

精巢セルトリ細胞株、ライディッヒ細胞株の DES 処理による微細形態変化とチロシンリン酸化亢進

前川眞見子、外山芳郎、湯浅茂樹
千葉大学大学院 医学研究院 形態形成学

diethylstilbestrol (DES)が精巢の機能に影響することはよく知られている。DES の作用メカニズムを解明するため、マウス精巢由来セルトリ細胞株 TM4 およびライディッヒ細胞株 TM3 を用いて in vitro 実験を行った。DES を 0、10、100ng/ml 添加した培地中で各細胞株を 7 日間培養した後、形態的、生化学的に解析した。その結果、光顕レベルでは DES 投与による差異は見られなかったものの、電顕観察により、DES 処理した細胞の粗面小胞体の内腔が、コントロールに比べ拡大していることがわかった。この変化は TM4 細胞においてより顕著に観察された。また、細胞から抽出した蛋白質について、それらのチロシンリン酸化の程度について抗リン酸化チロシン抗体を用いた二次元ウェスタンブロット法によって調べた。DES 処理した細胞ではチロシンリン酸化が全般的に亢進しており、特に約 38kDa の蛋白質のリン酸化の亢進が著明であった。この蛋白質は TM4 細胞にも TM3 細胞にも見られた。この蛋白質のリン酸化と粗面小胞体に見られた形態変化との直接的な関係はまだ不明であるが、特定の蛋白質のリン酸化が DES による精子形成阻害に関与していることが示唆された。

DES-Induced Changes in Ultrastructure and Protein Tyrosine Phosphorylation in Sertoli Cell- and Leydig Cell-Derived Cell Lines

Mamiko Maekawa*, Yoshiro Toyama and Shigeki Yuasa

Graduate School of Medicine, Chiba University, Japan

It has been demonstrated that diethylstilbestrol (DES) disturbs testicular functions in vivo. To examine action mechanisms of DES in vitro, we used a Sertoli cell line, TM4, and Leydig cell line, TM3, derived from mouse testes. Cells were cultured with or without 10 ng/ml DES for 7 days. No difference was observed between DES-treated and control cells by light microscopy. However, electron microscopic observation revealed that the lumen of the rough endoplasmic reticulum of the DES-treated cells was enlarged as compared with control cells. Furthermore, extracted proteins from the cells were examined to see the level of the protein tyrosine phosphorylation. Tyrosine phosphorylated proteins were detected in the cell extracts by two-dimensional immunoblot analysis using anti-phosphotyrosine antibody. The level of tyrosine phosphorylation was generally increased in the DES-treated cell extracts. Especially, tyrosine phosphorylation of one protein at about 38kDa was conspicuously increased in DES-treated cells compared with control. These results suggest that tyrosine phosphorylation of specific protein(s) may be involved in the defective spermatogenesis induced by DES treatment.