

ヒト無精子症原因遺伝子の同定及び精子形成過程におけるメカニズムの解析

1. SYCP3 遺伝子

当教室ではマウスをもとにヒト SYCP3 遺伝子を単離し、減数分裂停止による無精子症と診断された患者から同意を得て血液から DNA を抽出し、mutation を検索した。結果、解析された 13 名の内 2 名において SYCP3 遺伝子上最も重要と思われる coiled coil domain 内の同部位に 1 塩基のアデニンの deletion を検出し、この変異により frame shift がおこり、早期に stop codon が出現し、不完全な coiled coil domain を形成していることが判明した。さらに我々はこの deletion をもつ配列を発現ベクターに導入し、蛋白を抽出し protein-binding assay を施行し、本来 coiled coil domain が有する蛋白結合能が全く失われていることを明らかにし、Y 染色体上の AZF 領域以外で初めて、無精子症の原因遺伝子を同定した (Miyamoto et al., Lancet)。

2. MEI1 遺伝子

近年不妊マウスのスクリーニングにより、減数分裂異常に起因する無精子症を呈する meil (meiosis defective 1) マウスが同定され、さらにポジショナルクローニング法によりマウス Meil 遺伝子の mutation が染色体のシナプスの欠損による減数分裂停止により無精子症を引き起こすことが判明した。我々は、マウス Meil cDNA を基にヒト MEI1 cDNA を単離し、ヒト MEI1 遺伝子と無精子症の関係を明らかにすべく、減数分裂停止による無精子症と診断された患者の genomic DNA を用いて解析を行った。単離された full length cDNA は 2 つの転写体からなり、ヒト MEI1 は 16 個のエクソンから構成され、短い cDNA は alternative splicing によりエクソン 7 を欠いていた。コードされるアミノ酸はそれぞれ 642 及び 607 個でマウスとの相同性は 77% であり、ヒト MEI1 は精巣に特異的に発現していた。患者解析により ORF 内に 4 箇所の SNP が検出され、genotype、アレル、ハプロタイプ解析を行ったところ、SNP3 及び SNP4 においてコントロールに対して有意差が認められた ($p < 0.05$)。本研究により、同定された SNP がヒト精子形成過程において深く関与している可能性が示唆された。この研究成果は今後のヒト減数分裂の分子メカニズムの解明に何らかの貢献が期待されるものである (Sato et al., J Hum Genet 2006)。

3. FKBP6 遺伝子

FKBP6 遺伝子は prolyl isomerase/FK506 binding domain と tetratricopeptide protein-protein interaction domain を有する遺伝子ファミリーのひとつである。2003 年この Fkbp6 遺伝子のノックアウトマウスが報告され、Fkbp6 のホモ mutant はオス、メスともに全く問題のないライフスパンを送ったが、オスのホモ mutant は生殖能力を全く有していなかった。解析の結果、その精巣は

明らかにサイズが減少しており、組織学的解析ではオスのホモ mutant では spermatid の完全なる欠損及び濃縮した核を有する abnormal pathytene spermatocytes を認めた。また pathytene stage を越える細胞は全く認められなかった。無精子症を呈する natural mutant である as/as rat を用いてラット FKBP6 を解析したところ、as/as rat では Exon 8 が完全に欠失していることが判明した。そこで私はマウス及びラットの実験結果より、ヒト FKBP6 遺伝子がヒト無精子症とどのように関与しているのかを解析した。解析の結果ヒト FKBP6 遺伝子は精巣特異的に発現しており、ORF 内に 2 箇所の single nucleotide polymorphism(SNP) を同定し、さらに精巣において genomic imprinting を受けていることを証明した (Miyamoto et al., Cell Mol Biol Let 2006)。

4. SPATA17 遺伝子

加えてマイクロアレイ法を用いてヒト精子形成特にその減数分裂に深く関与している新規遺伝子ヒト SPATA17 遺伝子の同定に成功した (Miyamoto et al. Asian J Androl 2009)。

上記に示した研究成果の他、ヒト無精子症原因遺伝子であるヒト PARP-2 遺伝子の同定 (Sakugawa et al. J Assist Reprod Genet, in press)、ヒト精巣特異的に発現している新規遺伝子、ヒト OPP01, TISP15, TISP43, TISP50 の単離に成功するとともに (Miyamoto et al., J Assist Reprod Genet 2004; Sasaki et al., Reprod Med Biol 2004)、受精機構の解明 (Sengoku et al., Human Reprod 2004; Sengoku et al., Gynecol Obstet Invest 58: 155-159. 2004)、またヒト受精卵の卵割に関与するであろう遺伝子の単離 (Sakugawa et al. J Assist Reprod Genet 2008)、さらには胎児先天奇形の新しい診断法の確立 (Sasaki et al., Magn Reson Imaging 2006) 等の研究成果をこれまであげている。