

氏名	藤原 靖浩
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第4861号
学位授与の日付	平成25年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Study on the role of <i>Stx2</i> gene in spermatogenesis of mice (<i>Stx2</i> 遺伝子のマウス精子形成における機能に関する研究)
論文審査委員	教授 国枝 哲夫 教授 舟橋 弘晃 准教授 辻 岳人

学位論文内容の要旨

repro34 突然変異マウス (*repro34*) は, Syntaxin2 遺伝子 (*Stx2*) に生じた突然変異が原因で精子形成が停止し, 雄特異的に不妊となる。しかし, *Stx2* の精子形成における詳細な機能は不明である。本研究は, 配偶子形成における *Stx2* の詳細な機能を明らかにする事を目的として, STX2 の精巣における発現解析と, *repro34* の詳細な表現型解析を行った。

まず, 生後最初の同調した精子形成であるファーストウェーブ期の *repro34* の精巣における詳細な組織学解析を行なった結果, 生後 16 日齢から多核化した生殖細胞が多数観察された。多核化の原因として細胞同士を連結する細胞間架橋の構造異常が考えられるため, 架橋形成に関わるタンパク質である TEX14 の局在を調べた。その結果, 多核化した精母細胞の細胞膜上では TEX14 が異常な局在を示し, 細胞膜が正常な架橋を維持できていないことが示唆された。

次に, 野生型マウスでの STX2 の発現を, ファーストウェーブ期の精巣を用いて調べたところ, 精母細胞が減数分裂前期パキテン期に分化する生後 16 日頃から発現量が増加していた。また, STX2 の生殖細胞における局在を免疫化学染色により調べた結果, パキテン後期からディプロテン期の精母細胞においてゴルジ体特異的な局在を示した。STX2 は細胞内の物質輸送に関与していることが知られていることから, STX2 は精母細胞においてゴルジ体からの物質輸送に時期特異的に関与している可能性が示唆された。

また, 糖脂質生成酵素を欠損したマウスでは, *repro34* と同様の生殖細胞の多核化が生じていることが知られていることから, *repro34* で見られる生殖細胞の異常が糖脂質の異常によるものか明らかにするために糖脂質の局在を調べた。その結果, 通常生殖細胞では糖脂質が細胞膜に局在するのに対し, *repro34* では, 細胞膜への局在が減少し異常な顆粒状の局在を示していた。したがって, *repro34* の異常の原因は, 糖脂質の局在にある可能性が示唆された。

以上の結果から, *repro34* における精子形成異常は, STX2 の欠損により糖脂質の正常な局在が失われ, 細胞膜が正常な機能を保てなくなり細胞同士が融合することが原因である事が考えられた。したがって, STX2 は精子形成において, 精母細胞のゴルジ体で生成された糖脂質を細胞膜に輸送する機能を持つ事が示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は、細胞膜の融合に関わるSyntaxin2 遺伝子 (*Stx2*) の欠損により、生殖細胞の多核化により精子形成が停止し、雄特異的に不妊となる *repro34* 突然変異マウスを用いて生殖細胞の分化と配偶子形成における *Stx2* の機能の解明を試みたものであり、その主な結果は以下の通りである。

まず、生後最初の同調した精子形成期における *repro34* 精巢の組織学解析を行なった結果、生後早い時期から多核化した生殖細胞が出現し、その多くは減数分裂第一分裂中期にてアポトーシスを起こしていることを見出している。多核化の原因として生殖細胞に固有の細胞同士を連結する細胞間架橋の構造異常が考えられたことから、架橋形成に関わるタンパク質の局在により細胞間架橋の構造を調べたところ、多核化した精母細胞では、細胞膜が正常な細胞間架橋を維持できていないことを明らかにしている。さらに、正常マウスにおける生殖細胞の分化段階での *Stx2* 遺伝子の発現を調べるとともに、STX2 タンパク質の生殖細胞における局在を調べた結果、精母細胞が減数分裂前期パキテン期に分化する頃から発現量が増加していること、パキテン後期からディプロテン期の精母細胞においてゴルジ体特異的な局在していることを明らかにしている。また、糖脂質生成酵素を欠損したマウスでは、同様の生殖細胞の多核化が生じていることから、*repro34* で見られる生殖細胞の多核化が糖脂質の異常によるものか明らかにするために糖脂質の局在を調べた結果、通常生殖細胞では糖脂質が細胞膜に局在するのに対し、*repro34* では、細胞膜への局在が減少し核周囲への異常な顆粒状の局在をすることを見出している。これらの結果より、STX2 は精母細胞において、ゴルジ体からの糖脂質等の物質輸送を介して細胞間架橋の形成に関与し、*repro34* マウスの生殖細胞にみられる異常の原因は、STX2 の欠損により糖脂質の局在の異常を生じ、細胞間架橋が正常に形成されず生殖細胞同士が集合することで多核化が生じることにあると結論づけている。

以上の本研究の結果は、マウスの精子形成における *Stx2* 遺伝子の機能を明らかにしたものであり、ほ乳類の生殖細胞分化と配偶子形成の分子メカニズムを解明する上で重要な知見であると考えられ、当該研究分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、藤原靖浩氏は自然科学研究科の博士（学術）の学位を受ける資格があるものと判定した。