

令和 3 年 2 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19322

研究課題名(和文)脳と精巣の機能ネットワークの解明

研究課題名(英文)Elucidation of a network between brain and testis

研究代表者

上阪 直史(Uesaka, Naofumi)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・講師

研究者番号：70597624

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文):生殖細胞である精子形成のメカニズムに関して不明な点が多く残されている。本研究では、カルシウムが精子形成を制御する可能性を検討するために、イメージングや光遺伝学などの細胞活動操作技術を応用し、脳活動を操作したときの精巣細胞のカルシウム活動をリアルタイムで観察・操作できるin vivo実験系の開発を目指した。成果として、マウス精巣においてin vivoカルシウムイメージング法を新規に開発し、in vivoで細胞のカルシウム活動を1細胞レベルかつ多色でイメージングすることが可能となった。また精巣においてカルシウム活動を駆動しうる分子を見出し、カルシウム活動が精子形成に関与する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖細胞は生物の遺伝情報を次世代へ伝える細胞であり、進化に関わるロマンあふれる細胞である。本研究で生殖細胞である精子に注目し新規イメージング技術を開発したことにより、脳が精子形成を制御するメカニズムを明らかにできる可能性が出てきた。この研究の成果は、生物が次世代に情報を伝える仕組みやその結果起こる進化の仕組みを解明する上で重要な知見となる。

研究成果の概要(英文):There are many unclear points for mechanisms of spermatogenesis. In this study, I examined the hypothesis that calcium regulates spermatogenesis. I applied calcium imaging and optogenetics to observe and manipulate calcium activity of testicular cells in real time in vivo. I could develop a new in vivo calcium imaging method and a activity manipulation method in mouse testis which could image and manipulate the calcium activity of cells in vivo at single cell level and multicolor. I also found a molecule mechanism which drives calcium activity in the testicular cells and that calcium activity might be involved in spermatogenesis.

研究分野：生殖生物学

キーワード：精巣 カルシウム 脳 in vivo イメージング 活動操作

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生殖細胞は生物の遺伝情報を次世代へ伝える細胞であり、進化に関わるロマンあふれる細胞である。本研究では、生殖細胞である精子に注目し、新規イメージング技術を開発することにより脳が精子形成を制御するメカニズムを明らかにする。この研究の成果は、生物が次世代に情報を伝える仕組みやその結果起こる進化の仕組みを解明する上で重要な知見となる。

哺乳類の精子は、精巣内で精子幹細胞である精原細胞が精母細胞、精子細胞に分化することで形成される。またこれら精子になる細胞の周辺に存在し、精子形成に関わる細胞として、セルトリ細胞、ライディッヒ細胞、精細管筋様細胞がある。従来、脳の下垂体から放出されるホルモンがセルトリ細胞やライディッヒ細胞を介して精子形成を促進・抑制することが知られているが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。さらに、脳からのシグナルが精子のゲノム・エピゲノム・RNAを制御するのかは報告がない。その主な理由は、脳活動を操作したときの精巣細胞の活動や精子形成は調べられていないからである。申請者はこの問題を解明するために、精巣細胞の活動をリアルタイムで観察・操作できる *in vitro* イメージング法を開発してきた。

2. 研究の目的

本研究では、光遺伝学など細胞活動操作技術を応用し、脳活動や脳由来因子を操作したときの精巣細胞の活動をリアルタイムで観察・操作できる *in vivo* 実験系の開発を目指した。この系を用い以下の達成目標を掲げた。

- 精巣内の情報伝達の流れを明らかにする。そのために精巣の各細胞がどのような時空間パターンで活動するかを解析する。
- 脳細胞の活動がどのように精巣細胞の活動を修飾するかを解析する。
- 脳細胞・精巣細胞の活動と精子形成の関係を調べ、脳による精子形成の制御メカニズムをひもとく。

3. 研究の方法

本研究では、脳由来因子を操作したときの精巣細胞の活動をリアルタイムで観察・操作できる *in vivo* 実験系を開発するために、光遺伝学など細胞活動操作技術やイメージング法を応用した。この系を用い、まず精巣内の情報伝達の流れを調べた。そのために精巣の各細胞がどのような時空間パターンで活動するかを解析した。その上で、脳由来因子がどのように精巣細胞の活動を修飾するかを解析した。これらにより、脳細胞と精巣細胞との機能ネットワークを明らかにすることを目指した。また、脳由来因子や精巣細胞の活動が精子形成に果たす役割を調べるために、脳由来因子や精巣細胞を操作したときの精子形成を精子、精原細胞、精母細胞の数を解析した。

