



Title	A Single Nucleotide Polymorphism within the Novel Sex-Linked Testis-Specific Retrotransposed PGAM4 Gene Influences Human Male Fertility
Author(s)	奥田, 英伸
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59793">https://hdl.handle.net/11094/59793</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	奥 田 英 伸
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 9 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	A Single Nucleotide Polymorphism within the Novel Sex-Linked Testis-Specific Retrotransposed PGAM4 Gene Influences Human Male Fertility (新規精巢特異的レトロトランスポジション遺伝子 PGAM4 の機能解析と その一塩基多形は男性不妊症に影響する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野々村 祝夫 (副査) 教 授 木村 正 教 授 仲野 徹

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔目 的(Purpose)〕

精子の運動エネルギーはATPにより供給され、これらは精子の軸索上にある様々な解糖系酵素により生み出されているといわれている。しかし、精子における解糖系酵素のいくつかは、体細胞で発現する酵素のmRNAから逆転写されてできたイントロンを含まない(レトロトランスポジション)精巢特異的酵素で、減数分裂後から発現し、精子の運動に非常に重要であることが報告してきた。X染色体にあるPGAM4は、全身性に発現する解糖系酵素PGAM1からレトロトランスポジションによってできた配列だが、偽遺伝子として考えられてきた。今回我々は、PGAM4の精巢及び精子における発現と酵素活性、さらに不妊患者におけるPGAM4のSNPの存在やその酵素活性の変化について検討した。

## 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒト精巢及び精子のtotal RNA及びヒト精巢特異的cDNA libraryを用いてRT-PCRを施行し、PGAM4が存在することを確認した。PGAM4特異的抗体を作製し、さらにPGAM1特異抗体を用いて免疫染色及びWestern blottingを施行し、それぞれの発現を比較した。精巢ではPGAM1は減数分裂以前まで発現しており、減数分裂以降ではPGAM4が発現していた。精子ではPGAM4のみが、軸索及びacrosomeに発現していた。さらにPGAM4のリコンビナントタンパクを作製し、酵素活性を測定すると、コントロールに比べて有意な上昇を認めた。以上よりPGAM4は機能性レトロトランスポジション遺伝子であり、減数分裂以降の精子細胞及び成熟精子に発現していることが分かった。

次にPGAM4が男性不妊症に関与しているのではないかと仮定し、そのヒトの検体を用いた遺伝子解析を行った。明らかな原因を認めない不妊患者群382人と正常群251人の精液及び血液サンプルを用いてダイレクトシーケンス法を用いてPGAM4遺伝子を解析したところ、明らかな欠失は認めなかったが、不妊患者群の4.5%に75 G>CのSNPを認め、Trp25Cysの置換を起こしていることが分かった。そこで、SNPのあるPGAM4のリコンビナントタンパクを作製し、その酵素活性を測定すると正常のPGAM4に比べて26.6%活性が低下していることが分かった。同様にSNPのある患者の精子から抽出したタンパクのPGAM活性も、SNPのない患者のものに比べて有意に低下していた。

#### 〔総括(Conclusion)〕

機能性レトロトランスポジション遺伝子PGAM4は精巣において減数分裂以降に発現することより、精子の解糖系酵素として精子の機能に関与する重要遺伝子であり、日本人男性不妊症患者の4.5%にアミノ酸置換を伴うSNPを認め、これにより解糖酵素活性が低下することによって男性不妊の原因の一つとなっていると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

不妊症の診断・治療においてその原因の解明は非常に重要であるが、男性不妊症の原因の多くは遺伝子異常が関与していると考えられている。精子の運動のエネルギーは精子の軸索上にある様々な解糖系酵素により生み出されているが、精子における解糖系酵素のいくつかは、体細胞で発現する酵素のmRNAから逆転写されてできたイントロンを含まない（レトロトランスポジション）精巣特異的酵素で、減数分裂後から発現し、精子の運動に非常に重要であることが報告してきた。phosphoglycerate mutase(PGAM)のisotypeである新規解糖系酵素PGAM4の精巣及び精子における発現と酵素活性、さらに不妊患者におけるPGAM4のSNPの存在やその酵素活性の変化について検討した。

PGAM4のmRNAがヒト精巣・精子に存在し、タンパクは減数分裂以降の精子細胞および成熟精子のアクロソーム・軸索で発現し、解糖系酵素活性を持っていることがわかった。

またPGAM4遺伝子と男性不妊症との関係を調べると、不妊患者群の4.5%にTrp25Cysの置換を伴う75 G>CのSNPを認めた。そしてそのSNPのあるPGAM4タンパクでは、正常のPGAM4に比べて酵素活性が26.6%低下していた。SNPのある患者の精子のPGAM活性もSNPのない患者のものに比べて有意に低下していた。

機能性レトロトランスポジション遺伝子PGAM4は精巣において減数分裂以降に発現することより、精子の解糖系酵素として精子の機能に関与する重要遺伝子であり、日本人男性不妊症患者の4.5%にアミノ酸置換を伴うSNPを認め、これにより解糖酵素活性が低下することにより男性不妊の原因の一つとなっていることを証明した点で、博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。