

氏名	河合 康洋
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第2726号
学位授与の日付	平成16年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	雄性生殖腺形成異常ラットの組織学的および分子遺伝学的解析
論文審査委員	教授 国枝 哲夫    教授 佐藤 勝紀    教授 近藤 康博

### 学位論文内容の要旨

TF系統ラットは、雄性仮性半陰陽個体が出現するミュータント系統であり、異常個体は、Y染色体を持ち、精巣を有するにもかかわらず、外部生殖器が雌の表現型を呈する性分化異常となる。また、停留精巣および副生殖腺発達不全なども認められている。さらに異常個体における血漿中のテストステロン濃度は、正常ラットと比較して極端に低く、精巣内にはライディヒ細胞が認められていない。これまでの遺伝学的解析の結果、TFラットの原因遺伝子 *mp* (male pseudohermaphroditism) は、常染色体単一劣性の遺伝様式を取り、ラット第7染色体上の約0.6 cMの領域に存在することが明らかとなっている。本研究では、TFラットにおける雄性仮性半陰陽の原因を解明する事を目的として、その病態をより詳細に解析するとともに、分子遺伝学的手法によって原因遺伝子を同定する事を試みた。

ライディヒ細胞のマーカーである3βHSDおよびINHαに対する抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った結果、*mp/mp* 個体の精巣では胎齢期よりライディヒ細胞が正常個体に比べて極端に少ないことが明らかとなった。また、胎仔期の *mp/mp* 個体におけるテストステロン濃度を測定したところ、正常個体と比較して胎齢15日目より著しく低い濃度であった。これらの結果から、*mp/mp* 個体においては胎仔期よりライディヒ細胞がほとんど存在せず、そのためテストステロン濃度が著しく低下している事が明らかとなった。

より詳細な *mp* 遺伝子座の染色体上の位置を特定するため、TF系統とBN系統間でF<sub>2</sub>個体を作成し、得られた正常雄個体589個体および異常個体194個体を用いて連鎖解析を行った。その結果、*mp* 遺伝子座はラット第7染色体上の *Arf3* 遺伝子から *Tegt* 遺伝子の間約0.12cMの領域に存在することが明らかとなった。この領域にはライディヒ細胞の分化に重要な役割を担っている *Desert hedgehog* (*Dhh*) 遺伝子が存在しており、この遺伝子が *mp* の有力な候補遺伝子と考えられたため *Dhh* 遺伝子の塩基配列の解析を行った。その結果、*mp/mp* 個体の *Dhh* 遺伝子に *Hedgehog* 遺伝子群において保存性が高い第332番目のグリシンがアルギニンへ変化するアミノ酸置換を引き起こす突然変異が検出された。以上の結果から、この突然変異による *Dhh* 遺伝子の機能欠損が雄性仮性半陰陽の原因遺伝子であると結論づけられた。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、原因遺伝子が不明であった雄性生殖腺形成異常ラットについて、その組織学的解析による病態の検討、および原因遺伝子とその変異の同定から、この異常の発生機構の解明を試みたものである。その主な結果は以下の通りである。

このラットの表現型は、ライディヒ細胞の欠損によるテストステロンの分泌障害に起因すると推測されてきたため、まずライディヒ細胞のマーカーに対する抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、異常個体の精巣ではライディヒ細胞が極端に少ないことを明らかとしている。また、胎仔期のテストステロン濃度を測定し、正常個体と比較して著しく低い濃度であることを明らかにしている。これらの結果から、本ラットにおいては胎仔期よりライディヒ細胞がほとんど存在せず、テストステロン濃度が著しく低下している事が明らかとしている。つぎに本異常の原因となる遺伝子座の染色体上の位置を特定するために連鎖解析を行い、この遺伝子座はラット第7染色体上の約0.12cMの領域に存在することを明らかとしている。この領域にはライディヒ細胞の分化に重要な役割を担っている*Dhh* 遺伝子が存在しているため、この遺伝子の解析を行った結果、第332番目のグリシンのアルギニンへの置換を引き起こす突然変異が存在することを明らかにしている。以上の結果から、*Dhh*遺伝子の機能欠損が本雄性生殖腺形成異常ラットの原因遺伝子であると結論づけている。

以上の結果は、組織学および分子遺伝学的手法を用いて雄性生殖腺形成異常ラットの原因遺伝子を解明し、ほ乳類の雄性生殖腺形成の機構の一部を明らかにしたものであり、当該分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、河合康洋氏は自然科学研究科の博士（農学）の学位を受ける資格があるものと判定した。