

機関番号：17102

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790284

研究課題名 (和文) ライディッヒ細胞の分化メカニズムの解明

研究課題名 (英文) Identification of the mechanisms of the fetal Leydig cell differentiation

研究代表者

嶋 雄一 (SHIMA YUICHI)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：80425420

研究成果の概要 (和文)：

核内受容体型転写因子 Ad4BP/SF-1 の胎仔型ライディッヒ細胞特異的エンハンサーを同定し、胎仔型ライディッヒ細胞特異的 EGFP 発現マウス及び Cre 発現マウスを作出した。EGFP マウスからソーティングにより細胞を分取し、各発生段階における遺伝子発現プロファイルを明らかにした。さらに、Cre 発現マウスと Ad4BP/SF-1 flox マウスとの交配により、胎仔型ライディッヒ細胞特異的 Ad4BP/SF-1 遺伝子ノックアウトマウスを作出し解析した。この結果から、Ad4BP/SF-1 が胎仔型ライディッヒ細胞の分化と機能発現、ひいては胎仔期の全身のオス化に必須であることが証明された。

研究成果の概要 (英文)：

We have identified fetal Leydig cell-specific enhancer of the Ad4BP/SF-1 gene, and established the mouse lines in which EGFP or Cre is expressed specifically in the fetal Leydig cells. In order to identify mRNA expression profile of the fetal Leydig cells, we performed cell sorting and microarray analyses. In addition, we intercrossed Cre-expressing mice with the SF-1 flox mice, and generated the fetal Leydig cell-specific Ad4BP/SF-1 KO mice. From the analyses of these mice, we have identified that Ad4BP/SF-1 is essential for the function and differentiation of the fetal Leydig cells, and also for the masculinization of the fetuses.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：医科学一般・発生生物学

キーワード：遺伝子・ゲノム・発現制御・発生・分化・マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

ライディッヒ細胞は精巣の間質に存在し、男性ホルモンを産生する細胞である。哺乳類においては、2種類のライディッヒ細胞、すなわち胎仔型ライディッヒ細胞と成獣型ライディッヒ細胞が存在することが知られており、形態的・機能的に明らかな差異を示すが、両者の細胞系譜や分化メカニズムは全く明らかにされていなかった。

研究開始時点で、申請者は既に核内受容体型転写因子 Ad4BP/SF-1 をコードする Nr5a1 遺伝子の胎仔型ライディッヒ細胞特異的エンハンサーを同定していた。

2. 研究の目的

(1) 胎仔型ライディッヒ細胞における遺伝子の発現パターンの解明を通じて、その分化メカニズムを明らかにする。

(2) 胎仔型ライディッヒ細胞の生物学的機能を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 既に同定していたエンハンサーを用いて、胎仔型ライディッヒ細胞特異的に EGFP を発現するトランスジェニックマウスを作成した。EGFP マウスの精巣からセルソーティングによって細胞を回収し、マイクロアレイによって mRNA の発現プロファイルを解明した。成獣型ライディッヒ細胞は、パーコール比重勾配遠心法によって回収し、同様にマイクロアレイ解析に供した。それぞれの細胞における遺伝子の発現プロファイルを比較することにより、それぞれの細胞に特異的に発現する遺伝子を抽出し、in-situ hybridization 法によりその発現パターンを確認した。

(2) 胎仔型ライディッヒ細胞特異的に Cre を発現するマウスを作成した。そしてこのマウスを Ad4BP/SF-1 flox マウスと交配することにより、胎仔型ライディッヒ細胞特異的 Ad4BP/SF-1 ノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析することにより、胎仔型ライディッヒ細胞における Ad4BP/SF-1 の機能を明らかにした。

4. 研究成果

(1) マイクロアレイ解析の結果から、胎仔型ライディッヒ細胞と成獣型ライディッヒ細胞では、遺伝子の発現プロファイルが大きく異なることを明らかにした。また、胎仔型ライディッヒ細胞の機能発現に関与すると推測される遺伝子として、ヘッジホッグシグナル関連遺伝子等を同定した。また、胎仔型ライディッヒ細胞特異的に発現する遺伝子や成獣型ライディッヒ細胞特異的に発現する遺伝子を同定し、実際にその発現を in-situ hybridization 法により確認した。今後、各遺伝子の機能解析を行うことにより、胎仔型ライディッヒ細胞の分化メカニズムを解明したい。

