

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19791120  
 研究課題名（和文） 精子の受精能に係わる責任遺伝子の同定とその機能解明

研究課題名（英文） The role of mRNA carried by sperm

## 研究代表者

梅本 幸裕（UMEMOTO YUKIHIRO）  
 名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
 研究者番号：80381812

## 研究成果の概要：

造精障害モデルとして片側停留精巣ラットおよび手術により片側精巣を挙上したラットを作成した。それぞれの精巣および精巣上体精子からの mRNA 抽出。ラットでのプライマーである Clusterin, Protamine2, WNT5A の 3 種の mRNA 測定を行った。

停留精巣モデル患側精巣からは造精機能が均一に傷害され Johnsen' s score 7 であったため精子採取できず。健側での精子採取を行った。また精巣組織での mRNA の発現変化も同時に検討を行った。Clusterin の発現については特に患側、健側と変化は認めなかった。Protamine2, WNT5A については停留精巣において発現の低下を認めた。

精巣での Protamine2, WNT5A, Clusterin の発現を免疫染色にて確認した。Protamine2 の発現は陰嚢内に下降した精巣では精子細胞において陽性に反応した。しかし停留精巣においては全く発現していなかった。WNT5A は Leydig cell において健側、患側精巣ともに陽性を示した。Clusterin は Sertoli cell において発現を認めたが、患側である停留精巣側の精細管内に強く発現を認めた。

以上の結果から精子に認められる mRNA は精子が運ぶべき DNA や遺伝子保護をしたり、精子自身が正常に作られるためのものと考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	450,000	3,650,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード： mRNA、 clusterin、 protamine2、 WNT5A、 造精機能、 停留精巢、 sertoli cell、 leydig cell

### 1. 研究開始当初の背景

最近、精子に mRNA が存在していることが判明した。その役割については明らかではない。そこで精子内 mRNA の機能解析をすることにより、精子形成における遺伝子発現を調べ、受精メカニズムを解明するきっかけになると考えた。

### 2. 研究の目的

様々な条件の精子の mRNA について機能解析を行うこと、および精子毎の遺伝子の存在や違いの確認を行い、精子の受精に関与している遺伝子を解明すること。また受精のみならず初期発生についても精子の役割は重要であり、これを含めて精子のメカニズムの解明をすすめること。

### 3. 研究の方法

造精障害モデルとして妊娠ラットにフルタミドを投与しての片側停留精巢ラットおよび手術により片側精巢を挙上したラットを作成した。それぞれの精巢および精巢上体精子からの mRNA 抽出し、ラットでのプライマーである clusterin, protamine2, WNT5A の3種の mRNA 測定を行った。また摘出精巢から上記3種の各種免疫染色および H-E 染色を施行した。

### 4. 研究成果

停留精巢モデル患側精巢からは造精機能が均一に傷害され Johnsen' s score 7 であったため精子採取できず。健側での精子採取を行った。精巢挙上モデル患側精巢からは造精機能が不均一に傷害され Johnsen' s score は平均 7 であったため精子採取できず。健側での精子採取を行った。

また精巢組織での mRNA の発現変化も同時に検討を行った。

Clusterin の発現については特に患側、健側と変化は認めなかった。

protamine2, WNT5A については停留精巢において発現の低下を認めた。

精巢での protamine2, WNT5A, clusterin の発現を免疫染色にて確認した。protamine2 の発現は陰嚢内に下降した精巢では精子細胞において陽性に反応した。しかし停留精巢においては全く発現していなかった。WNT5A は leydig cell において健側、患側精巢ともに陽性を示した。clusterin は sertoli cell において発現を認めたが、患側である停留精巢側の精細管内に強く発現を認めた。

### 5. 主な発表論文等

(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 3 件）

- ① Umemoto Y, Sasaki S, Kohri K  
Azoospermia patient with  
quadruplicate DAZ genes Int J Urol.  
Feb;16(2):223. 2009 査読有り
- ② Umemoto Y, Sasaki S, Kojima Y, Kaneko  
T, Yanai Y, Kohri K One case of  
azoospermia with Klippel-Feil anomaly  
Int J Urol. Feb;15(2):188-9. 2008  
査読あり
- ③ 梅本幸裕、佐々木昌一、郡 健二郎 男  
性不妊症に対するマイクロサージェリ  
ー 顕微鏡下精巣上体精子吸引術 臨  
床泌尿器科 62:571-573. 2008  
査読なし

〔学会発表〕（計 3 件）

- ① 精子に存在する mRNA の機能解析  
梅本幸裕、佐々木昌一、小島祥敬、水野  
健太郎、岩月正一郎、金子朋功、神谷浩  
行、窪田裕樹、窪田泰江、池内隆人、林  
祐太郎、郡 健二郎  
第 97 回日本泌尿器科学会総会  
(2009. 4. 16-19. 岡山)
- ② The role of the m-RNA that sperm carry.  
Yukihiro Umemoto, Shoichi Sasaki,  
Kentaro Mizuno, Yoshiyuki Kojima,  
Kenjiro Kohri  
9<sup>th</sup> International Congress of  
Andrology  
(2009. 3. 7-10. バロセロナ)
- ③ 精子受精能に係わる責任遺伝子の検索  
梅本幸裕、佐々木昌一、小島祥敬、水野  
健太郎、岩月正一郎、金子朋功、神谷浩

行、窪田裕樹、池内隆人、郡健二郎  
第 27 回日本アンドロロジー学会総会  
(2008. 7. 4-5. 京都)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅本 幸裕 (UMEMOTO YUKIHIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：80381812

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし