

# Investigaton for molecular cloning of a gene on the Y chromosome crucial to spermatogenesis and its disorder

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-11-16 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 並木, 幹夫, Namiki, Mikio メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00048969">https://doi.org/10.24517/00048969</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



ヒトY染色体上の無精子症原因遺伝子の同定とその  
機能解明に関する研究

(09470343)

平成10年度科学研究費助成金(基盤研究B)研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 並木幹夫

(金沢大学医学部教授)

発 行 守 贈

## はしがき

不妊症の原因の約半数を占めると考えられている男性不妊症に対する治療は満足できるものではなく、特に男性不妊症の原因の半数以上を占める特発性精子形成障害の病態は未だ不明であり、治療成績も不良である。このため、精子形成機構の解明が、特発性精子形成障害の治療に最も必要とされる研究である。

ところで、最近無精子症患者の DNA 解析から、Y染色体上にその欠失により無精子症が発症する精子形成に関連する遺伝子 **azoospermy factor (AZF)** の存在が明らかになり、その候補遺伝子も報告されてきた。しかし、我々や他の研究者により AZF が複数存在することが判明し、新たな展開を迎えている。

本研究では、精子形成に関わる新たなる遺伝子、新規 AZF を同定し、さらにその機能を解明することにより、特発性精子形成障害は、いかなる病態により生じているのか明らかにし、理論的治療法の確立を目指すもので、本研究の成果により男性不妊症の治療法、治療成績の飛躍的進歩が期待される。

## 研究組織

研究代表者: 並木 幹夫 (金沢大学医学部 教授)

研究分担者: 越田 潔 (金沢大学医学部 講師)

研究分担者: 高 栄哲 (金沢大学医学部 助手)

研究分担者: 中西 義信 (金沢大学薬学部 教授)

## 研究経費

平成 9 年度: 8,000 千円

平成 10 年度: 3,700 千円

計 : 11,700 千円

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Kitamura, M., Matsumiya, K., Yamanaka, M., Takahara, S., Hara, T.,  
Matsumoto, M., Namiki, M., Okuyama, A. and Seya, T.  
Possible association of infertility with sperm-specific abnormality  
of CD46.  
J. Reprod. Immunol. 33: 83-88, 1997.
2. Kondoh, N., Nishina, Y., Tsuchida, J., Koga, H., Uchida, K, Inazawa, J.  
Matsumiya, K., Namiki, M., Okuyama, A. and Nishimune, Y.  
Assignment of synaptonemal complex protein 1 (SCP1) to human  
chromosome 1p13 by fluorescence in situ hybridization and its  
expression in the testis.  
Cytogenet. Cell Genet. 78: 103-104, 1997.
3. Namiki M.  
Genetic aspects of male infertility  
Would J. Surg.: in press, 1999.

4. 並木幹夫、高栄哲、野田透、松宮清美、北村雅哉、近藤宣幸  
精子形成障害に関する遺伝子  
産婦人科の実際 46: 1789-1798, 1997.
5. 並木幹夫、高栄哲、野田透  
精子形成に関わる Y 染色体上の遺伝子 (AZF) について  
産婦人科の世界 50: 441-446, 1998.
6. 並木幹夫、越田潔、高栄哲、金谷二郎  
無精子症関連遺伝子  
小児内科 30: 1068-1071, 1998.

## (2) 口頭発表

### 1. 並木幹夫

特別講演 「精子形成に関わる遺伝子と男性不妊」

第 15 回富士ホルモンカンファランス、1997 年 7 月、箱根

### 2. 並木幹夫

シンポジウム 「精子形成に関わる Y 染色体の遺伝子(AZF)について」

第 42 回日本不妊学会総会、1997 年 11 月、東京

### 3. 並木幹夫

教育講演 「精子形成関連遺伝子をめぐって—AZF を中心に—」

第 43 回日本不妊学会総会、1998 年 11 月、鹿児島

# 研究成果

## 1. 研究目的

出生率低下による人口減少が憂慮される状況下にある現在、不妊症の治療の進歩が期待されているが、不妊症の原因の約半数を占める男性不妊症に対する治療は満足できるものではなく、特に男性不妊症の原因の半数以上を占める特発性精子形成障害の病態は未だ不明であり、治療成績も不良である。このため精子形成機構の解明が、特発性精子形成障害の治療に最も必要とされている。本研究は、Y染色体上に存在する精子形成に関わる遺伝子 AZF を同定し、さらにその機能解析を行なうことにより、ヒト精子形成機構およびヒト精子形成障害の病態の解明し、ひいては男性不妊症の診断および治療の進歩に結び付くことを目的としている。

## 2. 研究方法および結果

### 1) Azoospermy factor gene (AZF) の cloning

男性不妊症患者の DNA 分析により発見した Y 染色体長腕上に存在する精子形成関連遺伝子 AZF の cloning を行うため、無精子症患者または乏精子症患者の Y 染色体欠失地図を作成し、AZF が存在する座位の欠失区間を同定した。さらに、AZF が含まれる YAC を特定し、YAC から作成した cosmid library を用いて、cosmid contig を作成した。さらにこれを restriction cut し、plasmid に subcloning た。現在、無精子症患者父子の微妙な欠失の違いから AZF を、約 30kb の範囲内にしぼりこんだ。また、Exon tapping 法によっても、AZF の cloning を同時進行で行い、約 20 個の Exon と考えられるシーケンスを得た。これらの中には新たな遺伝子も含まれており、human testis cDNA library で screening を行なっている。



## 2) ヒト精細胞分化誘導遺伝子の cloning

マウス精細胞を特異的に認識する種々の抗体を作成し、この抗体をプローブとしてマウス精巣 cDNA library より 19 clone を単離した。このうち、mouse SCP-1 をプローブとしてヒト精巣 cDNA library より human SCP-1 を cloning した。humanSCP-1 は精細胞の減数分裂前期に出現し、正常な分裂に必要な構造体である synaptonemal complex の一部を構成する蛋白をコードし、精細胞の分化に重要な役割を有していると考えられた。

## 3) 精細胞培養系の確立

上記遺伝子の cloning をふまえ、上記遺伝子導入実験の予備実験として、ラット精細胞を *in vitro* で一定期間培養することに成功した。さらにヒト精細胞でも *in vitro* で一定期間培養することに成功した。

## 3. 結論および今後の研究の展開

以上の研究成果により、ヒト Y 染色体上の精子形成に関わる遺伝子 AZF が明らかになりつつある。今後は、AZF の機能解析により、精子形成機構が分子生物学的に解明されれば、特発性精子形成障害の原因が判明し、治療法が飛躍的に進歩するものと予想される。また、ヒト精細胞培養系の確立により、精子形成障害に対する遺伝子治療も当然技術的には可能となるため、倫理面も含めた慎重な治療法の検討が必要となるであろう。