

OII-03

成熟マウス精巣由来セルトリ細胞株を用いた *in vitro* 精子形成過程再現の試み佐藤 陽子^{1,2}, 菱川 善隆¹, 末松 貴史³, 岩本 晃明^{2,4}, 小路 武彦¹¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻生命医科学講座組織細胞生物学分野, ²聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室, ³長崎大学大学院医歯薬学総合研究科中央電子顕微鏡室, ⁴国際医療福祉大学病院リプロダクションセンター

【目的】セルトリ細胞は精細管内で唯一生殖細胞と直接接触している細胞であり、精細胞の分化は幹細胞である精原細胞とセルトリ細胞間の相互作用の上に成り立つと考えられている。しかしながら、セルトリ細胞と精原細胞の相互作用を介した精細胞分化機構についてはいまだ不明である。今回、成熟マウス精巣由来の新奇セルトリ細胞株 A31C4（第38回日本発生生物学会）を用いて、精細胞との共培養により、精細胞分化に対するセルトリ細胞の役割を明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法】生後5～6日齢のマウス精巣より白膜を除去した後、hyaluronidase, collagenase IV 処理により精細管より細胞を分離、その後 DNaseI 処理で細胞を分散させた後、A31C4 株 feeder layer 上で共培養を行った。また、A31C4 株と精細胞の非接触培養には、cell culture insert を用いて共培養を行った。一定期間培養後、共培養した細胞を回収し、光学顕微鏡及び透過型電子顕微鏡を用いて、精細胞の分化段階の検討を行った。さらに、精細胞に BrdU を取り込ませ、細胞の追跡を行った。

【結果】未分化な精原細胞は、A31C4 株との共培養により、培養開始2～3日後には細胞間橋を形成し増殖をはじめ、7～10日後には精母細胞に分化し、2～3週間後には円形精子細胞に分化することが明らかとなった。A31C4 株との非接触共培養を行った時には、精原細胞は1回分裂し、最大2細胞間の細胞間橋を形成したが、それ以上の分裂及び分化は認められなかった。

【考察】細胞間橋の形成及び維持には、セルトリ細胞との接触が重要であること、未分化精原細胞から円形精子への分化誘導にセルトリ細胞の必要性が示唆された。

OII-04

ADP リボシル化阻害による ApoB 分泌抑制

大崎 雄樹, 程 晶磊, 鈴木 倫毅, 藤本 豊士

名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学分野

脂質エステルのコアと磷脂質一重膜から成る脂肪滴 (LD) は細胞質に存在し、肝細胞 ER 内腔では LD 由来脂質成分が MTP 活性により ApoB と結合して VLDL 合成が行われる。肝癌由来細胞株 Huh7 では ApoB を含む ER の垂領域が LD に密着した構造 (ApoB-crescent) が観られる (Ohsaki et al., MBC 17, 2674, 2006; JCS 121, 2415, 2008)。同構造はプロテアソーム/オートファジー阻害などで増加し、一方 MTP 阻害剤処理により減少したことから、脂質付加された ApoB が ER に貯留することにより形成されと考えられる。

我々は ApoB-crescent が BFA 5 µg/ml, 12 時間処理で顕著に増加し、電顕的には大きく広がった ER 内腔に存在する LD が出現することを見出した。Arf1 (T31N) 変異体発現でも ApoB-crescent は増加したことから、これらは Arf1 依存性の小胞輸送が障害されたために生じた結果と考えられた。一方、ごく低濃度 (0.1 µg/ml), 短時間 (15 分) の BFA 処理によっても ApoB-crescent の増加が認められ、逆に BFA の ADP リボシル化作用を阻害する薬剤 (MIBG, クマリマイシン, NAM) 処理によって ApoB-crescent 形成が抑制された。比較的低濃度 (10-25 µM) の MIBG 処理ではトランスフェリン, アルブミン, α1-AT の分泌は保たれたが ApoB 分泌は顕著に抑制された。これらの結果は ApoB 分泌経路を特異的に制御する機構があり、しかもその機構が LD と関連する可能性を示唆した。MIBG の分子的な作用機序について検討中である。