Osaka University Knowledge Archive

Title	精巣特異的発現を示すマウスHRP-1遺伝子の解析
Author(s)	黒田, 了文
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41262
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【 65 】

氏　　名	黒　田　了　文（くろだ　とし　ふみ）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学　位　記　番　号	第　14121　号
学位授与年月日	平成10年9月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学　位　論　文　名	**精巣特異的発現を示すマウスHRP-1遺伝子の解析**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　松澤　佑次 （副査） 教　授　平野　俊夫　　教　授　西宗　義武

論文内容の要旨

【目的】

マウスHRP-1遺伝子はヒトHDGF遺伝子をもとにマウス精巣cDNAライブラリーからマウスHDGF, HRP-2と共にクローニングされたファミリー遺伝子の1つである。マウスHDGF, HRP-2が種々の臓器に普遍的に発現し，なかでも精巣に強い発現を認めるのに対し，HRP-1遺伝子は，精巣にのみ強い発現を示す。以上よりこのファミリー遺伝子が，精巣において重要な機能を果たしていると考えられ，その機能解明の目的で，HRP-1遺伝子の精子形成過程における役割を解析した。

【方法】

HRP-1遺伝子の精巣での発現部位を調べるため，正常のBALB/cマウスの精巣を材料にin situ hybridizationを用いてmRNAレベルの発現を，免疫組織化学法を用いて蛋白レベルの発現をみた。また生後の加齢による発現量の変化をノーザンブロット法により検討した。また精子形成不全マウスとの関係を調べる為，精子形成不全マウスの1つであるjsd/jsdマウスを対象とし，精巣でのHRP-1遺伝子の発現をノーザンブロット法，in situ hybridization法，免疫組織化学法により検討した。またHRP-1遺伝子のゲノムDNAをクローニングし，その構造を決定した。

【成績】

HRP-1遺伝子は，正常マウスにおいては，in situ hybridization法によって精巣でspermatogoniumにのみ発現をみとめた。また免疫組織化学法によっては，spermatogoniumと種々のstageのspermatocyteにその発現を認め，細胞内では核に局在していた。いずれの方法でも間質のライディッヒ細胞や精細管のセルトリ細胞には，発現を認めなかった。加齢による発現量の変化は，生後12週では，生後4週の約75%に，生後24週では，生後4週の約50%にまで低下した。

精子形成不全マウスのjsd/jsdマウスの精巣のRNAを用いたノーザンブロット法では，HRP-1遺伝子の発現は認

められなかった。また精巣の組織を用いた in situ hybridization 法，免疫組織化学法でも，その発現を認めなかった。

HRP-1 ゲノム遺伝子は数種の偽遺伝子をもち，1.4 kb の one exon からなる遺伝子であった。その 5′ 非翻訳領域には NF-IL6，C/EBP，AP-1 等の転写因子結合配列を持っていた。

【総括】

1．マウス HRP-1 遺伝子は，生後徐々に発現量が低下し，精巣内では mRNA レベルでは，spermatogonium に発現し，蛋白レベルでは spermatogonium と spermatocyte の核に局在した。

2．精子形成不全の jsd/jsd マウスでは，mRNA レベル，蛋白レベルでも HRP-1 遺伝子の発現を認めなかった。

3．マウス HRP-1 ゲノム遺伝子は one exon より構成され，種々の転写因子結合配列をもち，その発現が種々の転写因子により調節を受けていることが推察された。

以上より HRP-1 遺伝子がマウスの spermatogenesis において非常に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

マウス HRP-1 遺伝子は，ヒト HDGF 遺伝子をもとにマウス HDGF，HRP-2 と共にクローニングされたファミリー遺伝子の 1 つであり，マウス HDGF，HRP-2が種々の臓器に普遍的に発現し，なかでも精巣に強い発現を認めるのに対し HRP-1 は精巣にのみ強い発現をしめす。このことからこのファミリー遺伝子が精巣で重要な役割を果たしていることが考えられ，本研究ではファミリー遺伝子の中でも特に精巣のみに発現する HRP-1 遺伝子について解析を行いその役割を解明しようとした。

まず HRP-1 遺伝子の精巣での発現を mRNA レベルと蛋白レベルで検討し，HRP-1 遺伝子が，精巣内において生殖細胞においてのみ発現し，間質のライディッヒ細胞や精細管のセルトリ細胞に発現していないことを明らかにした。また生殖細胞のうちでも spermatogonium と spermatocyte にその発現を認め，精祖細胞における初期の精子形成から精母細胞での減数分裂に関与している可能性を示した。また免疫組織化学法により HRP-1 蛋白が核に局在することを明らかにし，cDNA から予想されるアミノ酸配列に核移行配列をもつことより転写因子としての可能性を示した。また精子形成不全の jsd/jsd マウスを材料に HRP-1 遺伝子の発現を mRNA レベルと蛋白レベルで確認し，HRP-1 遺伝子と精子形成との関係を実際の精子形成不全マウスで示した。

次に HRP-1 遺伝子のゲノム DNA クローニングを行い，ゲノム構造の決定および各種転写因子により HRP-1 遺伝子の発現が調節を受けている可能性を示した。更にこのゲノム DNA を用いた転写調節機構の検討や，ノックアウトマウスの作成は HRP-1 遺伝子の機能を解析する上で有用であると考えられる。

以上のことからマウス HRP-1 遺伝子がマウス精子形成に重要な鍵になる可能性を示したこの論文は，学位の授与に値すると考えられる。