

審査の結果の要旨

氏名 羽田 政司

真核生物の核内においてゲノムを収納しているヒストンタンパク質は、DNAの収縮・弛緩を制御する事によって、染色体分配などの多様な生命現象に関与する。ヒストンにはアミノ酸配列が異なるヒストンバリエントの存在が認められており、普遍的ヒストンと置換されることによって特異的な機能を発揮する。いくつかのヒストンバリエントには組織特異性が認められるが、中でも精子の形成過程では多様なヒストンバリエントの存在が報告されている。それらは精子形成に重要であることが予測されるが、多くのものは未だ機能が解明されていない。特に近年、精子を介したエピゲノム情報の次世代への持ち込みが注目されており、精子形成過程におけるヒストンバリエントの生理学的機能の解析は重要な課題である。

本研究課題は、マウスの精巣特異的ヒストン H2A バリエントである TH2A における、127番目のトレオニン残基の新規リン酸化修飾を、プロテオミクス解析で見出したという修士課程の成果を受け、その性質のさらなる解析を試みたものである。このリン酸化 TH2A を pTH2A と称する。本リン酸化部位は普遍的な H2A には存在せず、一方でヒトの TH2A にはセリン残基として保存されている。TH2A は最近、精子形成に重要であることが報告されたが、その詳細な機能は未だ示されていない。以上のことから TH2A が、そのリン酸化修飾を介して精子形成に関与する可能性を疑った。

まず精子形成過程での pTH2A の動態を解析したところ、pTH2A は精子核凝集期と第 1 減数分裂中期 (MI 期) の 2 段階において存在し、前者は成熟精子まで継続していた。一方、MI 期の精母細胞における pTH2A の局在は、マーカー分子との共免疫染色の結果、セントロメア領域への顕著な濃縮が確認された。これは雌の生殖細胞、すなわち卵母細胞においても同様であった。雌の MI 期の染色体分配は加齢と共にエラーが蓄積し、いわゆる「卵子の老化」と密接に関係する。そこで老化卵における pTH2A 量の変化を検証したところ、老化卵で有意に減少していた。次に pTH2A の動態および時期特異性を解析したところ、pTH2A は MI 期の進行に伴い増加するが、第 2 減数分裂中期では消失し、更に体細胞分裂中期でも存在を確認できなかった。以上の結果から pTH2A は、MI 期特異的にセントロメア領域に濃縮するヒストン修飾であり、メスにおいては加齢と逆相関することを明らかにした。

最近の研究により TH2A と TH2B (精巣特異的 H2B バリエント) の欠損マウスでは、染色体を束ねる分子であるコヒーシンが第 1 減数分裂後の細胞に過剰に残存することが報告された。染色体腕部に局在するコヒーシンは第 1 減数分裂後期に分解されなければならないが、セントロメア領域に局在しているものだけは Shugoshin-like 2 (SGOL2) に保護されることにより、以降の細胞まで残存する。以上の知見と pTH2A のセントロメア局在から、

pTH2A はセントロメア領域における SGOL2 の過剰な局在を抑制している可能性が高いと考えられた。そこでこの仮説を検証するため、TH2A のリン酸化部位である 127 番目のトレオニン残基をアラニン残基に置換した変異マウスを作製した (*Th2a*^{TA/TA})。 *Th2a*^{TA/TA} マウスにおける SGOL2 量を解析したところ、予想どおり SGOL2 の局在が促進されていた。さらに SGOL2 は分裂中期の染色体伸張も制御するが、上記の結果と一致して *Th2a*^{TA/TA} 卵母細胞では分裂時の染色体の張力が低下していた。以上の結果から、pTH2A は SGOL2 の量を適切に制御することによって、MI 期の染色体分配機構に関与することを明らかにした。

以上、本研究では生殖細胞特異的な新規ヒストン修飾 pTH2A を発見し、それが精子核凝集期および MI 期のセントロメア領域という制限された時期に存在することを明らかにした。更に MI 期の pTH2A は、SGOL2 の量や染色体の張力に影響を与えることを明らかにした。従って本研究の成果により、配偶子形成における新たなエピゲノムコードの存在とその影響を示し、更に卵の新規加齢マーカーという応用的な知見も提供することができた。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。