



Title	Molecular Cloning and Characterization of Phosphatidylcholine Transfer Protein-Like (PCTP-L) Protein Gene Expressed in Murine Haploid Germ Cells
Author(s)	山中, 幹基
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42732
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	やま なか まさ 基 山 中 幹 基
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 6 9 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 12 年 8 月 7 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	Molecular Cloning and Characterization of Phosphatidylcholine Transfer Protein-Like (PCTP-L) Protein Gene Expressed in Murine Haploid Germ Cells. (マウス半数体精子細胞に発現する遺伝子 (PCTP-L) の単離およびその解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥山 明彦 (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 西宗 義武

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

男性不妊症は泌尿器科分野における主要疾患の一つであるが、その病因の半数以上が原因不明の精子形成障害で占められる。一方、精子細胞は種の保存に重要であり、個体維持に必要な体細胞とは生物学的に異なることが示唆されている。特に減数分裂後の半数体精子細胞の時期においては劇的な形態変化がみられ、運動能を持つ精子に成熟していく。この間の分化過程は、体細胞分化には見られない特徴を有する。この時期特異的に発現する遺伝子群を分子生物学的に解析することは、精子形成のメカニズムを明らかにすることにつながり、未だ不明な点が多い男性不妊の原因解明の手がかりになると考えられる。

【方法】

すべての分化段階の精細胞を持つ成熟 (35日齢) マウス (C57BL/6) の精巣 cDNA library から、精子細胞分化直前の幼若 (17日齢) マウスの精巣 mRNA を差し引いた Subtraction library を作成した。これより半数体精子細胞特異的に発現する遺伝子群の単離を行った。この中のひとつの遺伝子 (全長1392bp、推定291アミノ酸) にマウスの phosphatidylcholine transfer protein (PCTP) とアミノ酸レベルで28%の identity と49%の similarity を示すものがあり、この遺伝子を PCTP-L (PCTP like protein) とした。PCTP-L の転写レベルの解析としてマウス各臓器、精巣における Northern blotting と in situ hybridization を、タンパクレベルの解析としてマウス各臓器、精巣における Western blotting と免疫組織学的染色、マウス精子における蛍光免疫組織学的染色を行った。

【成績】

Northern blotting で、各臓器においては精巣で強発現し、肝・腎・小腸で弱い発現を認めた。次いで精巣の各発達段階においては、減数分裂が開始する17日齢以前では発現はないが、23日齢より発現がみられ、以降成熟するに伴いそれが強くなっていった。また同じく精巣において、Germ, Sertoli, Leydig の各細胞に分画したところ、Germ (精細胞) のみに強発現を認めた。これらより精巣において、PCTP-L 遺伝子は減数分裂以降の半数体精子細胞に特異的に発現していることが示された。精細管における in situ hybridization では、round spermatid と elongated spermatid に特異的発現がみられた。

Western blotting では、肝・精巣・精子に発現が認められ、腎・小腸を含む他臓器には発現はみられなかった。精巣における各発達段階では、23日齢より発現がみられ、以後加齢に伴い強くなっていった。精細管における免疫組

組織学的染色では elongated spermatid と spermatozoon に発現がみられた。また精子細胞における蛍光免疫組織学的染色では精子頭部と鞭毛部分に特異的発現がみられ、後者でより強かった。

【総括】

細胞膜の一般的な基本構造は親水基を上下に向けた脂質二重層であり、その主要構成物がリン脂質である。リン脂質の transfer activity は数種類の transfer protein にもたらされているが、その明確な機序は明らかではない。そのリン脂質の一つである phosphatidylcholine (PC) に対するものが phosphatidylcholine transfer protein (PCTP) である。

一般に精子の運動エネルギー代謝の基質として、哺乳類では精漿中の glucose などを得ているとされるが、海洋生物では精漿が海水で薄められてしまうため、内在性基質を利用しているとされ、ウニにおいてはその基質が PC であることが示されている。一方、精漿がなくとも哺乳類の精子は運動能を維持されている。その際、内在性のリン脂質が減じていることが報告され、運動エネルギー代謝の基質として利用されていることが示されている。

精子運動は精子尾部すなわち鞭毛部分の動きであり、今回の PCTP-L は精子細胞の尾部に強発現していることと、精子運動エネルギー代謝にリン脂質に関わることで、この新規遺伝子が何らかの形で同代謝に関与するタンパクを code していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

精子細胞形成過程における半数体精子細胞の時期は独特で、体細胞分化の過程とは大きく異なる。この時期特異的に発現する遺伝子群を解析することは、精子形成メカニズムを探究するにあたり、多くの情報がもたらされると考える。PCTP-L はこれら遺伝子群のひとつとして、半数体精子細胞後期、特に成熟精子の尾部に強く発現していることが示され、精子運動エネルギー代謝に関わることも推測された。本研究は男性不妊症の原因解明に繋がるものであり、学位の授与に値すると考えられる。