

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09671

研究課題名(和文) 抗老化遺伝子SIRT1に着目した男性不妊の病態解明と新規治療法の探索

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis of male infertility and search for new treatment focusing on anti-aging gene SIRT1

研究代表者

中根 裕信 (Nakane, Hironobu)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授

研究者番号：10304205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：少子化の点から、男性不妊に対する侵襲性の少ない新たな治療法が求められている。本研究は、一部の男性不妊ではDNA修復異常の報告があることから、造精機能障害の新病態に基づく治療法の開発を目的とする。本研究で、DNA修復欠損マウス(Xpaマウス)の精巣変性がオートファジーの誘導によることを見出し、論文として発表した(Nakane et al, 2020)。また、オートファジー・モニターDNA修復欠損マウス(Xpa-LC3)は、Xpaマウスより早期に精巣病変を生じ、NAD+中間体の影響評価の可能性を見出した。さらに、同マウス精巣での網羅的解析を実施・解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、DNA修復を欠き老化促進を示すXpaマウスを用いたので、抗老化因子の低下によるオートファジーの亢進が見いだせた。本研究の「造精障害を老化促進ととらえた」着想は、この系の独自性に導かれ他に例を見ない。本研究で使用するNAD+中間体は内在性生理物質で、生体内で常に使用されていて次世代の遺伝情報への影響はないと考えられ安全である(ヒトでも確認)。本研究は、他の造精障害の治療法[再生医療・遺伝子導入]と異なり、不妊患者本人の精巣内環境の破綻状態を改善し、造精可能な環境を整え精子形成を維持する治療である。この治療の有用性が示せれば、インパクトは大きいであろう。

研究成果の概要(英文)：There is a need for a new, less invasive treatment for male infertility. The purpose of this study is to develop a treatment method based on the new pathology of spermatogenic dysfunction, as DNA repair defects have been reported in some cases of male infertility. In this study, we found that testicular degeneration in DNA repair-deficient mice (Xpa mice) is due to the induction of autophagy, which we published in a paper (Nakane et al, 2020). In addition, autophagy monitor DNA repair-deficient mice (Xpa-LC3) develop testicular lesions earlier than Xpa mice, revealing the possibility of assessing the effects of NAD+ intermediates. Furthermore, using these mice, comprehensive analysis of Xpa-LC3 mouse testis by NAD+ intermediates is underway.

研究分野：解剖学、男性不妊症

キーワード：DNA修復欠損マウス Xpaマウス sirt1 精子形成不全 autophagy

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

男性不妊の原因や病態は不明なものも多く、現代社会における少子化の点から、安全かつ安心な治療法が求められている。一部の男性不妊患者精巣において DNA 修復に機能する Xpa 遺伝子の発現低下を示すケースが存在したので、我々はヒト男性不妊患者の精巣で Xpa マウスと同様の病態が生じているとの仮説を持つに至った。色素性乾皮症(XP)は、日光紫外線による高頻度の皮膚癌発生と精神神経症状、さらに精巣発育不全を臨床的特徴とし、DNA 修復(ヌクレオチド除去修復)に異常をもつ遺伝疾患である。これまで我々は、A 群色素性乾皮症遺伝子(Xpa 遺伝子)を欠損した Xpa 遺伝子欠損マウス(Xpa マウス)の解析から、このマウス精巣が、加齢とともに造精障害となることを見出し、その障害がオートファジーの誘導による可能性を見出し報告した。最近、A 群色素性乾皮症の患者細胞において、NAD⁺の減少によって抗老化遺伝子サーチュイン 1(Sirt1)の発現が低下し、オートファジーが亢進する新病態がわかってきた。Xpa マウス精巣での新病態の評価及び造精障害の治療の可能性の検証を試みた。

2. 研究の目的

本研究は、老化制御因子のニコチンアミドモノヌクレオチド等の NAD⁺の中間代謝産物(NAD⁺中間体)を補うことで、Sirt1 の発現を正常レベルに維持し、Xpa マウス精巣の造精障害(オートファジー誘導及び精子形成過程の細胞の変性)が抑制されるか否かを調べる。そして、造精機能障害の新たな病態に基づく治療を行うことで、造精障害の治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

