの精細管で退行性変化が認められ (Fig. 1), 投与後 12 時間では多数認められた。投与後 12 時間でも, 対照群と比較して形態に変化がみられない精細管が数多く存在したが, 多くの精細管では, 精細胞の離脱が確認され, さらに, 精細管腔に

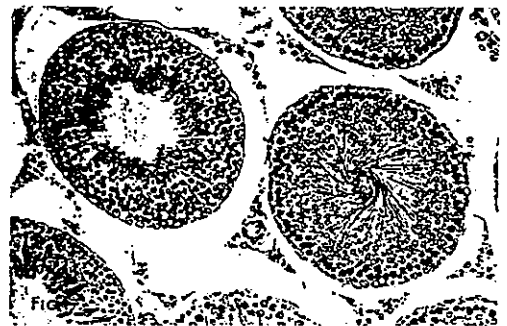


Fig. 1.

は離脱したと思われる精細胞が数多く認められた (Fig. 2)。また、いくつかの精細管では、上皮にエオジンで濃染される部分が存在した。ゲノム DNA の電気泳動の結果、TNF 投与後 4 時間ですでに DNA の分解が起きていた (Fig. 3) (レーン T)。投与後 12 時間でも同様の結果であった。

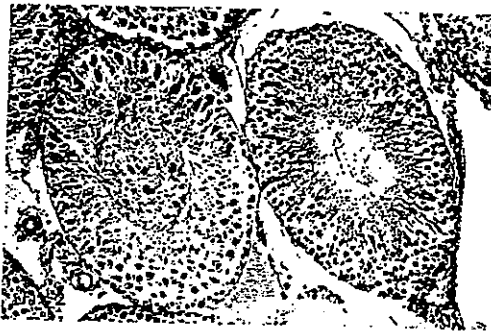


Fig. 2.

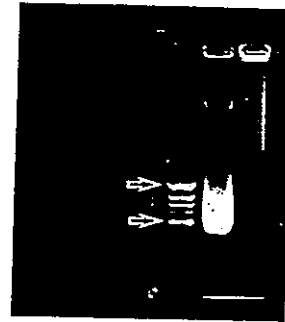


Fig. 3.

#### 4. 考 察

今回の結果からも、下垂体除去ラットと比較して、TNF 投与ラットではかなり早い時期 (4 時間後) から精細管の退行性変化が起こることが明らかとなった。精上皮の退行に関する実験モデルは、下垂体除去術の他に、精巣を腹腔内に戻す実験的停留精巣が挙げられる。この場合、精巣を腹腔内に戻してから約 1 日で精細管に形態学的な退行性変化が認められる。これは、最近の数々の報告から、精細胞の壊死ではなくアポトーシスであると位置付けられている。今回の光学顕微鏡での観察の結果、その形態は実験的停留精巣で起こる形態変化と類似していた。退行の速度が早いことを考えれば、TNF による精細胞の死は壊死ではなく、アポトーシスである可能性がある。ゲノム DNA の電気泳動では、TNF 投与群ではアポトーシスを起こした細胞で特徴的な梯子型 (DNA 断片) の泳動結果になるであろうという予想をたてていた。しかしながら、今回の結果では、DNA 断片は検出されなかった。最近の報告によれば、in vivo でアポトーシスを起こした組織から抽出したゲノム DNA 断片は、内因性の endonuclease によって消化され、必ずしも梯子型の泳動結果にはならないことがあるようである。TNF 投与 2 週間でも、Leydig 細胞や Sertoli 細胞に形態変化が認められないという報告から考えると、今回の電気泳動の結果は、精細胞由来であると思われる。今回の結果からは、TNF 処置によって、精細胞にアポトーシスが誘導されるかどうかを明らかにすることが出来なかった。今後、TUNEL 法による組織切片上でのアポトーシスの検出を行うとともに、精細胞を分離、培養下でのアポトーシス誘導を試みる予定である。

#### 5. 謝 辞

本研究の実施に際して、御助力を頂いた本学畜産管理学科家畜育種増殖学講座助教授宮本明夫先生ならびに獣医学科家畜解剖学講座会田恒彦君に感謝の意を表します。