

### 3. 人精子に関する研究

#### 3-a 造精能力に対する加温の効果

帝京大学医学部泌尿器科学教室

和久正良・石田克美

##### 研究目的

成熟した哺乳動物の場合、その造精機能は体温より若干低い方が高まることが知られている。例えば、腹腔内に人工的に成熟した睾丸を停留させて高温条件下に放置することにより、その睾丸は体積、重量ともに減少し、さらに組織学的観察により明瞭な精子の脱落現象を認める。<sup>1,2</sup> 周知の如く、睾丸での造精過程は、精原細胞を出発点として段階的に進行するが、この過程は生化学的にながめると、DNA、RNA 及びタンパク質の合成をともなって進行するものであるが、高温条件下では、成熟した睾丸での著しいタンパク質合成能の低下が認められている。この現象は成熟した睾丸に特有なものであって、未熟な睾丸や他の一般的な臓器に於ては認められないものであり、睾丸内の精子細胞についてのみ認められているものである。<sup>1,2</sup> 従って高温条件下での造精能の低下現象は、精子細胞でのタンパク質合成能の低下に起因するものであろうことが考えられるので、精子細胞でのタンパク質合成機能を解明することが、造精能低下を回避、あるいは防止するにあたっての有力な手段を把握するため必要なことと考えられる。高温条件下でのタンパク質合成能の低下現象の解明は、中村らによりかなり進行しており、現在、タンパク質合成の initiation の段階が加熱により block されることが明らかになって来ている。<sup>3</sup> 精子細胞でのタンパク質合成には、他の細胞や組織には見られない、もう一つの特徴がある。それは glucose に対する特異的な要求性である。<sup>1</sup> 即ち、in vitro でのタンパク質合成には glucose の存在が必要となっている点である。タンパク質合成にはエネルギーが必要であるが、それは通常解糖系並びに E. T. S 系から得られる ATP を消費して行なわれる。そこで本研究は、glucose そのものが要求されているのか、それとも最終生産物である ATP が要求されているのかについての実験を行ない、精子細胞でのタンパク質合成と呼吸との関係の一端を明らかにしようとした。

##### 研究と方法

雄性 Wister 系ラット、50~60日令のもの4匹を断頭し、両側睾丸を摘出し、collagenase で処理後、牛血清アルブミン1~3%のlinear gradient に apply して精子細胞のみを得た。cell-free系が必要な場合は、得られた精子細胞にD. D. Wを加えて20分間放置することにより得た。

反応系は、試験管1本当たり、約 $8 \times 10^5$ 個の精子細胞及び $1 \mu\text{Ci}$ の $^3\text{H}$ -leucineをpH 7.4のPBSに懸濁したものとし、必要によりこれらにさらに10mMのglucoseあるいは適当量のATP、もしくはATP産生のinhibitorを加えた。ATP産生のinhibitorとして今回は、2,4-dinitrophenol (DNP), rotenone及びantimycin Aを用いた。

タンパク質合成反応は、反応系に $^3\text{H}$ -leucineを加えないで $34^\circ\text{C}$ にて2分間preincubationを行ない、 $^3\text{H}$ -leucineを加えてさらに20分間incubationして行なった。反応の停止は氷冷10%TCAを等量加えることにより行ない、得られた沈澱をミリポアフィルター上に集め、さらに氷冷10%TCAで3回洗浄後、 $^3\text{H}$ -leucineの取り込み量を液体シンチレーションカウンターにて測定した。又、Lowryらの方法によりタンパク質を定量し、<sup>4</sup>取り込み量とからタンパク質合成能を算出した。

##### 研究結果並びに考察

図1に示した如く、精子細胞でのアミノ酸のタンパク質分画への取り込みはglucose存在下ではcontrolの約5倍となる。しかしこれにATPのuncouplerであるDNPを加えると、ほぼcontrolと同程度まで取り込みが低下してしまう。さらに、タンパク質合成能はDNPの存在のみによって低下してしまうことがわかった。従ってDNPが存在することによって細胞内にいくらか含有されていたglucoseからATPが作られるという反応系が効率よく作動しないためにタンパク質合成が低下するのであろうことが考えられる。こ

のことから、エネルギーを供給してさえやれば精子細胞でのタンパク質合成が円滑に進行する性質のものであると考えられる。そこで glucose から ATP に到るまでの反応系を inhibitor を用いて block してやり、なおかつ最終産物である ATP を加えてみることで結論を得ることが出来る。

ATP 産生の直接の inhibitor である rotenone, antimycin A の精子細胞でのタンパク質合成に対する作用は、図 2, 3 に示した如くである。この場合いずれも cell-free 系を用いている。ATP の存在下では、inhibitor の作用はほとんど認められず、高いタンパク質合成能を示していることから、精子細胞でのタンパク質合成における glucose 要求性は、ATP 産生の必要性によるものであると考えられ高い呼吸が必要であることを思わせる。なお、本研究の一部は、第25回日本不妊学会学術総会にて発表した。

