

Title	Infertility caused by inefficient apoptotic germ cell clearance in Xkr8-deficient male mice
Author(s)	山下, 八洋
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76465
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	山下 八洋
論文題名 Title	Infertility caused by inefficient apoptotic germ cell clearance in <i>Xkr8</i> -deficient male mice (アポトーシス生殖細胞の除去不全によって引き起こされる <i>Xkr8</i> 欠損雄マウスの不妊)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>真核細胞の細胞膜は脂質二重膜からなり、それを構成するリン脂質は内層と外層で非対称的に分布している。すなわち、フォスファチジルセリン(PS)やフォスファチジル エタノールアミンは内側にのみ限局するのに対し、フォスファチジルコリンやスフィンゴミエリンはその大部分が外層に存在する。リン脂質非対称性分布は細胞がアポトーシスに陥ると崩壊し、露出したPSは死細胞が食細胞に認識・食食されるための「eat me signal」として機能する。アポトーシス時のPSの露出にはリン脂質を膜の外側と内側で双方向に区別なく輸送するXkr8スクランブラーゼが関与している。Xkr8は10個の膜貫通領域を持つ蛋白質であり、アポトーシス時にカスパーゼ3によってC末端が切断されることで活性化する。Xkr8は精巣に強く発現していることから、精巣におけるXkr8の生理的な機能を明らかにする目的でXkr8欠損マウスを用いて解析した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>Xkr8欠損マウスは一見、正常に誕生し発育したが、Xkr8欠損マウス同士の交配で産仔を殆ど得ることができなかった。Xkr8を欠損する雌雄のマウスを、それぞれを野生型のマウスと交配させたところ、Xkr8欠損雄マウスと交配させた雌マウスからは産仔を殆ど得ることができなかったが、野生型雄マウスと交配させたXkr8欠損雌マウスからは野生型雌マウスと同程度の産仔数を得ることができた。Xkr8欠損マウスの精巣はXkr8ヘテロマウスの精巣に比べて、精巣重量が著しく低下しており、精細管内の生殖細胞が減少していることやセルトリ細胞が基底部から脱落していることが精巣切片の顕鏡からわかった。さらに、Xkr8欠損マウスの精巣上部では、成熟精子が顕著に減少し、死細胞の残渣が蓄積していた。野生型と生殖細胞を欠損しているWW^{-/-}マウス精巣中のXkr8 mRNA量をリアルタイムPCR法によって定量したところ、WW^{-/-}マウスではその量が著しく低下していた。更に、In situ hybridization法によって精巣切片中のXkr8 mRNAを検出すると、間質細胞やセルトリ細胞にはシグナルは全く検出されず、生殖細胞にのみシグナルが検出された。以上より精巣の生殖細胞がXkr8を強く発現すると結論した。次に、2-4週齢の精巣切片中のアポトーシス細胞をTUNEL染色法によって検出したところ、Xkr8欠損マウス精巣ではヘテロマウス精巣の約1.6倍のアポトーシス細胞が検出された。実際、Xkr8ヘテロマウス精巣ではアポトーシス細胞はセルトリ細胞に取り込まれ分解が進んでいるのに対し、Xkr8欠損マウス精巣では凝縮した核を持つアポトーシス細胞が分解されないままセルトリ細胞の近傍に残存していることが電子顕微鏡観察することによって確認された。ついで、精巣から生殖細胞を調製し、アポトーシスを誘導、PS特異的プローブであるAnnexin Vによって染色した。Xkr8ヘテロ生殖細胞はアポトーシス誘導によってAnnexin V陽性となるが、Xkr8欠損生殖細胞はAnnexin Vで全く染色されなかった。さらに、PS受容体である(Tim4)と死細胞の食食に関するチロシンキナーゼ型受容体(MerTK)を発現する細胞はアポトーシスを起こしたXkr8ヘテロ生殖細胞を食食したが、Xkr8欠損生殖細胞は食食しなかった。以上のことからXkr8欠損マウスの精巣における生殖細胞はアポトーシス時にPSを露出できず、食細胞に食食されないと結論した。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>精子の分化・成熟過程では75%にのぼる生殖細胞がアポトーシスで死滅する。今回の結果はそのアポトーシス細胞はXkr8的作用によってPSを暴露し、セルトリ細胞によって食食処理されることを示している。Xkr8欠損マウス精巣では食食されないアポトーシス細胞がネクローシスに陥り、その内容物は精巣内に分散されると考えられる。これがセルトリ細胞などの周囲の細胞に毒性を示し、精子の分化・増殖阻害を引き起こしたと考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山下 八洋	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学寄附研究部門教授 長 田 重 一
	副 査 大阪大学教授 伊 川 正 人
	副 査 大阪大学教授 山 崎 晶
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>細胞膜を構成するフォスファチジセリン(PS)は細胞膜の内側に限局しているが、アポトーシス細胞では外側へ露出される。この過程にはスクランブラーゼの活性化が必要である。膜タンパク質 XKr8はアポトーシス時に活性化するスクランブラーゼの一つであるが、その生理作用に関しては不明な点が多い。</p> <p>申請者は、Xkr8遺伝子を欠損したマウスは精巣での精子形成が阻害され、その生殖能力が著しく低下することを見出した。精子形成過程では多くの生殖細胞がアポトーシスをおこし、セルトリ細胞によって食食されるが、生殖細胞はXkr8遺伝子を強く発現し、アポトーシス時のPS露出に必須であった。アポトーシス時にPSを暴露できないXkr8欠損生殖細胞は、食食されることなくネクローシスに陥りその内容物が放出され、精子の増殖・分化を阻止したと結論された。</p> <p>以上の研究は、Xkr8の生理的な機能の一端を解明するとともに、精子形成メカニズムにおいてアポトーシス生殖細胞のPS露出の重要性を示しており、医学の発展に貢献するものである。</p> <p>したがって、本論文は学位に値するものと認める。</p>	