4. 研究成果

マウス精巣において *in vivo* カルシウムイメージング法を新規に開発し、*in vivo* で細胞のカルシウム活動を1細胞レベルかつ多色でイメージングすることが可能となった。また精巣においてカルシウム活動を駆動しうる分子を見出し、カルシウム活動が精子形成に関与する可能性を見出した。具体的には、*in vivo* で各精巣細胞タイプ(セルトリ細胞、ライディッヒ細胞、精細管筋様細胞、精子形成細胞)の活動を検出できるカルシウムイメージング法を開発した。この方法により、*in vivo* で各精巣細胞におけるカルシウム活動を1細胞レベルかつリアルタイムでイメージングすることが可能となった。また、2種類の細胞で同時にカルシウム活動を観察するために、1つめの細胞種に GCaMP6f を別の細胞種に jRGECO1 を発現させた。その結果、2種類の細胞で同時にカルシウム活動パターンを観察することに成功した。脳由来因子である FSH やテストステロンが精巣細胞のカルシウム活動を誘発することを見出した。またその精巣におけるカルシウム活動を駆動しうる分子のノックダウン・ノックアウトをおこない、精巣のカルシウム活動をカルシウムイメージングで解析した。その結果、当該分子をノックダウンした精巣細胞のカルシウム活動が減弱することを見出した。さらに、当該分子をノックダウン・ノックアウトした精巣において精子形成を調べた結果、精子数が減弱していることを示唆する結果を見出した。

生殖細胞は生物の遺伝情報を次世代へ伝える細胞であり、進化に関わるロマンあふれる細胞である。本研究で生殖細胞である精子に注目し新規イメージング技術を開発したことにより、脳が精子形成を制御するメカニズムを明らかにできる可能性が出てきた。この研究の成果は、生物が次世代に情報を伝える仕組みやその結果起こる進化の仕組みを解明する上で重要な知見となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Naofumi Uesaka, Tzu-Huei Kao, Masanobu Kano
2. 発表標題 Activity-dependent synapse elimination in the developing cerebellum
3. 学会等名 FAOPS2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenichiro Nagahama, Kazuto Sakoori, Takaki Watanabe, Naofumi Uesaka, Masanobu Kano
2. 発表標題 Reduced synaptic inputs in prefrontal cortex by lack of a mental disorder-related epigenetic factor
3. 学会等名 FAOPS2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kushibe Kyoko, Celine Mercier, Takaki Watanabe, Taisuke Miyazaki, Miwako Yamasaki, Masahiko Watanabe, Naofumi Uesaka, Masanobu Kano
2. 発表標題 Fndc3b promotes climbing fiber synapse elimination partly by inhibiting STAT3 in the cerebellum
3. 学会等名 FAOPS2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaki Watanabe, Shutaro Inoue, Tsubasa Akamatsu, Honoka Suzuki, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Naofumi Uesaka, Masanobu Kano
2. 発表標題 Accelerated climbing fiber synapse elimination in cerebellar Purkinje cells lacking protocadherin 10
3. 学会等名 FAOPS2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Myeong Jeong Choo:Naofumi Uesaka:Masahiko Watanabe:Kenji Sakimura:Masanobu Kano:
2. 発表標題 Retrograde BDNF signaling required for synapse elimination in the developing cerebellum
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenichiro Nagahama: Kazuto Sakoori:Takaki Watanabe:Naofumi Uesaka:Masanobu Kano
2. 発表標題 Impaired Synapse Development in Mouse Medial Prefrontal Cortex by Deletion of a Histone-Modifying Enzyme Implicated in Psychiatric Disorder
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tzu-Huei Kao:Kyoko Matsuyama:Naofumi Uesaka:Masanobu Kano
2. 発表標題 Roles of synaptic transmission in climbing fiber to Purkinje cell synapse elimination during postnatal cerebellar development
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----