

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 井上 和樹

哺乳類の雌雄間には、生殖器官や、性特異的な性行動等の性差が存在する。さらに、身長や骨量など骨組織においても顕著な性差がみられる。このような性差は、遺伝学的な差異である性染色体上の遺伝子の機能と性ホルモン作用により生じることが知られている。特に、雌雄間における唯一の遺伝学的差異である Y 染色体は、雄性化において重要である。しかしながら、現在までに Y 染色体遺伝子による雄性化の分子機構は殆ど不明である。

これまで、性差構築には、性ホルモンである男性ホルモン(アンドロゲン)および女性ホルモン(エストロゲン)の作用が重要であるとされてきた。しかしながら、AR、ER α および ER β 各遺伝子欠損雄マウスでは、身長が雌性化しないことから、性ホルモン非依存的な性差構築機構の存在が示唆される。このことから、雌雄間の遺伝学的な差異である Y 染色体遺伝子群の性差構築への関与が推測される。

2003 年にヒト Y 染色体のゲノム配列解読により、Y 染色体上には 27 種類のタンパク質コード遺伝子が存在していることが明らかとなり、Y 染色体遺伝子群の機能が注目されつつある。しかしながら、それ以降も Y 染色体遺伝子の分子機能・生理機能の解析は殆ど進んでいない。マウス Y 染色体に至っては、短腕の一部の領域のゲノム配列が解読されているのみで、更なる解析が必要とされる。さらに、マウスを用いた従来の遺伝学的アプローチによる Y 染色体遺伝子群の生体内高次機能は困難であった。Y 染色体の大半は非相同領域により占められているため、標的遺伝子座との相同組み換え効率に依存した従来の遺伝子ターゲティングでは組み換えは事実上不可能であった。

本研究では、世界に先駆けて Y 染色体遺伝子欠損マウスを作出することで、雄性化における Y 染色体遺伝子の生体内高次機能を解明することを試みている。

第一章の序論に引き続き、第二章では、Y染色体遺伝子欠損法の樹立を行った。Y染色体はパリンドローム配列や反復配列に富み、他の染色体とは全く異なる複雑な構造を示すことから、Y染色体では相同組み換え効率は、常染色体に比べて著しく低い。そのため、相同組み換えの原理に基づく従来の標的遺伝子組み換え法では、Y染色体遺伝子欠損マウス作出は事実上不可能とされてきた。さらに、Y染色体遺伝子の多くが生殖細胞の発生に重要であり、遺伝子欠損マウスが不妊を呈する可能性が高い。これら問題点を克服するために、本研究では、これまでよりも高頻度で組み換えを起こす挿入型ターゲティングベクターと、時期・組織特異的な遺伝子欠損法である Cre/loxP システムとを組み合わせることにより、Y染色体遺伝子欠損法の樹立に成功した。

第三章では、作出された Uty 遺伝子欠損マウスの解析を行った。その結果、Uty は雄性生殖器官形成には関与しないものの、Uty が雄型の体長および骨長を規定する因子である事を見出した。即ち、Uty は雄性成長板軟骨層の増大を介して骨成長を促し、長軸方向の成長を促進する因子であることを明らかにした。

第四章では、Uty の軟骨における分子機能解析を行った。その結果、Uty が Runx2 の転写活性化能を抑制し、その標的遺伝子である Col10a1 の発現調節を担うことを明らかにした。さらに、Uty がヒストン脱アセチル化酵素 HDAC4 をリクルートすることにより Runx2 の転写活性を抑制することを示唆した。

本論文は、これまで不可能であると考えられてきた Y染色体遺伝子欠損法の樹立に成功した。これまで殆ど不明であった Y染色体遺伝子の生理機能についての新たな知見を得、さらに、その分子機能についても新たな知見を得た。本研究は、Y染色体による性差構築の生体内機能を解析する新たな試みであり、遺伝学的要因と内分泌学的要因とによる性差構築の詳細な分子機構の解明につながると期待される。以上より、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。