(2) 胎仔型ライディッヒ細胞特異的 Ad4BP/SF-1 ノックアウトマウスにおいては、停留精巣、成熟した胎仔型ライディッヒ細胞の消失、テストステロン産生の著しい低下、外生殖器のメス化が認められた。このことから、Ad4BP/SF-1 が胎仔型ライディッヒ細胞の分化や機能発現に必須であり、精巣下降や外生殖器のオス化等、胎仔のオス化に寄与していることが証明された。

今後、このノックアウトマウスの生後の表現型を解析することにより、胎仔型ライディッヒ細胞の生後の精巣における機能を明らかにしたいと考えている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計3件)

嶋雄一、諸橋憲一郎

「エネルギー代謝とその調節機序 エネルギー代謝にかかわる因子 転写因子 Ad4BP/SF-1」

日本臨床 68 巻増刊号 2 号 200-204、2010

Kusaka M, Katoh-Fukui Y, Ogawa H, Miyabayashi K, Baba T, **Shima Y**, Sugiyama N, Sugimoto Y, Okuno Y, Kodama R, Iizuka-Kogo A, Senda T, Sasaoka T, Kitamura K, Aizawa S, Morohashi K

Abnormal epithelial cell polarity and ectopic

epidermal growth factor receptor (EGFR) expression induced in Emx2 KO embryonic gonads.
Endocrinology. 2010 Dec; 151(12): 5893-904

Hoivik EA, Bjanesoy TE, Mai O, Okamoto S, Minokoshi Y, **Shima Y**, Morohashi K, Bohem U, Bakke M
Methylation of Intronic Enhancers Directs Tissue-Specific Expression of Steroidogenic Factor 1/Adrenal 4 Binding Protein (SF-1/Ad4BP).
Endocrinology. 2011 Feb 22. [Epub ahead of print]

[学会発表] (計 6 件)

嶋雄一、宮林香奈子、馬場崇、大竹博之、栗原淑子、諸橋憲一郎

「Transcriptomic analysis of fetal Leydig cells」
第 33 回日本分子生物学会年会 ワークショップ「核内受容体研究の最前線」
2010 年 12 月 9 日 神戸ポートピアホテル

宮林香奈子、**嶋雄一**、馬場崇、大竹博之、栗原淑子、奥野恭史、諸橋憲一郎

「Expression profile of steroidogenic genes in the fetal Leydig cells」
第 33 回日本分子生物学会年会
2010 年 12 月 8 日 神戸国際展示場

Yuichi Shima, Takashi Baba, Kanako Miyabayashi, Hiroyuki Otake, Yoshiko Kurihara, and Ken-ichirou Morohashi

“Transcriptomic analyses of fetal Leydig cell”
Gordon Research Conference, Reproductive Tract Biology
Procter Academy, Andover, NH, USA
August 15-20, 2010

嶋雄一、馬場崇、宮林香奈子、大竹博之、諸橋憲一郎

「胎仔型ライディッヒ細胞の生理学的機能の解明」
第 10 回日本内分泌学会九州地方会
2010 年 8 月 28 日
鹿児島大学医学部鶴陵会館

嶋雄一、馬場崇、宮林香奈子、栗原淑子、諸橋憲一郎

「Cell lineage of the fetal and adult Leydig cell」
第 32 回日本分子生物学会年会
2009 年 12 月 10 日 横浜国際展示場

嶋雄一、諸橋憲一郎

「胎仔型ライディッヒ細胞と成獣型ライディッヒ細胞の細胞系譜の解明」
第 17 回日本ステロイドホルモン学会
2009 年 11 月 14 日
九州大学医学部百年講堂

[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

<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/seisas/eibutu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嶋 雄一 (SHIMA YUICHI)

九州大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：80425420

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：