

論文審査の結果の要旨

氏名 荒木 直也

本論文は精漿中のタンパク質による、精子の受精能力の制御機構を扱った論文である。全体の構成は、General Introduction (イントロダクション)、3章からなる研究成果内容、Conclusion and Perspectives (結論) からなる。イントロダクションでは、哺乳類の精子は、卵と受精するために雌生殖器内で受精能獲得と呼ばれる機能変化を起こす必要があること、精漿中には精囊分泌タンパク質をはじめとした精子の受精能獲得を抑制する因子が存在することなどの点について概説し、*in vivo* における精子受精能の制御機構や受精能獲得抑制因子の存在意義が十分に解明されていない点について、問題提起がなされている。研究成果内容は、第1章では精囊分泌タンパク質 SVS2 による受精能獲得抑制の作用機序について、第2章では SVS2 の動態について、第3章では SVS2 以外の精囊分泌タンパク質の受精能獲得への影響について、それぞれ序論・研究手法・結果・考察が書かれている。結論では、これらの成果をふまえ、精囊分泌タンパク質による精子受精能獲得の制御機構について、総合的な考察がなされている。

研究成果内容のうち第1章では、マウスの精子を実験材料に用い、精囊分泌タンパク質 SVS2 の精子への作用機序について調べられている。先行研究から、マウスでは SVS2 が受精能獲得の抑制に働くこと、SVS2 欠損マウスは *in vitro* では正常に機能する精子が得られるが、*in vivo* では不妊になることが示されていた。本章では、*in vitro* で精子の受精能獲得を誘起する実験系を用い、SVS2 が精子受精能獲得を抑制するメカニズムを調べている。そして、SVS2 は受精能獲得過程で必須な精子細胞膜からのステロール流出を抑制すること、さらに流出したステロールを細胞膜に戻す作用があることを示し、これが受精能獲得を抑制する主因であることを明らかにしている。さらに SVS2 欠損マウスの精子は子宮内でステロール流出を起こしてしまうことを示し、*in vivo* での SVS2 の存在意義は、子宮内で精子のステロール流出を抑制し、受精能獲得から精子を保護することであることを示唆した。

第2章では、*in vivo* での受精能獲得抑制因子の動態と、受精能獲得への関与について検証している。抗 SVS2 抗体を用いた免疫染色により、交尾によって雌性生殖器内に進入した SVS2 は子宮内壁に付着し、そこから先の卵管内には入っていないことが示され、受精能獲得の場である卵管内に SVS2 を進入させない機

構が存在することを示唆した。また、子宮内には受精能獲得の誘起に十分過ぎる濃度のアルブミンがあること示し、アルブミンは *in vivo* での受精能獲得誘起因子として働きうること、*in vivo* での精子受精能の調節は、むしろ SVS2 により抑制制御されている可能性が高いことを示している。

第3章では、SVS2 以外の SVS タンパク質について、SVS2 と類似性をもつ SVS3 と SVS4 が精子受精能を調節しうるか、機能解析を行っている。まず、SVS3 は単独では精子受精能に影響しなかったが、SVS2 のもつ受精能獲得抑制作用を促進した。また SVS4 は受精能獲得の抑制作用を示したが、SVS2 と比べるとその作用は限定的であった。以上の結果より、受精能獲得は複数の SVS により制御されうること、しかし主因は SVS2 であることを示している。

本研究により、精囊分泌タンパク質 SVS による精子受精能の制御機構が明らかとなった。これまで SVS2 は受精能獲得抑制因子と考えられていたが、*in vivo* において精子受精能を制御する主因であると考えられる。また、SVS2 以外の SVS タンパク質も受精能を制御しうることを示し、*in vivo* での精子受精能の制御は複数の因子が SVS2 と協調して行っていることを示唆している。これまで受精能獲得抑制因子の候補は SVS2 を含めていくつも報告されてきたが、*in vivo*、*in vitro* の両面からの解析により、SVS2 の作用機序を明らかにした点において、本論文は評価されるべきものである。哺乳類の受精にはいまだ未解明な点が多く、本研究は生殖生物学の発展に大きく寄与すると考えられる。

なお、本論文の一部は、指導教員の吉田学と同研究室の坂本恵香、および国立成育医療研究センターの宮戸健二、河野菜摘子、桐蔭横浜大学の吉田薫、University of Debrecen (Hungary) の G Trencsényi, ZT Krasznai, E Nizsaóczki との共著論文として印刷公表されたが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上のことから、博士(理学)の学位を授与出来ると認める。