

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名

権 仲 基

論文題目 Studies on ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH) family during spermatogenesis of mice

(ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH) ファミリーのマウス精巣における役割と機能の検索)

ユビキチン-プロテアソームシステムによるタンパク質分解機構は細胞のタンパク質のレベルをコントロールする重要な役割を果たし、細胞周期制御、DNA修復、signal transduction, cell transformationのような多様な生体反応を制御することが多くの研究を通して分かるようになった。脱ユビキチン化酵素(DUB)の一つであるUCHファミリーはユビキチン-プロテアソーム経路においてポリユビキチン遺伝子やリボソームタンパク質との融合遺伝子から生合成されたユビキチン前駆体をプロセッシングして成熟型分子に転換する機能や、ユビキチン化されたタンパク質からユビキチンを解離させる作用を持っている。

本研究は2つのUCHアイソザイム、UCH-L1およびUCH-L3の機能や役割を明らかにするため、UCH欠損マウスを用い精子形成(spermatogenesis)でのUCHアイソザイムの欠損による病理組織学的・生化学的変化や新たなUCHファミリーの機能を明らかにすることを目的としたものである。

第1章では主なUCHアイソザイムであるUCH-L1およびUCH-L3を中心に精子形成過程における発現部位の検索および熱ストレスに対する2つのUCHアイソザイムの異なった機能について述べている。高度に組織化された3つの複雑な精子形成過程、Mitosis(有糸分裂)、Meiosis(減数分裂)、精子形成におけるUCH-L1およびUCH-L3の発現レベルを検索した結果、UCH-L1は幹細胞である精祖細胞の有糸分裂の増殖中および精細胞を支えているセルトリ細胞で発現を示す反面、UCH-L3は減数分裂を起こす精母細胞および減数分裂後の精子細胞で強い発現を示すことを明らかにした。これは2つのUCHアイソザイムが精子形成過程の中で異なる機能を持つという多様性を持っている可能性が示された。

また、異なる機能を示した2つのUCHアイソザイム欠損マウスを用い実験的に停留睾丸症を作製し、熱ストレスに対するUCH-L1およびUCH-L3の機能を検索した。その結果、UCH-L1およびUCH-L3のは精細胞ストレスに対し相反的な機能を持っていることが示された。UCH-L1は精細胞アポトーシスに対しアポトーシス制御因子として、UCH-L3は抗アポトーシス制御因子であることが示された。さらに、UCH-L1はモノユビキチンと結合することやUCH-L3がNedd8に対し生体内で特異性を持っていることが示された。

第2章では UCH-L1 のアポトーシス制御因子およびユビキチンに対する機能を UCH-L1 欠損マウス(gad mouse)を用い病理組織学的・生化学的に詳しく述べている。精子形成の初期過程および精巣上体の精子成熟段階での UCH-L1 とアポトーシスの関連性を検索した。その結果、UCH-L1 欠損マウス(gad mouse)の精子形成の初期過程で減数分裂前の精細胞蓄積およびアポトーシスの減少が見られること、精子の数・運動性への変化および奇形精子の増加が見られた。以上のことから UCH-L1 欠損によるアポトーシスへの抵抗は初期の精子形成過程の異常および精子の質の変化に及ぶことが示された。また、加齢による精子形成過程への UCH-L1 の影響について検索した結果、gad mouse では 25 週齢のマウスで精細管の萎縮および PCNA 陽性細胞の著しい減少が見られた。このことはアポトーシス制御因子である UCH-L1 が精子形成過程において重要な機能を果たしていることを示唆している。

第3章では UCH-L1 のアポトーシス制御因子としての機能を確かめるため UCH-L1 を過剰発現するトランスジェニックマウスを作製し、精子形成過程での UCH-L1 の機能について調べている。UCH-L1 トランスジェニックマウスの精巣はアポトーシスを引き起こす精母細胞の数の増加により、精母細胞のパキテン期段階で精子形成がブロックされ不妊になることが明らかされた。これは、UCH-L1 は減数分裂中の精子形成に影響をあたえ、特に精母細胞のアポトーシスを引き起こすと考えられる。さらに過剰 UCH-L1 により幹細胞である精祖細胞の増殖および PCNA 分布にも影響が及ぶことが明らかになった。以上の結果から過剰 UCH-L1 はアポトーシスに関与し精子形成過程をブロックして不妊を引き起こすことが示された。

以上のように、本論文は 2 つの UCH アイソザイム(UCH-L1 および UCH-L3)が精子形成過程で相反的な機能を持っていることを示しており、特に UCH-L1 は精子形成過程でアポトーシス制御因子としての機能を果たしていることを始めて明らかにした研究である。この論文はタンパク質分解系において脱ユビキチン化酵素である UCH の新たな機能を見出すことにより精子形成解析での貢献が多岐である。よって審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値があるものと認めた。