

令和 6 年 5 月 16 日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16888

研究課題名（和文）女性の補体活性化メカニズム：子宮が選ぶ良い精子とは？

研究課題名（英文）The mechanism of complement system activation in women: What sperm does the uterus select?

研究代表者

諸星 和紀（Morohoshi, Kazunori）

防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・防衛医学研究センター 医療工学研究部門・助教

研究者番号：40910427

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）：マウス子宮内液には殺精子作用があり、補体C3をKOしたマウスではこの殺精子作用が抑制されることが明らかになっている。このことから子宮内液の持つ殺精子作用は補体によるものであり、精子選抜に関与している可能性を示している。本研究では、補体C3が精子表面で活性化していることを明らかにした。また、血清にも殺精子作用があることを確認したが、補体を不活性化させる非働化処理を行った血清においても同様の作用が確認されたため、血清における殺精子作用は補体によるものではないことが考えられる。これらの結果から、子宮内では補体に関与する独自のシステムにより精子選抜を行っている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界における不妊率は生殖可能な年齢に達しているカップルの15%にのぼる。現在、不妊症を解決する方法として生殖補助医療（ART）が活用されている。ARTとは、卵や精子を体外に取り出し、顕微鏡下で良い精子と良い卵を選別することで妊娠・出産を促す技術である。しかし、その成功率は高くないことが現状である。これは、「良い精子の選別」の基準が体内での精子選抜とは異なることが原因だと考えられる。本研究では、体内での精子選抜メカニズムの一部を解明した。今後の研究により、より成功率の高いARTの改良が期待される。

研究成果の概要（英文）：Mouse uterine fluid has a spermicidal effect and it has been shown that this effect is suppressed in complement C3 knockout mice. Therefore, it is suggested that the spermicidal effect of uterine fluid is mediated by complement and may play a role in sperm selection. This study showed that complement C3 is activated on the surface of sperm. Furthermore, it was confirmed that serum has a spermicidal effect, but the same effect was observed even in inactivated serum, suggesting that the spermicidal effect in serum is not mediated by complement. These findings suggest that sperm are selected by a unique system in the uterus.

研究分野：生殖科学

キーワード：補体 精子選抜 子宮内液 血清

1. 研究開始当初の背景

世界における不妊率は生殖可能な年齢に達しているカップルの 15%にものぼる。現在、不妊症を解決する方法として生殖補助医療 (ART) が活用されている。ART とは卵や精子を体外に取り出し、顕微鏡下で良い精子と良い卵を選別することで妊娠・出産を促す技術である。しかし、ART の成功率は高くないことが現状である。その原因の一つに「良い精子の選抜」が胚培養士の経験や直感に依存しており、体内に存在するであろう精子の選抜方法とは異なっていることが挙げられる。

2. 研究の目的

精子にとって非自己の体内である雌生殖器内は過酷な環境である。実際に、雄から射出された精子の中で卵に辿り着くことができるのはわずかであり、子宮には「精子を選抜するメカニズム」が存在する。しかし、雌生殖器内における具体的な分子や詳細なメカニズムは現在までに報告例がない。現在までに雌マウスの子宮内液に含まれる補体成分が殺精子作用を持つことを明らかにしている。しかし、その補体成分がどのように活性化し、精子を死亡させるかは明らかになっていない。本研究では、自然免疫の要である補体成分が排除すべき精子をピンポイントで攻撃することで精子を選抜していると仮定し、新規の精子選抜メカニズムの提唱を目指す。

3. 研究の方法

子宮内液中の補体 C3 を解析する目的で、子宮内液を含む培地中で精子を培養した後、培養液と精子表面の C3 形態をウェスタンブロットにより確認した。また、C3 による精子選抜が子宮独自のシステムかを確認する目的で子宮内液と同じく補体を多く含む血清を加えた培地中で精子を培養した後、培養液と精子表面の C3 形態をウェスタンブロットにより確認した。また、血清による殺精子作用が補体によるものであることを確認するため、非働化血清を用いて同様の実験を行った。

4. 研究成果

子宮内液を含む培地中で培養した精子の膜表面に補体 C3 が結合し、精子膜表面で補体 C3 が活性化することを明らかにした。また、培養時間の経過による C3 形態を確認したところ、培養 10 分で補体 C3 の活性化が確認され、3 時間では活性化した補体 C3 が分解されていることを確認した(図 1a)。また、培養液中の補体 C3 は活性化されていないことから(図 1b)、精子表面において補体 C3 が活性化することが明らかとなった。また、精子と補体 C3 のみを培養したところ、精子表面に補体 C3 が結合し、精子膜表面で補体 C3 の

