

論文審査の結果の要旨

論文提出者 竹井 元

精子は雄の遺伝情報を雌性配偶子に運ぶために非常に特殊化された細胞であり、そのためには運動機能が大変重要である。精子は個体を離れて活動する細胞であり、受精環境に単一の細胞で対応し、運動を調節しなければならない。そのため、精子はその多様な生殖環境に応じて様々な運動調節機構を発展させてきた。

ところで精子の運動を実質的に担っている鞭毛運動を調節する仕組みについては、さまざまな研究がなされてきた。竹井氏は、そのなかで主に二つの調節機構について研究を行い、優れた成果を学位論文にまとめた。第一は、魚類精子を用いた精子鞭毛運動の開始機構に関するもので、第二は哺乳類精子を用いた、鞭毛運動維持のために必須なエネルギー(ATP)代謝と、その輸送に関するもので、それらを2章に分けて報告している。

第一章では、サケ科魚類精子のグリセリン処理による運動開始について解析している。自然界において、サケ科魚類の精子は K^+ 濃度の高い精漿から低い淡水中に放精されるために生じる、細胞膜の過分極が引き金となり、鞭毛運動を開始させることが明らかになっている。しかし、先行研究によって、高濃度グリセリン処理でも運動が開始されることがわかっていた。竹井氏その仕組みについてさらに詳しく検討した。

まず、グリセリン処理のどの様な効果によって運動が活性化しているのかについて、処理溶液の浸透圧に着目して実験を行った。その結果、グリセリンを他の物質(塩化ナトリウム、スクロース等)に置き換えた溶液で精子を処理しても、サケ科魚類精子は鞭毛運動を開始する事、またその際、運動活性化は処理溶液の浸透圧依存的に起る事が明らかとなった。すなわち、精子を一旦高浸透圧溶液に希釈し、引き続き低浸透圧溶液に希釈する事により起る浸透圧ショックが鞭毛運動開始に必須である事を示した。

次に浸透圧ショックの下流で働くセカンドメッセンジャーとして、 Ca^{2+} に着目し、各種阻害剤による実験、細胞内濃度の蛍光プローブを用いた解析を行った。その結果、精子が高浸透圧グリセリン溶液に暴露されると、細胞内 Ca^{2+} 濃度が増加し、その後、精子が低浸透圧暴露されると、細胞内 Ca^{2+} 濃度が急激に減少する事が分かった。すなわち、高浸透圧暴露時に精子細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇して、精子鞭毛運動に必須である鞭毛軸糸タンパクのリン酸化が Ca^{2+} 依存的に起る。この時に精子は運動能を獲得するが、一方、既に報告されているように Ca^{2+} は運動開始そのものに対しては阻害的に働くので、運動はまだ開始されていない。それが、続く低浸透圧曝露により起る細胞内 Ca^{2+} 濃度の急激な減少が引き金と

なって実際の鞭毛運動を開始させる事が明らかになった。この結果は、他の淡水魚や海産魚と同様な、浸透圧及び細胞内 Ca^{2+} 依存的な運動開始機構を、それらより進化的に古いサケ科魚類精子も保持している事を示唆しており、魚類精子運動開始機構の進化を考察する上でも非常に意義深い研究成果である。

第二章では、マウス精子を用いた、鞭毛運動とエネルギー供給系の関連に関する研究成果が述べられている。鞭毛運動の振動数や波形は ATP 濃度に強く依存している。ところで哺乳類精子における ATP については、鞭毛全長にわたって存在する解糖系により作られているという報告と、鞭毛基部に存在するミトコンドリアの呼吸系により主に作られているという報告があり、その決着はついていなかった。竹井氏は、従来測定されてきた運動率、鞭毛打の振動数に加えて鞭毛の屈曲角を測定し、微小管すべり速度を求め、微小管すべり速度と相関すると考えられる ATP 濃度を推定するという新しい手法を導入した。さらに精子に含まれる ATP や ADP、さらに解糖系の中間産物の濃度を詳細に検討した。

その結果、解糖系基質(グルコース)、又は呼吸系基質(ピルビン酸、 β ヒドロキシ酪酸)のいずれかのみが存在する条件下においても、鞭毛運動に大きな違いは現れなかった。次に、解糖系阻害剤 α クロロヒドリンにより解糖系を阻害した場合の鞭毛運動を解析した。すると解糖系基質存在下だけでなく、影響を受けないと予想される呼吸系基質存在下においても微小管すべり速度が減少する事、特に鞭毛先端部で著しく屈曲が減少する事がわかった。また、細胞内 ATP 濃度を逆相 HPLC により直接測定すると、呼吸系基質存在下においても、解糖系阻害により鞭毛内 ATP 濃度が減少し、鞭毛内 ADP、AMP 濃度が増加する事が解った。これらの結果は、ATP が解糖系阻害下では鞭毛先端部まで行き渡らない事を示唆していた。そこで竹井氏は筋肉細胞において、解糖系が ATP 輸送系としても働いている事を示唆する報告からヒントを得て、解糖系が従来知られていた ATP 生産系としての機能に加えて、ATP 輸送系としての働きも備えているというモデルを提唱し、コンピューターシミュレーションをおこなった。その結果、解糖系が鞭毛基部で生産された ATP を、鞭毛先端部まで輸送することで、鞭毛先端部での大きな屈曲運動が維持される可能性を示した。この研究成果は、運動細胞におけるエネルギー基質である ATP の恒常性に関して、新たなブレイクスルーになる可能性を秘めている、非常に意義深いものである。

竹井元氏が提出した本論文は、以上述べたように、まずサケ科魚類精子における運動開始における浸透圧変化と細胞内 Ca^{2+} の関わりの詳細を明らかにした。さらに解糖系が哺乳類精子鞭毛運動維持のための ATP 産生だけでなく、ATP 輸送系としても働くことを示した。これらの研究成果は、ともに従来の説を覆し、もしくは発展させた、きわめて意義深いものである。したがって本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいものと認定した。