

氏 名	おく 村 和 弘
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2187 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Expression of a novel isoform of Vav, Vav-T, containing a single Src homology 3 domain in murine testicular germ cells (1 個の Src 相同領域 3 を有する Vav の新しい相同体である Vav-T のマウス精巣生殖細胞における発現)

論文調査委員 (主 査) 教 授 塩 田 浩 平 教 授 中 辻 憲 夫 教 授 小 川 修

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類精子形成細胞の分化は、体細胞分裂を行う精原細胞がまず精母細胞へと分化し、減数分裂を行い、さらに精子細胞が成熟精子へと形態変化をとげる複雑な過程である。これらの過程はセルトリ細胞との細胞間相互作用により制御され、分化段階に応じて厳密な遺伝子発現のコントロールがなされている。なかでも種々のチロシンフォスファターゼ、チロシンキナーゼやシグナル伝達因子等はマウス精子形成細胞の特定の分化段階に発現することが知られ、その重要性が指摘されている。

シグナル伝達に関与する蛋白である Vav は、元来造血細胞系列に特異的に発現すると考えられていた。Vav は、T 細胞受容体、c-Kit や Flk-2 などの蛋白チロシンキナーゼ等、いろいろな受容体の刺激により急速にチロシンリン酸化され、その Src 相同領域 2 (SH2) でこれらの受容体に会合することが知られている。しかし最近、造血細胞系以外のトロホブラストにも vav が発現していることが判明し、胚の着床や胎児の生存にも関与している可能性が示唆されている。そこで精巣やその他の臓器においても、受容体チロシンキナーゼの下流でシグナル伝達に関与しているのではないかと考え、以下の実験を行った。

ノーザン解析法にて vav は、造血系細胞では 3.1 kb の mRNA として発現されるが、マウス各種組織のなかで精巣においては、4.8 kb と 1.0 kb の mRNA として発現していた。マウスの精母細胞 cDNA ライブラリーよりその 4.8 kb に相当する mRNA をクローニングしたところ、alternative splicing による vav の新しいアイソフォーム (vav-T) であった。vav は、その C 末端に SH3-SH2-SH3 という 3 個のドメインを持っているが、vav-T は vav の SH2 領域の中央部からアミノ末端側が異なる短い蛋白質 (163 アミノ酸) で、大部分は vav のカルボキシル末端の SH3 ドメインからなっていた。分画した精巣細胞でのノーザン解析法および in situ ハイブリダイゼーション法では、vav-T は分化した生殖細胞、特に精母細胞において強く発現していた。抗 vav 抗体を用いたウエスタン解析にて、24 kD の vav-T と思われる蛋白質が精巣において検出されたが、脾臓や骨髄からは検出されなかった。vav の C 末端側の SH3 ドメインと結合することが知られている RNA 結合蛋白 hnRNPK (heterogenous nuclear ribonucleoprotein K) が、vav-T を発現している生殖細胞に同時に発現していることがノーザン解析により示された。これらの結果は、vav の新しいアイソフォーム vav-T が存在すること、精巣生殖細胞において特異的に vav-T の発現があることを初めて示し、vav-T が RNA 結合蛋白と協調し、精子形成に重要な働きをしていることを示唆している。このことは、精子形成細胞の分化機序を解明し、不妊症治療、避妊や癌治療へ応用することに貢献すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

哺乳類精子形成細胞の分化は複雑な過程を有しており、この現象の分子的機序を解明するため、精子形成細胞の特定の分化段階に発現している増殖関連蛋白の解析がなされている。

プロトオンコジーンである vav は、元来造血細胞系に発現していると考えられており、シグナル伝達に関与していることが明らかにされている。さらに栄養外胚葉とトロホブラストにも vav が発現していることが判明し、胚の着床や胎児の生存のために必要であると考えられている。本研究においては、精子形成機構に着目し、vav および vav が関与するシグナル伝達の役割に関して検討を行った。

マウス精巢生殖細胞より vav-T をクローニングした。vav-T の大部分は vav の 3' 末端側の SH3 ドメインからなり、生殖細胞、特に精母細胞に強く発現していた。vav の C 末端側の SH3 ドメインと結合する RNA 結合蛋白である hnRNPK も生殖細胞より同定された。この結果は、精巢生殖細胞には今まで報告されていない vav の相同体があり、これが RNA 結合蛋白と協調し、精子形成に重要な働きをしていることを示唆するものと考えられた。

以上の研究は精子形成機構の解明に貢献し、将来において不妊症治療や癌治療研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 1 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。