

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2073 号

Nup62: the target of an anti-sperm auto-monoclonal antibody (Ts4) which recognizes a bisecting N-acetylglucosamine structure in sexually developing testicular germ cells

(Nup62: バイセクト型 N-アセチルグルコサミン糖鎖構造を認識する抗精子自己抗体 Ts4 の性成熟過程精巢内生殖細胞における標的分子)

桜井 理沙子 (さくらい りさこ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

不妊症の原因の 1 つとして、精子に対する自己抗体(抗精子抗体)に起因するものがある。申請者らの研究グループが樹立した自己抗体由来抗精子単クローン抗体 Ts4 は、マウスの体外受精阻害能を有し、その抗原決定基は、バイセクト型 N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)を含む糖鎖構造である(Ts4 認識糖鎖)。Ts4 は、凍結切片を用いた免疫組織化学で成獣の精子・精巢内生殖細胞、及び初期胚に反応するが、卵細胞や体細胞には反応しなかった。糖鎖とはその修飾分子の機能に変化をもたらす因子として知られており、上記結果から Ts4 認識糖鎖は受精や雄性生殖細胞の形成に関与することが想定される。そこで、Ts4 認識糖鎖の生殖における役割を明らかにすることを最終目的として、本研究では精巢の成熟過程において Ts4 認識糖鎖を有する分子の同定を目的とした。ブアン固定・パラフィン包埋切片を用いた免疫組織化学では、Ts4 反応分子の発現は胎生期の精巢から認められた。その局在は成熟に伴い変化し、生後 22 日では生殖細胞の細胞膜及び細胞質に、生後 29 日以降では成獣と同様に主に生殖細胞の細胞膜上に局在を示した。生後 1 日から成獣までの精巢をウェスタンブロット法で Ts4 反応分子を解析した結果、生後 29 日以前では約 65 kDa、それ以降では先行研究で成獣精巢において Ts4 認識糖鎖を有することが明らかになっている生殖細胞特異的分子 TEX101 に対応する 38 kDa の分子が主に検出された。このことから、65 kDa 分子を性成熟移行期における Ts4 の標的として、生後 22 日目の精巢試料を用いて解析した。免疫沈降後、2 次元・SDS 電気泳動・銀染色を行い質量分析した結果、複数の候補分子が得られたが、その中でも Nup62 は Ts4 認識糖鎖を有する分子であることを明らかにした。また、生後 22 日目精巢抽出物の膜分画には TEX101 も Ts4 認識糖鎖を有する分子として発現しており、その TEX101 に CD73 が複合体を形成することを明らかにした。Nup62 は一般に核膜孔複合体として核-細胞質間の物質輸送の他、細胞分裂時の中心体・微小管の恒常性維持に関与するとの報告がある。本研究結果は、精子形成が始まるとされる生後 4-5 週を境に、成熟に伴い雄性生殖細胞上における Ts4 認識糖鎖の被修飾タンパク質分子が変化することを初めて明らかにした。この事実は Ts4 認識糖鎖が、Nup62 を介して幼獣の雄性生殖細胞の成熟に関与することを示唆するものである。