

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11210

研究課題名(和文) 精母細胞に特異的に発現する転写因子Ovol2の精子形成における役割

研究課題名(英文) Role of transcription factor Ovol2 in mouse spermatogenesis

研究代表者

船津 宣雄 (FUNATSU, NOBUO)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：50392428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、哺乳類の精子形成における OVOL ファミリーの役割を明らかにするために、Ovol1 と Ovol2 の Conditional knockout mouse (cKO)マウスと Ovol1 と Ovol2 の double cKO マウスを作製して精子形成の表現系を解析した。その結果、それらのマウスに精子形成の重篤な異常を認めなかったが、Ovol2-cKO マウスとdouble cKO マウスの精巣重量比が有意に低下していた。本研究により Ovol2 は精子形成に必須ではないが精子形成を含む精巣の発生に何らかの関わりがあることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から OVOL2 がマウスの精子形成に必須ではないが、精巣の発生に何らかの関わりがあることが明らかになった。本研究を発展させることによって、精子形成を含む精巣の発生の分子メカニズムの解明が進むと考えられる。OVOL2 はヒトの精巣にも強く発現することから、本研究はヒトの精子形成異常の原因究明と治療法の開発や不妊治療技術の向上に役立つと考える。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the role of the OVOL family transcription factor in spermatogenesis, we generated conditional knock out mice for Ovol1 and Ovol2 and double cKO mice for Ovol1 / Ovol2. As a result, no serious abnormalities in spermatogenesis were observed in these mice, but the testis weight ratio in Ovol2-cKO mice and Ovol1 / Ovol2 double cKO mice was significantly reduced. This study suggests that Ovol2 is not essential for spermatogenesis but has some involvement in testis development, including spermatogenesis.

研究分野：発生生物学

キーワード：OVOL2 OVOL1 精子 精巣 精母細胞 Nanos3 男性学

1. 研究開始当初の背景

Ovo12 (Movo) は報告者らのグループが発見した Zinc finger 型転写因子で、ショウジョウバエの卵子形成に関わる ovo と相溶性が高い (*FEBS Lett.* 421:224-228, 1998)。Ovo12 の完全ノックアウトマウスは胎盤および循環器系組織の形成不全のために胎生 9.5~10.5 日に死亡する (*Genes Cells.* 12:773-785, 2007)。Ovo12 はヒトやマウスの精巣に多く発現する (*J. Androl.* 33:277-286, 2012, *Andrologia.* doi:10.1111/and.12599, 2016) ことから、Ovo12 が精子形成に関与する可能性があると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、精子形成における OVOL ファミリーの役割の解明を目的とする。

3. 研究の方法

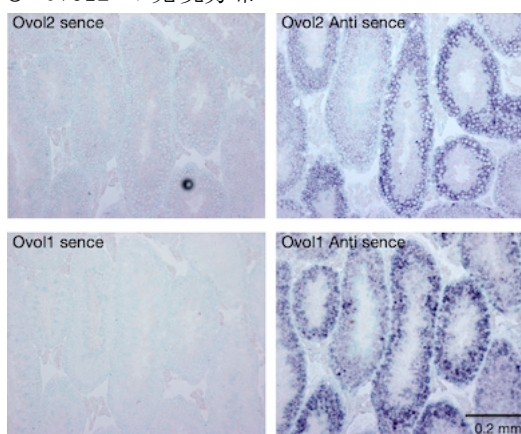
遺伝子改変マウスの作出

生殖細胞特異的に発現する 3 種 (Nanos3-cre, Stra8-cre, Neurogenin3-cre) の Cre マウスを用いて、Ovo11 と Ovo12 それぞれの Conditional knockout mouse (cKO) マウスと Ovo11 と Ovo12 の double cKO マウスを作製して、オスの妊娠率、精巣重量比 (精巣/体重)、精巣上部尾部の精子数、精子の形態及び精子運動能を解析した。

4. 研究成果

(1) 生後 10 週齢マウス精巣における Ovo11 および Ovo12 の発現分布

Ovo11 および Ovo12 は、生後マウス精巣のパキテン期の精母細胞に共に強く発現していた。

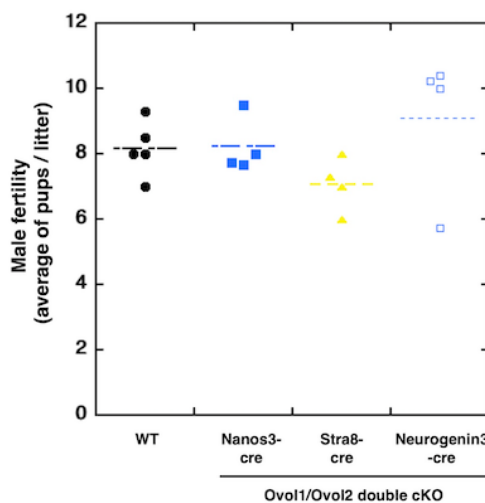


(2) 遺伝子改変マウスの作出

生後 10 週齢の遺伝子改変マウスの精巣から total RNA を抽出し、Ovo11 および Ovo12 の発現量を定量 RT-PCR により測定した。その結果、Nanos3-cre マウスを用いた Ovo11 cKO マウスおよび Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO マウス精巣における Ovo11 発現レベルは野生型に比べて極めて低下しており、Ovo12 cKO マウスおよび Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO マウス精巣における Ovo12 発現レベルも野生型に比べて極めて低下していた (data not shown)。従って、Nanos3-cre マウスを用いた遺伝子改変マウスの作出は成功したといえる。また、Stra8-cre マウスを用いた遺伝子改変マウスについても同様の方法で成功したことを確かめた (data not shown)。Neurogenin3-cre を用いた遺伝子改変マウスの精巣における定量 PCR 解析は現在進行中である。