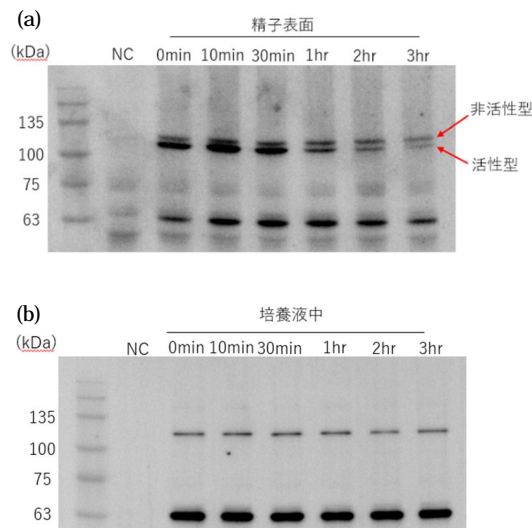


図 1. 精子表面及び培養液中における C3 形態

活性化が起こることが確認された。このことから、精子膜表面において補体 C3 を活性化させる因子が働いている可能性が考えられるが、その活性化因子の同定には至らなかった。

血清を含む培地中で培養した精子についても子宮内液と同様の方法で確認したところ、精子の膜表面に補体 C3 が結合し、精子膜表面における補体 C3 の活性化が確認された。また、培養液中の補体 C3 も子宮内液と同様に活性化していないことが確認された。加えて、血清の殺精子作用について確認したところ、子宮内液と同様に殺精子作用が確認された。しかし、補体を不活性化させる非働化処理を行った血清を用いて同様の実験を行った結果、非働化血清においても殺精子作用が確認され、血清の持つ殺精子作用は補体によるものでない可能性が示唆された。このことから、補体による殺精子作用は子宮内液独自のシステムであることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nakamura Shingo, Morohoshi Kazunori, Inada Emi, Sato Yoko, Watanabe Satoshi, Saitoh Issei, Sato Masahiro	4. 巻 24
2. 論文標題 Recent Advances in In Vivo Somatic Cell Gene Modification in Newborn Pups	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15301 ~ 15301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms242015301	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 Sato Masahiro, Morohoshi Kazunori, Ohtsuka Masato, Takabayashi Shuji, Inada Emi, Saitoh Issei, Watanabe Satoshi, Nakamura Shingo	4. 巻 7
2. 論文標題 Recent Advances in the Production of Genome-Edited Animals Using CRISPR-Cas9-GONAD, a Novel In Vivo Genome Editing System, and Its Possible Use for the Study of Female Reproductive Systems	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 OBM Genetics	6. 最初と最後の頁 1 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21926/obm.genet.2304207	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 Sato Ban, Kanai Seiya, Sakaguchi Daiki, Yajima Kodai, Matsumoto Yu, Morohoshi Kazunori, Kagaya Shinji, Izumo Nobuo, Ichinose Minoru, Kang Woojin, Miyado Mami, Miyado Kenji, Kawano Natsuko	4. 巻 14
2. 論文標題 Suppressive Role of Lactoferrin in Overweight-Related Female Fertility Problems	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 938 ~ 938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14050938	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 Sato Ban, Kim Jiwoo, Morohoshi Kazunori, Kang Woojin, Miyado Kenji, Tsuruta Fuminori, Kawano Natsuko, Chiba Tomoki	4. 巻 13
2. 論文標題 Proteasome-Associated Proteins, PA200 and ECPAS, Are Essential for Murine Spermatogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 586 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom13040586	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 諸星和紀, 中村伸吾, 佐藤伴, 宮戸健二, 河野菜摘子
2. 発表標題 マウス血清に存在する補体抑制因子の解析
3. 学会等名 第46回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 砂本真名人, 佐藤里奈, 諸星和紀, 佐藤伴, 宮戸健二, 河野菜摘子
2. 発表標題 マウス子宮内において補体系副経路が殺精子にはたらく
3. 学会等名 第46回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 諸星和紀, 河野菜摘子
2. 発表標題 雌性生殖器における殺精子因子としての補体C3
3. 学会等名 第8回生殖若手の会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 砂本真名人, 志村潤, 諸星和紀, 河野菜摘子
2. 発表標題 マウス子宮内液に含まれるプロテアーゼの探索
3. 学会等名 日本動物学会 第75回関東支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤伴、諸星和紀、宮戸健二、千葉智樹、河野菜摘子
2. 発表標題 プロテアソーム関連因子PA200及びECPASはマウス精子形成に必須である
3. 学会等名 日本動物学会 第75回関東支部大会
4. 発表年 2023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