

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2008

課題番号：18208029

研究課題名（和文） 雌性生殖器での精子機能制御の仕組み

研究課題名（英文） Regulatory Mechanism of Sperm Function in Female Reproductive Tract

研究代表者

馬場 忠 (BABA TADASHI)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授

研究者番号：40165056

研究分野：分子細胞生物学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：①受精 ②子宮 ③輸卵管 ④精子機能 ⑤マウス

### 1. 研究計画の概要

この研究では、精子が雌性生殖器内で子宮から輸卵管へ移動し卵管膨大部で卵子と融合するまでの過程で起こる仕組みを明らかにするための基礎研究を推進する。具体的には、マウス子宮や卵管での精子の受精能獲得機構や卵管膨大部での卵子卵丘細胞複合体による精子選別機構などに関する研究を行い、哺乳動物雌性生殖器での精子機能制御機構に関して総括的にまとめる。

### 2. 研究の進捗状況

(1)精子セリンプロテアーゼ PRSS21 の欠損マウスをES細胞経路で作製した。その欠損マウスの妊孕性は正常であったが、精巣上体精子は体外受精能が顕著に低下していた。次に、その精巣上体精子を子宮内に注入し24時間後に受精卵を回収すると、野生型マウスと同程度の受精率であった。また、自然交尾後直ちに子宮からPRSS21欠損精子を回収して体外受精試験を行うと、著しい受精率の上昇が認められた。体外受精の際に子宮分泌液を添加した場合にも、PRSS21欠損精子の受精能だけでなく、卵子透明帯結合能や卵子との融合能が有意に増加した。しかし、その欠損精子の透明帯上でのアクロソーム反応は子宮分泌液添加でも改善されず、同時に精子の透明帯通過能が非常に低率であった。これらの結果から、子宮や卵管分泌液中には精子の受精能を賦与する因子が存在することが明らかになった。また、PRSS21は精子の卵子透明帯通過で機能していることも明確になった。

(2)精子ヒアルロニダーゼHYAL5とSPAM1の欠損マウス精子を解析し、SPAM1欠損により精子の卵子卵丘細胞複合体への侵入と卵子透明

帯への到達が極端に遅延することが判明した。HYAL5欠損精子は、野生型精子との機能的な差異が見いだせなかった。また、卵子卵丘細胞複合体からの卵丘細胞分散に関する精子タンパク質の同定を試み、HYAL5とSPAM1のほかにセリンプロテアーゼACRやPRSS21が分散を促進させていることが明らかになった。このように、卵子卵丘細胞複合体には精子排除機構があることが明らかになった。また、精子の卵丘細胞層通過にヒアルロニダーゼは必須ではなく、透明帯へ到達する以前にアクロソーム反応を起こしており、それによって卵丘細胞層通過を容易にしている可能性が見いだされた。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

この研究計画の主要な目的はほぼ達したと判断している。まもなく、精子が子宮、卵管を経由して卵管膨大部で受精に至るまでのメカニズムに関する新しいモデルを提唱できると考えている。しかし、子宮や卵管由来の精子受精能付与因子の精製と化学構造決定が困難を極めており、今後の研究発展が望まれる。このことが達成できている場合には、「当初の計画以上に進展している」と判断しても良いと考えている。

### 4. 今後の研究の推進方策

今後とも受精能付与因子の分子レベルでの研究が必要であり、化学構造の決定によって基礎・応用面で大きな研究の進展が期待できる。また、子宮から輸卵管への精子移動制御機構と卵管での精子接着・離脱機構についても研究を進める必要がある。

5. 代表的な研究成果  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計19件)

- ① Yamashita, M., Honda, A., Ogura, A., Kashiwabara, S., Fukami, K., and Baba, T. Reduced fertility of mouse epididymal sperm lacking Prss21/Tesp5 is rescued by sperm exposure to uterine microenvironment. *Genes Cells* 13: 1001-1013 (2008) 査読あり
- ② Kim, E., Yamashita, M., Kimura, M., Honda, A., Kashiwabara, S., and Baba, T. Sperm penetration through cumulus mass and zona pellucida. *Int. J. Dev. Biol.* 52: 677-682 (2008) 査読あり
- ③ Yamashita, M., Yamagata, K., Tsumura, K., Nakanishi, T., and Baba, T. Acrosome reaction of mouse epididymal sperm on oocyte zona pellucida. *J. Reprod. Dev.* 53: 255-262 (2007) 査読あり
- ④ Kim, E., Yamashita, M., Nakanishi, T., Park, K. -E., Kimura, M., Kashiwabara, S., and Baba, T. Mouse sperm lacking ADAM1b/ADAM2 fertilin can fuse with the egg plasma membrane and effect fertilization. *J. Biol. Chem.* 281: 5634-5639 (2006) 査読あり

[学会発表] (計27件)

- ① Baba, T. Functional defects of Tesp5-deficient mouse sperm in fertilization *in vitro* are restored by sperm transit through the uterus. Gordon Research Conferences. New Hampshire, July 17, 2007.

[その他]

ホームページ

<http://www.agbi.tsukuba.ac.jp/~tblab/>