(3) Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO オスマウスの妊娠率

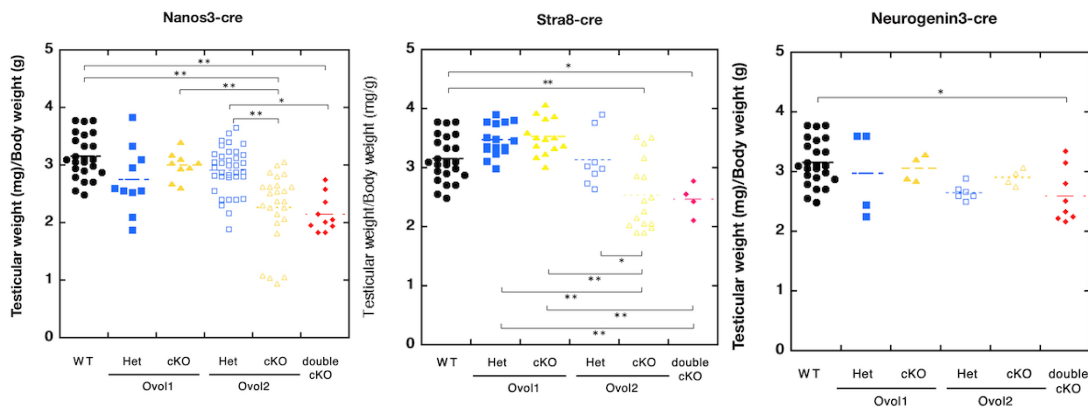
Nanos3-cre, Stra8-cre, Neurogenin3-cre を用いて作出した Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO オスマウスの生殖能力を調べるために、10 週齢の野生型メスマウスと 1 対 1 で 2 ヶ月間同居させて出産数の平均値を測定した。その結果、全ての種類の Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO オスマウスの妊娠率は野生型と有意な差を認めなかった。



(4) 遺伝子改変オスマウスの精巣重量比 (精巣 mg/体重 g)

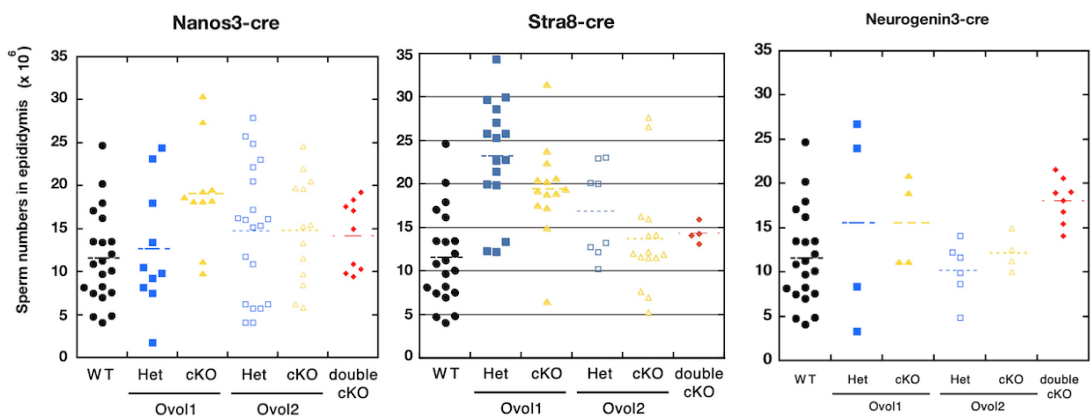
Nanos3-cre および Stra8-cre を用いて作出した遺伝子改変マウスの精巣重量比の解析から、Ovo12 cKO の精巣重量比は有意に低下するが、Ovo11 cKO は異常を示さなかった。また、Ovo11 /Ovo12 ダブル cKO マウスの精巣重量比は Ovo12 cKO 以外と比べると有意に低下した。Neurogenin3-cre を用いて作出した Ovo11

Ovo12 ダブル *cKO* マウスの精巣重量比は野生型よりも有意に小さかった。



(5) 遺伝子改変マウスの精巣上体尾部中の精子数

遺伝子改変マウスの精巣上体尾部中の精子数を解析した結果、いずれにおいても有意な差は認めなかった。



(6) 現在解析中の実験

遺伝子改変マウスの精子運動能および精子の形態は解析中であるが、予備的には異常は認められていない。

(7) 結論

本研究より、*Ovo12* は精子形成に必須の分子ではないが、精子形成を含む精巣の発生に何らかの関わりをもっている可能性が明らかになった。本研究で *Ovo12* *cKO* および *Ovo11* / *Ovo12* ダブル *cKO* マウスの精子形成が重篤な異常を示さなかったのは、*Ovo11* 以外に *Ovo12* の機能を補償する分子が他に存在することを示唆している。今後は精巣の発生において転写因子 *Ovo12* の下流遺伝子を同定することにより、*Ovo12* の役割がより明確になって精子形成の分子メカニズムの解明が進むと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	伊藤 誠二 (ITOH SEIJI) (80201325)	大阪医科薬科大学・医学部・客員教授 (34401)	

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