

【259】

氏 名（本籍）	しい 椎	な 名	ひろ 博	こ 子（京 都 府）
学 位 の 種 類	博	士（医	学）	
学 位 記 番 号	博	甲 第	4091	号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科			
学 位 論 文 題 目	アンドロゲン受容体の女性生殖器における役割			
主 査	筑波大学教授	理学博士	岡 村 直 道	
副 査	筑波大学助教授	博士（医学）	森 下 由紀雄	
副 査	筑波大学助教授	医学博士	島 居 徹	
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	沖 明 典	

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### （目 的）

雌性においてアンドロゲン受容体を介しアンドロゲンがいかなる作用をしているかを解明する。

### （対象と方法）

東京大学分子細胞生物学的研究所核内情報研究分野にて作成されたアンドロゲンレセプター（以下 AR）遺伝子組み換え ES 細胞を用いてアンドロゲンレセプターノックアウト（以下 ARKO）雌マウスを作出した。遺伝子型の確認にはサザンブロット，PCR 法を用いた。野生型雄との交配実験，ホルモン血中濃度，女性生殖器の肉眼所見および組織所見を野生型雌マウスと比較した。組織所見で差のあった卵巣についてはさらにウェスタンブロット，免疫組織化学染色，半定量的 RT-PCR，マイクロアレイ解析を行った。AR 標的遺伝子の探索のため野生型マウスに対するホルモン投与実験，KGN 細胞を用いたルシフェラーゼアッセイを行った。

### （結 果）

AR 組み換え ES 細胞から，凝集法を用いてキメラマウスを作出し，得られた AR<sup>fllox</sup> マウスと CMV-Cre マウスの交配により ARKO マウスを作出した。ARKO マウスはメンデルの法則の期待値に近い匹数で誕生し，成長は WT マウスと比較し差がなかった。雌性生殖器官の形成には肉眼的に異常を認めなかったが，生殖能を検討したところ，1 分娩あたりの産仔数が有意に少なかった。卵胞刺激ホルモン，黄体化ホルモン，エストロゲン，プロゲステロン濃度に有意差はなかった。8 週齢マウスの下垂体，子宮は組織学的に差がなく，卵巣においても 3 週齢では差が認められなかったものの，8 週齢卵巣で黄体数がやや減少し，閉鎖卵胞数が有意に増加していた。さらに 32 週齢で全段階の卵胞数の有意な減少と，閉鎖卵胞数の増加が認められ，40 週齢では卵胞が全て閉鎖した，いわゆる早発閉経（premature ovarian failure：POF）の状態に陥っていることが見出された。8 週齢卵巣を用いた半定量 RT-PCR では，卵胞発育，排卵，黄体化の既知マーカー遺伝子に発現差を認めなかった。このためマイクロアレイ法にて WT マウス卵巣をコントロールとして ARKO マ



ウス卵巢の遺伝子発現を網羅的に解析した結果、8週齢では卵巢局所の成長因子、KIT LIGAND（以下 KL）、BMP15、GDF-9 の発現が低下しており、3週齢ではこのうち KL のみ発現の低下が見られた。3週齢野生型マウスへDHT投与後、卵巢でKLの発現が上昇した。さらに、ヒト顆粒膜細胞株のKGN細胞を用いたルシフェラーゼアッセイで *Kit1* promoter の転写活性がアンドロゲンにより正の調節を受けていることを見出した。

#### （考 察）

KL は、卵巢顆粒膜細胞より分泌される成長因子であり卵母細胞の成熟を促進することが知られている。すなわちこれらの結果から、ARKO マウスで3週齢、あるいは更に早期の KL 発現異常が、後の卵胞発育異常、ひいては POF の原因となっている可能性が示唆された。POF は X 染色体異常との関連が報告されているがその原因遺伝子のすべてはいまだに明らかとなっていない。AR は Xq11-12 にマッピングされているため、POF の原因遺伝子のひとつであると考えられた。

#### （結 論）

アンドロゲンは女性においても必須なホルモンである。アンドロゲンは、AR を介して卵胞発育に必須な KIT LIGAND の発現を正に調節する。また、AR は POF の原因遺伝子のひとつである。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

アンドロゲン受容体 (AR) の遺伝子は X 染色体上に存在しており、ARKO 雄マウスは生殖不能であるため、これまで雌の AR 遺伝子ホモ接合体の作出は行なわれていなかった。本研究で先ず評価されるべきは、初めて雌 ARKO マウスの作出法を確立して、固体レベルでの AR の機能解析を雌においても可能にした点である。さらに、ARKO マウスの表現型の解析や卵巢遺伝子の網羅的解析などにより、ARKO マウスでは3週齢の卵巢において kit ligand の発現が低下していることを見出し、これが後の卵胞発育異常、ひいては早発閉経の原因になっている事を明らかにした。これらの知見は、雌性生殖系におけるアンドロゲンの機能を解明するうえでも、また、臨床的にも早発閉経などの治療に新たな道を開くものとして高く評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。