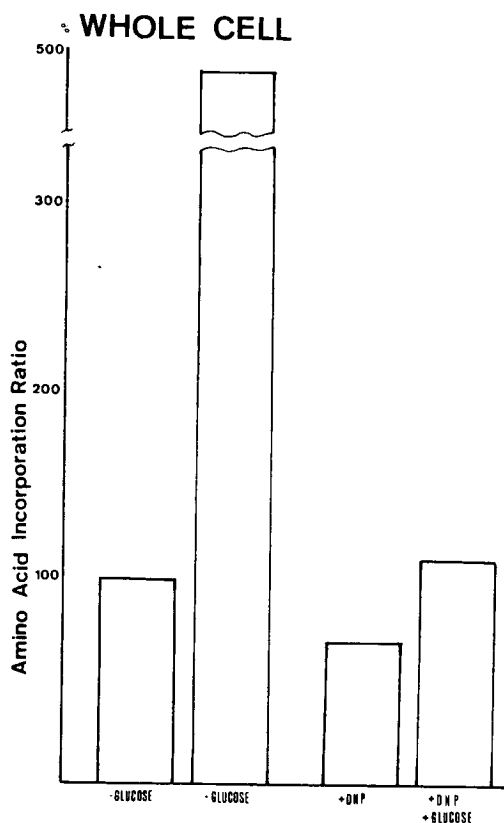
### 要 約

精子細胞でのタンパク質合成時の glucose に対する特異的な要求性は、glucose そのものに対する要求ではなく、glucose から解糖系を経て E. T. S 系に到るまでに産生される ATP が必要とされるのであり、精子細胞は高い呼吸を必要としていることが考えられる。

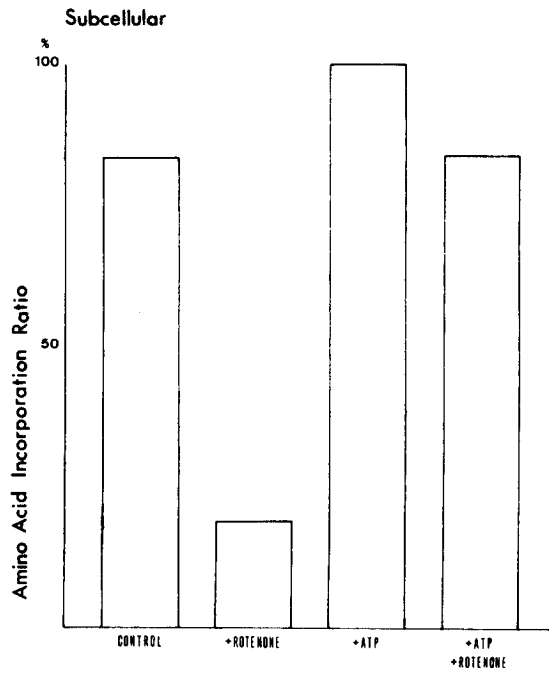
### 文 献

1. Nakamura, M. and Hall, P. F. '76. Biochem. Biophys. Acta. 447. 474~483
2. Nakamura, M., Hall, P. F. and Kato, J. '81. Febs. Letters. in press.
3. Nakamura, M. and Kato, J. '80. 日本動物学会第51回大会発表
4. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J, Farr, A.L. and Randall, R. J. '51. J. Biochem 193 265-245.

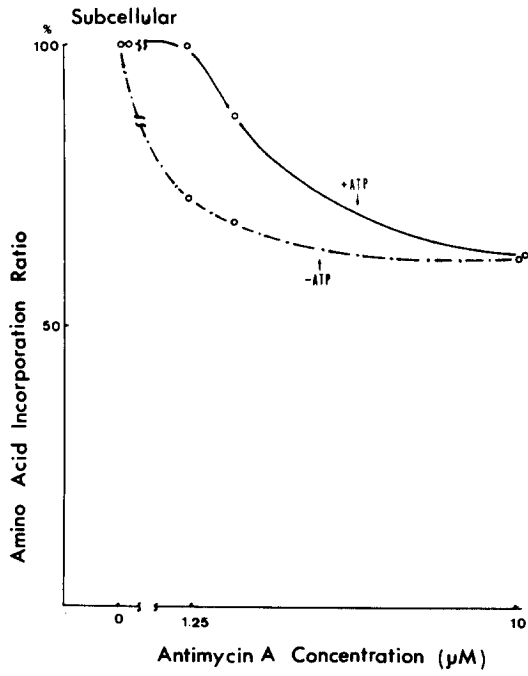
図-1



☒ - 2

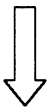


☒ - 3





**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



#### 要約

精子細胞でのタンパク質合成時の glucose に対する特異的な要求性は, glucose そのものに対する要求ではなく, glucose から解糖系を経て E.T.S 系に到るまでに産生される ATP が必要とされるのであり, 精子細胞は高い呼吸を必要としていることが考えられる。