

氏名(本籍)	おか だ けん ぞう 岡 田 健 三 (大阪府)			
学位の種類	博 士 (学 術)			
学位記番号	博 甲 第 5753 号			
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 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	生命環境科学研究科			
学位論文題目	ラット精巣における MIF4GD の発現解析			
主査	筑波大学教授	農学博士	馬 場 忠	
副査	筑波大学教授	農学博士	小 林 達 彦	
副査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳 澤 純	
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	柏 原 真 一	

論 文 の 内 容 の 要 旨

精子形成は幹細胞の一種である精原幹細胞を起源にし、体細胞分裂による雄性生殖細胞の増殖、引き続き減数分裂による半数体細胞の形成、および半数体細胞が形態変化によって精子となるまでの一連の過程である。精子に特異的なクロマチンの形成にともなって精子細胞の転写活性は低下し、伸長精子細胞では完全に消失する。転写活性をもたない精子はその生存に必要な分子を得るために、精子形成過程で産生された転写産物を貯留・保存し、必要な時期にこれを翻訳して利用する。しかし、その分子機構については不明な点が多い。一方、TTラットは精子形成不全を呈するモデル動物として知られており、その原因遺伝子として *Fkbp6* が同定されている。この TT ラットでは、減数分裂時のパキテン期精母細胞の細胞質にリボゾームを含む集塊が出現することが大きな特徴であり、FKBP6 の機能解析は精子形成過程での翻訳制御機構の解明に貢献すると考えられる。

本研究では、FKBP6 と相互作用する因子として同定された MIF4GD に関して、精子細胞での翻訳制御における機能を明らかにするために研究を行っている。まず、抗 MIF4GD 抗体を作製して、ラット各臓器における MIF4GD の存在を調べ、MIF4GD がすべての臓器でほぼ偏在的に発現していることを明確にした。また、作製した抗体が 25 キロダルトンタンパク質のほかに 20 および 16 キロダルトンタンパク質も認識することが明らかになり、MIF4GD には 3 種類のアイソフォームが存在することが示唆された。加えて、精子形成過程での MIF4GD の存在を調べてみると、MIF4GD はラット精巣ですでに幼若期から存在しており、成長にともなって発現レベルが上昇していた。ラット精巣切片の免疫組織化学的解析では、円形精子細胞および伸長精子細胞の細胞質に MIF4GD のシグナルが強く確認された。さらに、パキテン期精母細胞および肝臓から調製したライセートをショ糖密度勾配遠心法で分画し、細胞質内リボゾームでの MIF4GD の局在を調べたところ、パキテン期精母細胞と肝細胞で MIF4GD が mRNP 画分に存在することも明確となった。以上の結果から、MIF4GD が減数分裂後の精子形態形成で重要な働きをしていることが示唆された。

審査の結果の要旨

哺乳類の精子形成過程は複雑な調節機構によって制御されており、これまで多くの研究者が研究に携わってきたが、完全解明には至っていない。また、精子形成機構に関するさまざまなモデルが提唱されているが、詳細については不明な点が少なからず残されている。

この研究では、機能未知である MIF4GD の精子細胞での発現や細胞内局在を調べ、精子形成に必須な分子である FKBP6 との相互作用を明らかにすることを試みている。MIF4GD はラットのさまざまな組織に存在する一方で、精巣ではパキテン期精母細胞から細胞質に蓄積されはじめ、おもに伸長精子細胞で最大となっていることを見いだした。これらの結果は、MIF4GD が精子形成、特に精子完成段階で機能している可能性を示唆している。また、通常の 25 キロダルトン MIF4GD 以外にも 20 と 16 キロダルトンの抗 MIF4GD 抗体と反応するタンパク質の存在を発見している。これらのタンパク質は、パキテン期精母細胞および円形精子細胞では 25 キロダルトンタンパク質が優位に存在しているのに対し、精巣上体精子では 20 キロダルトンタンパク質が優位であることを明らかにしており、これらの因子が精子形成および精子完成後の精子でも重要な役割を果たしていると考えられた。

ラットにおける MIF4GD の発現パターンや生殖細胞での局在を明らかにしたこと、およびそのバリエーションの存在を明らかにした点は評価できるが、MIF4GD の精子形成での機能に関して直接的な証明に欠けており、今後に残された課題もある。しかし、研究自体は注意深く行われているため、十分な信頼性を有しており、当該研究分野の発展に貢献したと考えられる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。