

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

秋本 千央

申請者氏名

哺乳類の雌雄には明確な性差が存在し、これまで性決定後の性差形成は性ステロイドホルモン作用によって完成すると考えられている。しかしながら、Y 染色体遺伝子の領域欠損などによる遺伝的疾患症例から、精子形成といった生理機能への Y 染色体遺伝子機能の関与が示唆されてきた。そこで本論文では、雄性特異的生理機能における Y 染色体遺伝子群の機能的役割の解明を目的とし、細胞生物学、生化学的手法を用いて Y 染色体遺伝子群の分子機能解析を行っている。

一章の序論に続き、二章では、ヒトおよびマウスの Y 染色精子形成責任領域に保存される SMCY 遺伝子の分子機能解析を行った。具体的には、まずヒト精巣胚細胞腫瘍由来 NEC8 細胞株 NEC8 細胞株において SMCY が H3K4 脱メチル化酵素活性を有する事を確認した上で、生化学的手法により精巣特異的な SMCY の機能的相互作用因子の取得を試みている。NEC8 細胞より調製した核抽出液に対し、リコンビナント FLAG タグ融合 SMCY 全長タンパク質をベイトとしてアフィニティー精製を行い、TOF-MS 解析によって、精子形成に必須である減数分裂特異的タンパク質 MSH5 を複合体構成因子として取得した。マウス精巣における両者の発現を共焦点蛍光顕微鏡で観察した結果、MSH5 は初期レプトテン期の細胞では凝集 DNA との共局在を示さず、SMCY の発現が始まるレプトテン/ザイゴテン期の細胞において、凝集した DNA 上での SMCY との共局在が観察された。さらに、連続切片を用いた免疫組織化学解析により、SMCY および MSH5 が共発現するレプトテン/ザイゴテン期の細胞において、強いジ、トリメチル化 H3K4 と弱いモノメチル化 H3K4 が観察された。以上の結果から、ヒストン脱メチル化酵素として知られる Jmj ドメインを有する SMCY が減数分裂制御因子 MSH5 との相互作用を示し、減数分裂前期の精母細胞においてヒストン H3K4 の脱メチル化を介して DNA 凝集に作用する可能性を示す事ができた。

次に三章では、男性ホルモン受容体 AR と精巣特異的遺伝子 TSPY の機能的相互作用の解析を行っている。まずレポーターアッセイにより AR の転写活性化能を TSPY が抑制する事を見いだした。さらに TSPY と AR のリガンド非依存的な相互作用を検出できたことから、両者の細胞内相互作用を検討した結果、TSPY が細胞質タンパク質であり、AR との相互作用は細胞質においてのみ見られる事を示した。さらに、TSPY のノックダウンによって AR の細胞質から核への移行が促進した事から、TSPY が AR の核移行を阻害することで AR の転写活性化能を抑制することを見いだした。以上より、精巣胚細胞腫瘍において、TSPY は異所性に AR と共発現すると、AR と細胞質で結合することで、AR の核内でのホルモン作用を抑制することを見いだしている。

続く四章では、まず精巣胚細胞腫瘍 NEC8 細胞においてアンドロゲンによる細胞増殖亢進を見いだした。一方 TSPY は抑制的に作用した。続いて、分子標的をマイクロアレイで探索し、リアルタイム RT-PCR により確認することで PTEN 遺伝子がこの制御に関与する可能性を示した。

さらに、ヒト精巣胚細胞腫瘍症例の組織検体を用いて TSPY および AR の発現量解析を行った。その結果、AR はセミノーマに対し悪性度の高い非セミノーマ群において高発現を示すことを見いだした。一方 TSPY の発現量が逆に非セミノーマ群で低く、セミノーマにおいて高いことが示された。これら二者の発現の逆相関の結果から、AR/TSPY 比は精巣腫瘍増悪速度の目安として捉えられる可能性が示された。以上より、TSPY と AR の機能的相互作用が精巣胚細胞腫瘍の細胞増殖を制御することを示し、精巣腫瘍組織における予後マーカーとして臨床応用できる可能性を示している。

本論文では、生化学的手法、細胞生物学的手法を用いた分子機能解析によって、Y 染色体遺伝子の担う精巣における生理機能の一端を明らかにすることができた。これらの成果は、雄性のみに存在する Y 染色体上の遺伝子群による雄性特異的生理機能の制御機構の理解に大きく貢献するものと期待される。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のあるものと認めた。