OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Nexin-Dynein regulatory complex component DRC7 but not FBXL13 is required for sperm flagellum formation and male fertility in mice
Author(s)	諸星, 茜
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82102
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	諸星　茜
論文題名 Title	Nexin-Dynein regulatory complex component DRC7 but not FBXL13 is required for sperm flagellum formation and male fertility in mice (マウスDRC7は精子鞭毛形成および生殖能力に必須である)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

繊毛・鞭毛は進化的に保存された細胞小器官であり、規則正しく波動運動を行う。繊毛・鞭毛運動は「軸糸」と呼ばれる構造によって制御されている。軸糸は、「9+2」と呼ばれる微小管の構造が骨組みとなり、微小管同士をつなぎとめるNexin-Dynein regulatory complex（N-DRC）や力を生み出すダイニンなど、多数の分子により構成される。

N-DRCは11種類のタンパク質（DRC1-11）で構成され、単細胞生物であるクラミドモナスを用いた先行研究から、適切な鞭毛運動に必要であることが知られている。ショウジョウバエにおいて、N-DRC構成因子のひとつ、*Drc7*の変異によって、メス生殖器内での精子運動性に異常が見られることが報告されていた。しかしながら哺乳類におけるDRC7の機能は未知であった。そこで本研究ではマウスモデルを用いてDRC7の機能を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

マウスにおいて*Drc7*がどの組織で機能しているかを調べるために、RT-PCRを用いて発現組織の解析を行った。*Drc7*は繊毛や鞭毛をもつ組織である脳、肺（気管を含む）、精巣で発現していた。その中でも特に、精巣で高発現していた。

生体内での*Drc7*の機能を解析するために、KOマウスを作製した。RT-PCRの結果から、DRC7は精巣で機能している可能性が考えられた。そこでまず、KOオスマウスを野生型メスマウスと交配させ、産仔が得られるかを検証した。結果、KOオスマウスからは産仔が得られなかった。

不妊の原因を探るために、精巣切片や精子の形態を観察したところ、KOオスマウスでは精子の鞭毛が短く、全く動かない精子が作られていた。より詳細な鞭毛構造を調べるために透過型電子顕微鏡を用いた観察を行ったところ、KO精子では軸糸の「9+2」構造が崩壊していた。

クラミドモナスではDRC4を欠損すると、鞭毛におけるDRC7のタンパク質量が減少することが知られていた。そこで*Drc7* KO精子鞭毛における他のN-DRC構成因子の量を検討した。クライオトモグラフィーを用いてクラミドモナスの鞭毛を観察した先行研究など、いくつかの文献においてDRC7との相互作用が予想されたDRC3、4、5について免疫染色とウエスタンブロットを用いてタンパク質量の検討を行った。結果、いずれのN-DRC構成因子も、*Drc7* KO精子で量が減少していることがわかった。

自然交配では*Drc7* KOオスマウスからは産仔を得ることができなかった。そこで精子を直接卵に打ち込む、顕微授精を用いて*Drc7* KO精子から産仔が得られるかどうか検討を行った。結果、正常に産仔が得られたことから、*Drc7* KO精子は、卵を活性化して発生させるという点においては異常がないことがわかった。

Drc7 KO精子では鞭毛形成が阻害されていたため、体細胞の繊毛においても何らかの影響がある可能性が考えられた。そこで精巣に次いで*Drc7*が高発現していた脳と気管について、それぞれの組織の繊毛を光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いて詳細に観察した。結果、*Drc7* KOマウスの脳室上衣、気管上皮の両方の繊毛で形態異常は認められず、軸糸の「9+2」構造も観察され、繊毛運動も確認された。

〔総　括(Conclusion)〕

以上の結果より、DRC7は精子鞭毛形成に必須であるが、脳室や気管の繊毛の形成・運動には必須ではないことが明らかになった。また*Drc7* KO精子で、他のN-DRC構成因子が減少していたことから、DRC7はN-DRC構成因子の軸糸への局在、もしくは軸糸においてN-DRCを安定化している可能性が考えられた。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）諸星　茜

	（職）	氏　名	
論文審査担当者	主　査　大阪大学教授	伊川正人	署名
	副　査　大阪大学教授	三木裕明	署名
	副　査　大阪大学教授	石谷太	署名

論文審査の結果の要旨

本研究は繊毛・鞭毛の微小管を連結するNexin-Dynein regulatory complex (N-DRC)の構成因子であるDRC7に着目し、遺伝子改変マウスを用いて哺乳類におけるDRC7の生理機能解析を試みたものである。

一. *Drc7*遺伝子の欠損（KO）マウスを作製し、繊毛・鞭毛の観察を行った。結果、脳室・気管上皮の繊毛に異常が認められなかった一方で、精子鞭毛は短く運動不全を示し、KOオスマウスは不妊を呈することを明らかにした。

二. *Drc7*KO 精子鞭毛では骨組みとなる軸糸の「9+2」の構造が崩壊すること、他のN-DRC構成因子（DRC3, DRC4, DRC5）のタンパク質量が減少することを明らかにした。

以上、本論文は遺伝子改変マウスを用いてDRC7が精子鞭毛形成およびオス生殖能力に必須であることを示し、哺乳類におけるDRC7の機能を初めて明らかにしたものであり、博士（医学）の学位授与に値するものと認める。