

(続紙 1 )

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	黒木 俊介
論文題目	JmjC ドメインをもつタンパク質 JMJD1C はマウスにおける 長期の生殖細胞の維持に必要である		
(論文内容の要旨)			
<p>ヒストンのメチル化修飾は、クロマチン状態の変化を介したエピジェネティックな遺伝子発現の制御に重要である。近年、ヒストンのメチル化が可逆的であることが明らかになり、ヒストンの脱メチル化を担う酵素群としてJmjCドメインをもつJumonjiファミリーの存在が明らかになった。現在までに約20種類のJumonjiファミリーメンバーが同定されている。しかしその中でも生理機能が明らかになっている分子はごく一部であり、また酵素活性の有無が不確定な分子も多い。本研究で、申請者はその機能やヒストン脱メチル化活性の有無が不明のJumonjiファミリー分子の1つであるJMJD1Cに注目して解析を行った。</p> <p>JMJD1Cの生理的な機能を解明する目的で、<i>Jmjd1c</i>遺伝子欠損マウスを作製した。<i>Jmjd1c</i>欠損マウスは正常に生まれ、外見上の異常は見られなかった。次に<i>Jmjd1c</i>欠損マウスの繁殖能を調べた結果、雄が3ヶ月齢以降の時期から徐々に妊孕性を失うことが分かった。<i>Jmjd1c</i>欠損マウスの精巣を調べると、加齢に伴い精巣重量が減少し、それに合わせて生殖細胞の欠失と精子の減少が確認された。異常が進行する途中の精細管では、成熟精子や半数体精子細胞が存在するにも関わらず、それより未分化な段階の生殖細胞が欠落している様子が観察された。精巣におけるJMJD1Cの発現を免疫組織化学的に調べた結果、幹細胞機能を有すると考えられている未分化精原細胞で最も発現が高かった。これらのことから、<i>Jmjd1c</i>欠損マウスの生殖細胞の加齢に依存した欠失は、未分化精原細胞からの新たな細胞の供給が途絶えていることに起因する可能性が強く示唆された。この可能性を検証するため、<i>Jmjd1c</i>欠損マウスの精巣における未分化精原細胞の状態を調べた。その結果、加齢に伴った細胞数の著しい減少とアポトーシスの増加を見いだした。以上のことから、JMJD1Cはマウスの精巣において、加齢にともなう雄の生殖細胞のアポトーシスを抑制し、精子形成を長期にわたって維持するのに必要であることを明らかにした。</p> <p>最期に、JMJD1Cのヒストン脱メチル化酵素活性の有無についての検討を行った。JMJD1Cを過剰発現させた293T細胞と<i>Jmjd1c</i>遺伝子欠損マウスの未分化精原細胞について、既知のヒストンのメチル化修飾状態の変化を検討した。その結果、どちらの実験においてもメチル化状態の変化は観察されなかったことから、JMJD1Cはヒストンに対する脱メチル化酵素活性をもたない可能性が強く示唆された。</p> <p>本研究は、JMJD1Cがマウスの精子形成の長期維持に必要であることを明らかにした。さらに、JMJD1Cはヒストン脱メチル化酵素活性に依存しない新たな機能を有している可能性を提示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒストンのテイル部分の共有結合修飾は、染色体の機能に重要な役割を担っている。中でもリジン残基のメチル化修飾は、遺伝子の発現調節に密接に関わっている。Jumonjiファミリータンパク質は、ヒストンの脱メチル化を担う酵素群であり、可逆的であるヒストンのメチル化状態を脱メチル化状態に変換することによって、クロマチン状態の変化を介したエピジェネティックな遺伝子発現の制御を実行すると考えられている。しかし、個々のJumonjiファミリー分子がヒストン脱メチル化活性を有するのか、また生体内での機能については不明な点が多い。

申請者はJumonjiファミリータンパク質の1つであるJMJD1Cに着目し、その生理的な機能を解明する研究を行った。まず、その生体内での発現パターンを詳細に解析すると共に、JMJD1Cのノックアウトマウスを作製した。そして、ノックアウトの雄が加齢に伴って妊孕性を失うことを新たに見だし、その妊孕性の喪失が生殖細胞の加齢に依存した欠失を伴うことを明らかにした。この発見はJMJD1Cの生理的な機能を初めて明らかにしたものであり、評価できる。さらに、精巣におけるJMJD1Cの発現パターンなどを詳細に解析したところ、未分化精原細胞でその発現が顕著に高いこと、JMJD1Cノックアウトマウスの未分化精原細胞では、加齢に伴ってアポトーシスが増加し、その数が減少していくことを明らかにした。したがって、JMJD1Cノックアウトマウスの加齢に伴った妊孕性の喪失は、未分化精原細胞からの新たな細胞の供給が途えていることによった生殖細胞の欠失と精子の減少に起因することが示唆された。このような申請者の研究結果は、その機能が不明であったJMJD1Cの新たな生理機能解明にとどまらず、一般的な雄の妊孕性の喪失や維持という現象に対する新たな角度からの理解、またその制御への寄与につながる新しい発見であり、評価できる。

さらに、申請者はJMJD1Cのヒストン脱メチル化酵素活性の有無についての検討を行い、培養細胞系とマウス個体の両方において、ヒストンのメチル化修飾状態を変化させる活性が認められないことを示した。この結果は、Jumonjiファミリータンパク質がヒストン脱メチル化酵素活性に依存しない新たな活性を介して、その生理機能を発揮している可能性を提示しており、大変興味深い。

本研究は、JMJD1Cがマウスの精子形成の長期維持に必要であることを新たに発見した。さらに、JMJD1Cはヒストン脱メチル化酵素活性に依存しない新たな機能を有している可能性を示しており、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示している。

よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

さらに、平成26年2月4日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_