

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22358

研究課題名（和文）精子幹細胞はなぜ動くのか？

研究課題名（英文）Elucidation of role of sperm stem cell motion

研究代表者

原 健士朗（Hara, Kenshiro）

東北大学・農学研究科・准教授

研究者番号：60551546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、マウス精子幹細胞が精巣内の基底膜上を活発に遊走する現象の生理的役割を解明するため、精子幹細胞における遺伝子の発現・機能解析を行った。その結果、マウス精子幹細胞がランダムに動きながら自らの足場となる基底膜タンパク質を分泌する現象を見出し、動きが精子形成の場の構造維持に参与している可能性が考えられた。今後、同タンパク質の分泌阻害や動きを止めた場合に生じる影響を検討することで、精子幹細胞の動きの役割の一端が解明されることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精子幹細胞の遊走は、精子産生の維持そして組織傷害後の再生に寄与する重要現象だが、そのメカニズムは殆ど謎に包まれている。本研究によって幹細胞が遊走しながら足場となる基底膜の維持に参与する可能性が示され、遊走現象の生理的役割の一端が明らかになった。以上の基礎的知見は、産業動物、野生動物、ヒトの造精機能の制御や造精機能障害の原因究明の応用研究に発展する可能性を持つ成果である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to understand the physiological roles of sperm stem cell motion on the basement membrane of mouse testis. Through the gene expression analyses, we revealed that sperm stem cells were expressed some extracellular matrix related genes which might contribute to maintain the homeostasis of basement membrane of seminiferous tubules. Further functional analysis will be needed to reveal the biological significance of these phenomenon.

研究分野：動物生命科学

キーワード：精巣 精子 精子幹細胞 細胞移動

### 1. 研究開始当初の背景

精子幹細胞は雄の安定的精子生産に必須であり、同細胞集団の維持機構の解明は、産業・実験動物における雄繁殖機能の基礎的理解に加え、ウシやヒトでしばしば問題となる雄低妊孕化の原因究明とその対処法の開発に貢献する。しかし、生体内での精子幹細胞の振舞いや制御実態は十分理解されていない。最近申請者は、生体内イメージング技術を利用して、マウス精子幹細胞が能動的に移動(遊走)しながら集団を維持する現象を発見した(Hara et al., 2014)。この発見に基づき、精子幹細胞はなぜ動くのか?という疑問が生じた。幹細胞の遊走機構とその生理的役割を解明することで、基礎的な幹細胞制御機構の理解だけでなく、非モデルの産業・実験・野生動物に適用可能な非破壊的な精子幹細胞の同定技術開発の応用研究への発展が期待される。

### 2. 研究の目的

本研究では、マウス精子幹細胞の遊走の制御機構を解明することを目的とした。特に、幹細胞遊走の足場となる基底膜形成のメカニズムに着目した。

### 3. 研究の方法

まず、精子幹細胞を材料として、RT-PCR、免疫組織化学、in situ ハイブリダイゼーションにより、幹細胞で発現する基底膜関連遺伝子を検討した。次いで、条件的遺伝子欠損解析を行うため、既知および本研究で特定した遺伝子群について flox マウスの導入を行い、幹細胞特異的 Cre マウスと交配することで、in vivo での遺伝子機能解析を行うことを予定した。

### 4. 研究成果

#### (1) 遺伝子・タンパク発現解析

まず、出生後から性成熟後までのマウス精巣における pan ラミニンタンパク質局在の変化を免疫組織化学によって解析した(図1)。0日齢のマウス精巣では、DDX4 陽性の前精原細胞、筋様細胞、基底膜およびセルトリ細胞においてラミニンタンパク質の局在が認められた。一方、2週齢以降のマウス精巣では、PLZF 陽性の未分化型精原細胞、筋様細胞および基底膜においてラミニンタンパク質の局在が認められたのに対し、セルトリ細胞でのシグナルは低下した。以上のことから、成長期から成体期まで一貫して未分化型精原細胞においてラミニンが局在すること、セルトリ細胞においては幼若期にはラミニン局在が認められるものの成熟に伴ってその発現は低下することが明らかになった。精細管外側の筋様細胞に加え、精細管内側の未分化型精原細胞がラミニン分泌を行う主要な細胞であることが明らかになり、幹細胞が動きながら基底膜恒常性に関与しているという仮説が考えられた。一方、2週齢までのセルトリ細胞によるラミニン分泌については、おそらく成熟過程の精細管成長に伴う基底膜面積拡大に寄与すると考えられた。

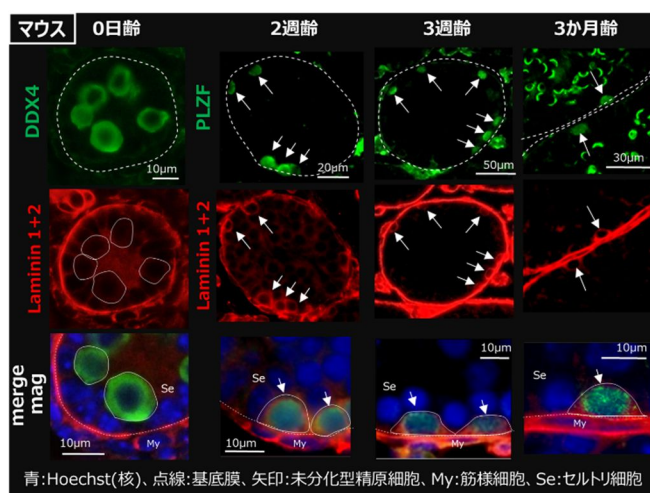


図1 マウス精巣におけるラミニンタンパク発現

次に、ラミニンサブユニット遺伝子のうち、未分化型精原細胞で発現するものを特定するため、細胞レベルの遺伝子発現解析を行った。成体マウスの未分化型精原細胞を表面抗原を利用したセルソーティングによって回収し、サブユニット遺伝子を網羅的に解析した結果、いくつかのサブユニット遺伝子が高発現することを見出した。これらの発現は、リアルタイム RT-PCR によっても確認した。特に高発現していた遺伝子について、組織学的に in situ ハイブリダイゼーション解析も行い、精細管内で未分化型精原細胞特異的に発現することを確認した。

#### (2) 遺伝子機能解析

本研究で明らかにした遺伝子に対する Flox マウスの導入を行ったが、当初想定していなかった物流の遅れから当初の計画より大幅に導入が遅れた。このため、本研究期間内に遺伝子機能の解析を行うことが出来なかった。同マウスについては、現在 Cre マウスとの交配を行っており、今後、遺伝子機能の解析を進めて幹細胞遊走の分子機構理解につなげる予定である。

以上のように、本研究では、当初の計画からはやや遅れが生じたものの、細胞・組織レベルの遺伝子発現・タンパク局在解析によって精子幹細胞が動きながら基底膜維持に関与する可能性を見出すことが出来た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kanamori Mizuho, Oikawa Kenta, Tanemura Kentaro, Hara Kenshiro	4. 巻 18
2. 論文標題 Mammalian germ cell migration during development, growth, and homeostasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 247 ~ 255
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12283	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kenshiro Hara
2. 発表標題 Sperm stem cell behaviors in mammalian testis
3. 学会等名 International symposium on new insights on animal nutrition, breeding and reproduction.（招待講演）（国際学会）
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------