

氏 名（本籍）	よもぎ だ けん た ろう 蓬 田 健 太 郎
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 博 第 1 2 6 5 号
学位授与年月日	平 成 7 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻
学位論文題目	マウス精巣における GATA-1 転写因子の発現と精子形成との関連性についての研究

（主 査）

論文審査委員	教授 森 昌 造 教授 帯 刀 益 夫
	教授 折 笠 精 一

論文内容要旨

【研究目的】

細胞分化は、その細胞系列や分化段階に特異的な一群の遺伝子発現の過程とも理解され、系列特異的な転写因子による遺伝子発現制御はこの過程に重要である。GATA-1 因子は、このような特異的な転写因子の 1 つであり、赤血球系細胞に特異的に発現し、赤血球分化に必須のものである。ところが、本因子は精巣においても赤血球系で発現する際とは異なる精巣特異的なプロモーターを利用して発現していることが発見された。本研究の目的は、この精巣における GATA-1 の発現の意義とその発現調節機序を解析する第一段階として、その発現細胞を同定し、さらにその発現様式を明らかにして、精子形成との関連について検討することである。

【研究結果】

マウス精巣における GATA-1 陽性細胞は、精細管を構成している細胞の一部に限られ、2 週齢で数多く、以後分化段階が進むにつれてその数が減少し精細管の基底膜側のみならず認められるだけとなることが既に報告されている。精細管は、セルトリ細胞と生殖細胞から構成されていることから、この GATA-1 陽性細胞を同定するために、c-kit 遺伝子の異常により生殖細胞がほとんど存在しない 2 週齢の W/W^v 変異マウスを用いて、その精巣の RNA ブロット解析と抗 GATA-1 抗体を用いた免疫ブロット解析および免疫組織化学的解析を行った。この結果、GATA-1 陽性細胞がセルトリ細胞であることが同定された。

次に、正常マウスにおけるセルトリ細胞の分化発達過程における GATA-1 因子の発現を、同様に RNA ブロット解析と免疫組織学的解析により検討した。この結果、生後 7 日齢ころから GATA-1 が核内に発現し始め、9 日齢から 4 週齢にかけてのすべての精細管のセルトリ細胞の核内に GATA-1 因子蛋白質の発現を認めた。セルトリ細胞の増殖は出生前後で最も盛んとなり、以後直線的に減少し 3 週齢まで停止する。逆に、その分化成熟は GATA-1 が発現開始する 10 日齢頃から開始し 2 週齢頃にはその分化形質を認められるようになる。このことから、GATA-1 因子がセルトリ細胞の分化に関与していることが示唆された。

ところが、マウスがさらに成熟し精子形成が活発になる 5 週齢頃から精細管の部位により GATA-1 陰性のセルトリ細胞が認められるようになる。一方、精子形成には周期が存在し、発生段階を異にする 4 ないし 5 種の細胞が同調した成熟をしめすステージを形成することが知られており、このような精子形成の周期的制御にはセルトリ細胞と生殖細胞の相互作用が重要であると考えられている。この精子形成のステージと GATA-1 の発現状況との関連を同様に免疫組織化

学的に検討したところ、マウス成体における GATA-1 発現は、精子形成周期のステージ VII~IX に対応する精細管部位のみで認められ、セルトリ細胞における GATA-1 の発現が精子形成周期に密接に関連していることが示唆された。

さらに、生殖細胞の存在しない W/W^v 変異マウスの成体、生殖細胞が 1 回の精子形成の後に消失してしまう jsd 変異マウスの成体、および正常マウスの精巣を一時的に腹腔内に固定して作成した停留辜丸マウスでの GATA-1 発現を同様の方法で検討したところ、これらのすべての精細管のセルトリ細胞で GATA-1 が発現していた。この結果から、セルトリ細胞における GATA-1 発現には生殖細胞の存在は必要ないが、その発現の抑制のためにはある分化段階の生殖細胞が必須であることが示唆された。すなわち、セルトリ細胞における GATA-1 因子の発現は生殖細胞の分化・成熟と密接に関連していることが理解される。

また、GATA-1 因子の発現細胞がある時期のセルトリ細胞であることが決定されたことより、その標的遺伝子の検討が可能となる。セルトリ細胞で発現しているトランスフェリン遺伝子、 α -インヒビン遺伝子、アンドロゲン結合蛋白、FSH レセプター遺伝子のプロモーター領域を文献的に検索したところ、それぞれに GATA 結合配列を認めた。これらの遺伝子の発現は GATA-1 因子同様に精子形成の周期とよく相関しており GATA-1 因子の標的遺伝子の可能性が示唆された。

本研究により精巣における GATA-1 発現細胞がセルトリ細胞であり、その分化段階のみならず、精子形成周期にも特異的な転写制御を行っていることが示唆された。今後、この結果をもとに独立した 2 つの転写調節領域の存在意義とその調節機序の解析の進展と、転写因子による精子形成の周期制御機構の理解の進展が期待される。

審査結果の要旨

発生・分化，細胞周期，細胞増殖，環境変化に対する細胞応答，さらには癌化などの重要な生物学的現象を分子レベルで理解する上で，転写レベルでの遺伝子発現制御の研究は極めて重要なものである。とくに，細胞分化は，細胞系列や分化段階に特異的な一群の遺伝子の発現の過程とも理解され，遺伝子の転写調節機構の理解を進める上で重要な解析系の一つとなっている。

本論文の提出者は，赤血球分化に特異的な転写因子 GATA-1 が，精巣において赤血球系とは異なる発現調節領域を利用して発現していることに着目し，精巣における GATA-1 の発現細胞系列の同定と発現様式についての検討を行っている。このように系列特異的転写因子の遺伝子が異なる 2 つの転写調節領域を持ち，それぞれに基づき細胞特異的に転写される例は，これまでに GATA-1 以外に知られていない。従って，それぞれの細胞系列での転写調節機序の異同と標的遺伝子の違いを明らかにすることは，細胞分化における転写因子機能の特異性と一般性に関する理解を進める上で大変独創的かつ有用なことであり，このような解析を進める上では，目的の転写因子がどのような細胞系列でどのように発現しているかを正確に同定することが重要なステップとなる。本論文では，分子生物学的な手法や免疫染色法による解析に適当な変異マウスの系を組み合わせ発現細胞の同定を正確に行い，それがセルトリ細胞であることを初めて明らかにし，さらにその独特な発現様式が精子形成と関連していることを正常マウスにおける詳細な観察や，変異マウスや実験的に作成した停留睪丸マウスにおける検討によって実証している。精子形成に関してはこれまでに多くの研究があり，最近では精子形成過程におけるいろいろな遺伝子の発現について検討を加えた研究も少なくない。しかし，本研究のように組織特異的な遺伝子発現に関与する特定の転写因子が精子形成過程において果たす役割やその作用機序を分子生物学的，分子細胞生物学的に解明し，精子形成機構についての理解を深めようとする研究報告はまだない。本研究は精子形成機構解明を目指す研究に新境地を切り開くものであり，同時に本研究の成果をもとに細胞系列特異的・分化段階特異的な転写因子の発現制御機構の解析がさらに進展するものと期待される。

以上のように本研究は，細胞分化における細胞系列特異的な遺伝子の転写制御機構の研究に寄与すると共に，精子形成機構の分子レベルでの解析を進める上で重要なものと考えられ，学位に値するものである。