ISSN 2186-5647

5-65

マウス精子分化過程における糖鎖転移酵素関連遺伝子ネットワークの解析

日大生産工（院）○田部井謙治　日大生産工　野呂知加子
首都大　井上菜穂子

1. 緒言

本研究は細胞接着装置形成/分解における糖脂質の役割を解明することを目的とする。特に精細胞のセミノリピッドに着目し、精細胞とセルトリ細胞間の相互作用およびセルトリ間に存在する Blood-Testis-Barrier(BTB)における相互作用について調べる。これまでの研究からラフトマイクロドメインにおける細胞膜タンパクの局在が指摘されているが、さらに具体的に、個々の分子間相互作用があるかどうか、カドヘリンを初めとする AJ タンパク質およびラミニンとセミノリピッドの相互作用について検討する。

日本の 2009 年の出生率 1.37 は長期的に人口を維持できる水準の 2.07 よりはるかに低く、高齢者の増加とあいまって人口構造にひずみを生じさせ、日本経済や国民生活への深刻な影響をもたらすことが懸念される。しかしながら、高齢化に対する対応にのみ目を奪われ、少子化対策は著しく遅れているのが現状である。不妊症は少子化の拍車要因の１つであり、少子化社会対策基本法にもその治療支援が盛り込まれた。このような状況において、不妊症の原因の 50%を占める男性不妊症の分子メカニズムを明らかにすることは最優先課題である。

哺乳類の糖脂質は、脂質部分にスフィンゴシンをもつスフィンゴ糖脂質に分類されるのに対して、本研究の主題である硫酸化糖脂質セミノリピッドとその前駆体のみが、脂質部分にグリセロールをもつグリセロ糖脂質である。硫酸化スフィンゴ糖脂質の代表であるスルファチドは神経系、腎尿細管、消化管などに発現している。一方、硫酸化グリセロ糖脂質セミノリピッドは、唯一、精細胞と精子にのみ高濃度に発現している。スルファチドとセミノリピッドは、糖鎖部分の構造は全く同じであり、脂質部分のみが異なるという分子構造をもっている。

なぜ、精巣だけはグリセロ糖脂質なのか、なぜスルファチドではなくセミノリピッドなのか、この謎を解き、セミノリピッド欠失から精子形成停止に至る分子メカニズムを解明することは、糖脂質および関連分子を標的とする男性不妊症の治療法や治療薬開発という、新たな分野への糸口となると考える。スルファチドとセミノリピッドの糖鎖部分は同じ構造をしており、共通の酵素、すなわちセラミドガラクトシルトランスフェラーゼとセレブロシドスルフォトランスフェラーゼによって触媒される一連の反応で合成される(Fig.1)。

セミノリピッド欠損マウス(CGT または CST 遺伝子欠損マウスホモ接合体）は、生殖能力がない CGT 欠損マウスは、精巣において GalEAG とセミノリピッドが合成されず、精子形成が減数分裂の前で停止した。一方、CST 欠損マウスでは、一次精母細胞は正常にみられたが、第一減数分裂の中期で停止した。CST 欠損マウスの生殖細胞分化における障害時期が CGT 欠損マウスよりも少し遅れていたこと

The analysis of the carbohydrate chain transferase in the mouse sperm differentiation process-related gene network

Kenji TABEI, Chikako YOSHIDA-NORO and Naoko GOTO-INOUE

から、GalEAG とセミノリピッドの両者が、生合成経路と同じ順番で、精子形成のプログラムに関与することが示唆された。あるいは硫酸基を持たない GalEAG が、ある点まではセミノリピッドの代用をはたしている可能性も残されている。これらの糖脂質は、レプトテン期の終わりからザイゴテン期あるいはそれ以降にかけて、一次精母細胞の細胞表面に発現されているので、お互いの分化に重要と思われるセルトリ細胞と精母細胞との相互作用が両者のノックアウトマウスで障害されている可能性がある。

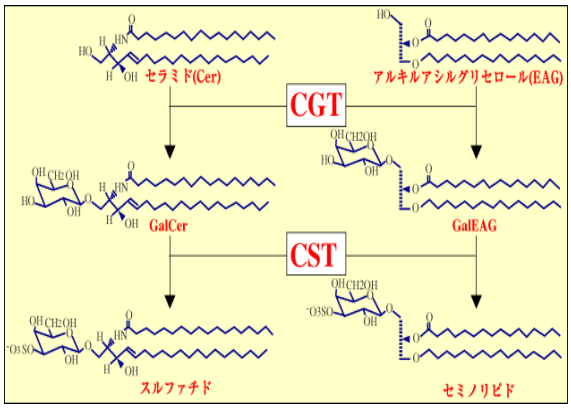

Fig. 1　セミノリピッドとスルファチドの合成経路

２．実験

ガラクトシルセラミドを合成する糖転移酵素 CGT（Galactosylceramide　transferase; Ugt8）、および、それに硫酸基を付加してガラクトシルスルファチドを合成する糖転移酵素 CST（galactose-3-O-sulfotransferase　1; Gal3st1）を欠損するマウス系統は、これまでのから精子形成不全、オスの不妊が明らかになっている。1 種類の糖転移酵素欠損により、精子形成過程のどの段階で、どのような遺伝子群の発現変化が起こり不全となるのかについて、ホモ欠損型および野生型マウスの生後 7･10･13･16 日目の精巣の比較解析し、すでにリストされている CST-KO および CGT-KO で野生型に比べて発現変化のあった遺伝子群（生後 7,10,13,16 日目の精巣）について、TJ や AJ、ラミニン、インテグリンおよび関連分子に着目して、再解析する。候補遺伝子について、RT-PCR 等で確認実験を行い、セミノリピッド欠損による遺伝子発現の動態について検討する。さらに BTB 分解に関わるユビキチン関連およびプロテアーゼやキナーゼ等についても、同様に解析する。
まずは、ノックアウトマウス由来組織の遺伝子型を確かめるゲノム PCR 検査を実施した。

３．展望

糖脂質と細胞接着装置の相互作用が明らかになり、細胞生物学上の大きな発展につながる。「なぜ、精巣だけはスフィンゴ糖脂質ではなくグリセロ糖脂質なのか、なぜスルファチドではなくセミノリピッドなのか」、という解明不可能と思われていた謎を解く手がかりも得られるものと期待される。特異的に相互作用する因子の同定に成功すれば、タンパク質-タンパク質相互作用を順次解析していくことで、セミノリピド欠損から精子形成停止に至る分子機構の解明が可能となる。精子形成において、重要な分子とその分子機構の解明により、それらの因子を標的とする、不妊症の分子標的医薬品の開発など、少子化対策の一環として「不妊症治療支援」に繋がることが期待できる。

４．参考文献

１）Hakomori S, Glycoconj J, 17:627-47, 2000
２）Simons K, Ikonen E, Nature, 387:569-72, 1997
３）Hakomori S, Glycoconj J, 17:627-47, 2000; Kiyokawa E et al, J Biol Chem, 280:24072-84, 2005