Xpa マウス及び Xpa-LC3 マウスを用い、精巣の造精障害およびオートファジーの状態をモニターし、NAD⁺の中間代謝産物(NAD⁺中間体)の投与による効果を調べ、その分子メカニズムの解析を行うために、以下の実験を行った。Xpa マウス及び Xpa-LC3 マウスに、NAD⁺中間体を投与し、Xpa マウス精巣への効果を病理組織学的・網羅的に確認する。組織学的には、オートファジーに関わる精子形成過程の細胞の空胞化の変化も含め検討する。

4. 研究成果

1) 我々は、3 ヶ月令 Xpa マウス精巣で、大きな空胞をもつ精細管が増加し、また精巣組織の WB によってオートファゴゾームに特異的発現する LC3-II/ LC3-I 比の上昇が見られ、Xpa マウス精巣におけるオートファジー亢進を証明した(Nakane et al, 2020)。また、同マウス脳・肝臓・腎臓・精巣において XPA 蛋白質によって修復される酸化 DNA 損傷であるサイクロプリンの蓄積も証明した(Mori, Nakane et al, 2019)。

2) Xpa マウス及び Xpa-LC3 マウスを用い、精巢の造精障害およびオートファジーの状態をモニターし、NAD+の中間代謝産物 (NAD+中間体) の投与による効果を調べた。これまで、3 ヶ月令 Xpa マウスに着目し、1-2 ヶ月令マウスに「NAD+中間体」を経口投与(飲水ボトル)・腹腔内投与(1回/日・5日間)したが、病理組織学的な検索で精細管の空胞・変性の改善はなかった。しかし、「NAD+中間体」による遺伝子発現等への効果を調べるために、網羅的解析を行っている。

3) 上記解析とともに、LC3 (オートファゴソームに特異的発現) を過剰発現する Xpa(Xpa-LC3) マウス精巢の検索を行った。すると4週令 Xpa-LC3 マウスが、対照に比べ、精細管の約 1/3 に空胞・変性があった(同週令 Xpa マウスにない病変で、Xpa マウスよりもオートファジー亢進の可能性)。このことから、「NAD+中間体」効果を検証するのに Xpa-LC3 マウスの系が適すると考えた。現在、「NAD+中間体」を投与[生後1週令]した4週令マウス、3ヶ月令 Xpa-LC3 マウス精巢を病理組織学的・網羅的に検索中である。

上記の研究を進めることにより、Xpa マウス精巢での新病態の評価及び造精障害の治療の可能性が明らかになり、造精障害の新たな治療法開発に貢献すると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakane H, Higaki K, Koyama Y, Nanba E, Kaidoh T.	4. 巻 41
2. 論文標題 Autophagy induction on impaired spermatogenesis of xeroderma pigmentosum group A gene-deficient mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedical Res (Tokyo).	6. 最初と最後の頁 237-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.41.237.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Toshio Mori, Hironobu Nakane, Takaaki Iwamoto, Marios G. Krokidis, Chryssostomos Chatgililoglu, Kiyoji Tanaka, Toshiyuki Kaidoh, Masatoshi Hasegawa, Shigeki Sugiura	4. 巻 80
2. 論文標題 High levels of oxidatively generated DNA damage 8,5'-cyclic-2'-deoxyadenosine accumulate in the brain tissues of xeroderma pigmentosum group A gene-knockout mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DNA Repair (Amst)	6. 最初と最後の頁 52-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dnarep.2019.04.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中根裕信、小山友香、海藤俊行
2. 発表標題 Xpaマウス精子形成不全におけるオートファジーの解析
3. 学会等名 第75回中国・四国支部学術集会（2021年10月30日オンライン開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakane H, Higaki K, Koyama Y, Nanba E, Kaidoh T.
2. 発表標題 Autophagy induction on impaired spermatogenesis of xeroderma pigmentosum group A gene-deficient mice
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hironobu Nakane, Toshio Kameie, Toshiyuki Kaidoh
2. 発表標題 Histological investigation of autophagy in xeroderma pigmentosum group A gene (Xpa)-deficient mice testis
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019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
研究分担者	小山 友香 (Koyama Yuka) (30827572)	鳥取大学・医学部・助教 (15101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------