

審査の結果の要旨

氏名 妹尾 真奈美

本研究は精巣で高発現する *Ptbp1* という遺伝子を切り口に、精子形成過程における選択的スプライシングの役割を解明しようとするものである。精子形成過程における遺伝子発現制御機構として、DNA やヒストンのエピジェネティックな修飾や転写因子を介した遺伝子発現ネットワークの他に、近年、選択的スプライシングが重要な役割を果たすことが報告されて来ている。選択的スプライシングは組織の発生・分化や恒常性の維持に非常に重要な役割を果たす機構であり、神経細胞などの発生・分化過程における選択的スプライシングの役割についてはこれまでに数多くの知見が明らかにされている。一方で、精巣は多様なスプライシングアイソフォームに富む組織であり、精子形成過程における選択的スプライシングの重要性が強く示唆されるにも関わらず、ノックアウトマウスなどを用いた実証的な解析は未だ充分には行われていない。本研究は精巣で高発現する選択的スプライシング制御因子 **PTBP1** に注目し、ノックアウトマウスを用いた実証的な解析を行うことで精子形成における選択的スプライシングの役割を明らかにすることを目的として行われており、独創的な着眼点であり新規性の高い研究であると言える。

論文の結果の部分の前半では、まず精巣における **PTBP1** の発現が精原細胞において高いことから精原細胞特異的 *Ptbp1* ノックアウトマウス (**cKO**) を樹立し、表現型の解析を行うことで得られた詳細なデータについて紹介している。**cKO** の精巣では精子形成異常が起きており、この異常は出生直後の精原細胞の増殖性の低下に起因することを示唆するデータを得ている。更に、**cKO** では性成熟後、時間と共に精子形成の活性が低下していくことを見出している。後半では、**PTBP1** を欠損した精原細胞の特徴について、精原細胞の初代培養株である **Germline Stem Cells (GS 細胞)** を用いた解析が行われ、より詳細な分子メカニズムに踏み込んだ解析となっていっている。

RNA-seqにより、PTBP1を欠損したGS細胞において、選択的スプライシングに有意な変化があった遺伝子群および遺伝子発現が変動した遺伝子群が明らかになっており、更に、PTBP1を欠損したGS細胞では、精子形成異常に極めて重要な役割を果たす3つの遺伝子の発現が低下していることを見出している。その中でも精原細胞で高発現するRNA結合タンパク質であるNANOS3に注目した上で、*Ptbp1*と*Naonos3*の両方の遺伝子の発現が低下したマウスを作出し、表現型を解析した結果、cKOと同様、精子形成異常が生じることを明らかにしている。この結果はPTBP1と、精子形成に極めて重要な役割を果たすNANOS3が共役して精子形成を調節することが示唆される興味深いデータであると言える。

得られた1つ1つの結果から、次の仮説およびそれを検証するための実験を順序立てて丁寧に行っており、論文中ではその論理展開がわかりやすく、丁寧に述べられている。PTBP1を欠損することにより生じる精子形成異常のメカニズムに迫る詳細な解析へと研究が進展しており、データの量、質ともに充分であると判断した。

したがって、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上 1343 字