

Nanos 遺伝子は進化的に高度に保存された RNA 結合タンパク質をコードしており、多くの生物種において生殖細胞の発生に必須である。マウスは3つの *Nanos* 遺伝子を持ちそのうち2つ *Nanos2* と *Nanos3* は生殖細胞の維持に必須であることはすでに報告されていたが、詳細な作用機構は不明であった。鈴木さんは初期胎生期に発現する *Nanos3* の機能とその発現調節機構の解明を目指した研究を行った。また *Nanos* 蛋白質の発現を指標にして生後における未分化精原細胞の詳細な解析も行った。博士論文は3部に分かれている。

第1部では *Nanos3* の機能解析結果を報告している。

鈴木さんは修士課程で (1) *Nanos3*^{-/-} 胚は雌雄ともに不妊となり、その一因はアポトーシスであること、(2) *Nanos3* とアポトーシス促進因子 *Bax* とのダブルノックアウトでは一部の PGC が生残すること、(3) 生残した *Nanos3*^{-/-} *Bax*^{-/-} PGC は生殖細胞として分化し、成体においても維持されることを明らかにしていた。博士課程では、さらに、*Bax* によるアポトーシスと *Nanos3* の関係を詳細に解析し、その結果、生殖細胞のアポトーシスには *Bax* 依存的な機構と非依存的な機構があり、*Nanos3* は両者を抑制することを明らかにした。また *Nanos3* を欠損する細胞が、体細胞に分化する可能性を検討するため、*Nanos3* locus に *Cre recombinase* 遺伝子をノックインしたマウス *Nanos3-CrePA* を作製し、系譜解析を行った。しかし *Nanos3*^{Cre/-} *Bax*^{+/*}、*Nanos3*^{Cre/-} *Bax*^{-/-} どちらの遺伝子型においても、PGC の移動経路にあたる体壁や腸管に PGC 由来の細胞は観察されなかった。これらの結果から、*Nanos3* は PGC において *Bax* 依存的/非依存的アポトーシスの両方を抑制し、PGC の維持と生残に機能していると結論づけた。

第2部では *Nanos3* の発現制御機構の解析を報告した。

Nanos3 は生殖細胞特異的に発現・機能しているタンパク質であるが、鈴木さんは RT-PCR の結果から、*Nanos3* の転写は体細胞でも行われ、生殖細胞とは異なる転写後調節機構が機能していることを見いだした。そこで、*Nanos3*-3'UTR 依存的な翻訳制御機構があるのではないかと仮定し、①内在性の *Nanos3*-3'UTR を持つ *BAC-Nanos3mRFP-Nos33'UTR* と②外来性の 3'UTR に置換した *BAC-Nanos3mRFP-bghpA* の2種類の BAC トランスジェニックマウスを作製し、胚における mRFP の発現パターンを比較した。その結果、*Nanos3*-3'UTR が体細胞における翻訳抑制に関与することを発見した。また強力なプロモーターを用いてユビキタスに転写を誘導した場合にも *Nanos3*-3'UTR の付加により、体細胞における発現が抑制され、生殖細胞で特異的な発現が見られた。この結果は *Nanos3*-3'UTR が生殖細胞特異的なタンパク質発現パターンをつくるのに十分であることを示唆しており、本研究によって、*Nanos3* タンパク質の発現制御における *Nanos3*-3'UTR の重要性が明らかになった。

第3部では精子形成過程における Nanos 蛋白質の発現解析を報告している。

精巣は一生を通じて精子を産生する器官であり、その機構は幹細胞の自己複製・増殖・分化のバランスを巧妙に保つことで支えられている。鈴木さんは成体精巣における Nanos2 および Nanos3 の発現を詳細に観察し、それぞれが未分化型精原細胞に発現していることを示した。さらに、未分化型精原細胞が遺伝子発現の異なる複数の細胞群から構成されていること、Nanos2 はその中でもより未分化な細胞群に、Nanos3 はやや分化した細胞群に発現していることなどを明らかにした。この結果は、雄生殖細胞の一連の分化過程において2つの Nanos が各々異なる働きを持つ可能性を示唆している。また本研究は、これまでの形態的な分類では均一とされていた未分化型精原細胞を各種蛋白質の発現によって明瞭に分類することを可能にした。

以上のように、本論文は、マウス初期胚において Nanos3 が生殖細胞を維持する機構の一端を明らかにし、またその蛋白質の生殖細胞特異的な発現には 3'-UTR を介した RNA の安定性の制御機構が関与すること、また Nanos 蛋白質が精子形成過程でその幹細胞集団に特徴的な発現を示すことを世界で初めて明らかにした研究であり、今後の生殖細胞及び精子形成過程の研究の発展に大きく貢献するものと考えられる。

なお、本論文の研究は、津田雅之（高知大学・准教授）、木曾誠（国立遺伝学研究所・技官）、相賀裕美子（国立遺伝学研究所教授・東京大学教授）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって、実験を計画し、遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると認める。従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。