

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐藤 隆 史

男性ホルモン（アンドロゲン）は雄性生殖器管の形成、発育、維持、脳の性分化など多岐の生理作用発現に必須であることが知られている。アンドロゲンの作用は雄性個体における作用のみが研究の対照とされてきた。雌性個体の生理機能におけるアンドロゲンの生理作用は不明のままである。アンドロゲンの生理作用は特異的核内受容体（AR）を介した標的遺伝子の転写制御により発揮される。近年核内受容体を介した種々の脂溶性ホルモンの作用における研究は、核内受容体の遺伝子欠損マウス（KOマウス）を作出し、その表現型を解析することが有効な手段となっている。そこで、雌雄の個体におけるアンドロゲンの生理的役割を明確にするためにはAR遺伝子欠損マウス（ARKO）マウスの作出と解析が必須と考えた。しかしながら、AR遺伝子はX染色体上に存在し、単一のマウスは生殖不能である。そのため、通常の方法では雌性（XX）のAR遺伝子欠損ホモ接合体を得ることは理論上不可能である。そのため、両X染色体上に同一のAR遺伝子変異を持つ雌性のホモ接合体は自然界に存在しない。このことから、従来の遺伝学的手法では雌性におけるAR機能を真に評価することは不可能である。そこで、本研究ではCre-loxp systemの用いることで、まずAR遺伝子座上にloxP配列を組み込んだマウス（ARfloxマウス）を作成した。次に、このARfloxマウスを用いることで、雌雄のARKOマウスの作出に成功した。これらARKOマウスの表現型の解析から、雌雄における新たなAR高次機能の解明を試みた。本文は4章より構成されている。

第1章は本研究の背景および目的と意義について述べた序論から構成される。

第2章では、Cre-loxP systemを用いた雌雄のARKOマウスの作出の経緯について述べている。雌雄のARKOマウスの作出には、まずAR遺伝子座上にloxP配列を組み込んだマウス（ARfloxマウス）の作成が必要である。そこで本章の前半では、AR遺伝子座にloxP配列を組み込んだベクターの構築、相同組み替えES細胞クローンの取得、キメラマウスの作製、を経たARfloxマウス系統の確立を述べている。章の後半においては、Creリコンビナーゼの遺伝子を発現するマウスとARfloxマウスを交配させることにより、次世代で雌雄のARKOマウスが理論通り得られたことからARKOマウスの作出を実際に可能にしたことを証明している。

第3章は、作出した雌雄ARKOマウスの表現系の解析について述べている。表現系の解析は雄ARKOマウスと雌ARKOマウスのそれぞれにおいて行った結果を述べている。雄ARKOマウスの表現型は、雄性生殖器官、精巣、内分泌、骨組織の四者について変異を解析した。その結果、雄ARKOマウスでは雄

性生殖器官の形成が全く確認されず、精巣は腹腔内に形成されていた。更に、腹腔内に形成された精巣は野生型 (WT) と比較し著しく小さく、精子の形成は全く確認されなかった。内分泌系における変異を調べたところ、テストステロンの産生を誘導する性腺刺激ホルモンの血中濃度はWTに比べ4~5倍の高値を示すのに対し、Tの血中濃度は逆に低下しており、WTの雌の血中濃度に近い値であった。更に、骨形成・代謝作用における変異を観察するため、骨量や骨密度を解析した。その結果、雄ARKOマウスでは皮質骨と海綿骨の双方で大幅に骨密度が低下していた。このことから、骨組織におけるアンドロゲンの作用の重要性を強く示唆された。

雌ARKOマウスの表現型は、雌性生殖器官の形成、生殖能、骨組織、の三者について変異を解析した。雌ARKOマウスにおける雌性生殖器官を解析した結果、雌性における子宮、卵巣はじめとした主要雌性生殖器官の形成に異常は観察されなかった。さらに、雌ARKOマウスをWTの雄と交配させ、妊娠や出産など雌ARKOマウスの生殖能を検討したところ、交配や妊娠に異常はなく、仔マウスを出産した。しかしながら、雌ARKOマウスでは産仔数の低下や、仔マウスの共食いなどが観察された。このように、AR遺伝子欠損は雌性特有の生理機能にも幾つかの変異をもたらす可能性を示唆することが出来た。また、雌ARKOマウスについても骨組織における表現型を雄同様に解析したが、WTとの差異は認められなかった。

第4章の総合討論では論文全体を総括し、雌雄の個体におけるARの役割と今後の展望について考察されている。

以上、本論文はCre-loxp systemによるマウス系統を確立し、これを用いることで従来作出不可能であった雌ARKOマウスの作出に成功した。

そして、この雌雄のARKOマウスの表現型から、ARを介したアンドロゲンの生理作用の一端を明確にしたものである。これらの知見は、学術上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。