

Localization and function of tumor suppressor Wwox in postnatal testicular development and spermatogenesis

(生後精巣発達と精子形成における腫瘍抑制因子 Wwox の局在と機能)

Abstract of Doctoral Thesis

Md. Abdullah-Al-Mahmud

Graduate School of Veterinary Medicine and Life Science

Nippon Veterinary and Life Science University

要旨

WW domain-containing oxidoreductase (*Wwox*) は推定上の腫瘍抑制因子であり、内分泌学的な制御を受ける組織で高度に発現し、生殖腺の正常な発達に必須であると考えられている。てんかんを伴う致死性の矮小症 (*lde/lde*) と命名された *Wwox* 欠損ラットモデルは、血漿の低ゴナドトロピン低テストステロンレベル、生殖細胞のアポトーシスの増加、セルトリ細胞(SCs)数の減少、ライディッヒ細胞(LCs)の発達遅延を呈する。本研究では、精巣の発達における *Wwox* の機能を明らかにするために、*Wwox* の細胞分布と細胞内局在、アポトーシスを起こす生殖細胞のタイプ、アポトーシスのメカニズム、SCs と LCs の分化、ステロイド産生について、正常(+/+)と *lde/lde* ラットを用いた主に *in vivo* の実験によって分析した。*Wwox* は、ステップ 18 および 19 の精子細胞、精子、および管周囲筋様細胞を除く、精巣のほぼ全ての細胞型で発現していた。*Wwox* は強いシグナルの焦点(FISWs)を伴って細胞質に拡散して存在し、FISWs は生殖細胞の分化に伴って濃縮し、形状が変化した。この過程において、*Wwox* は cis-Golgi (GA)マーカーと共局在し、GA 濃縮分画に存在していた。さらに、*Wwox* の細胞内局在は分離した単一細胞でも確認された。精母細胞の出現の遅延、パキテン期精母細胞 (P-SPs) のアポトーシスの増加、および減数分裂後の精子細胞の欠損は *lde/lde* の精巣における初回精子形成(FRS)の中断を示唆した。興味深いことに、*lde/lde* の精巣の P-SPs では、GA 関連タンパク質の golgin-160 の発現が減少し、GA 外側の細胞質内において異常に明瞭な濃縮したシグナル(ABCSs)を形成していた。同様の golgin-160 の発現の変化とアポトーシスの増

加は、GnRH 阻害剤(Cetrorelix) 処理の精巣、外科的誘導の潜伏精巣、血清飢餓状態の *lde/lde* ラットの胎仔線維芽細胞でも認められた。これらの発見から、*Wwox* の欠損は、ゴナドトロピンとテストステロンの低下した状態において、*lde/lde* の精巣における golgin-160 の変化を引き起こし、パキテン期精母細胞のアポトーシスを増加させ、FRS における減数分裂後期精子形成を中断させることが示唆された。FRS 期の SCs における nestin 陽性 SCs の有意な増加、抗ミューラー管ホルモンの発現増加、アンドロゲン受容体発現の減少は、*lde/lde* の SCs が機能的に未熟であることを示した。SCs の分化遅延は FRS 期の *lde/lde* の精巣での LCs (P-LCs) 系図細胞の増殖と分化の有意な遅延と関連していることが示唆された。まとめると、これらの結果は、*Wwox* がラットにおいて FRS 期の SCs と LCs の正常な発達、精子形成、およびステロイド産生に必須であることを示唆している。