



研究課題名 ゲノム編集による雄性不妊モデルマウスの開発と受精現象の包括的理解

大阪大学・微生物病研究所・教授

いかわ まさひと
伊川 正人

研究課題番号： 21H05033

研究者番号： 20304066

研究期間： 令和3年度～令和7年度 研究経費（期間全体の直接経費）： 145,000千円

キーワード： CRISPR/Cas9、実験動物、不妊、受精、避妊薬

【研究の背景・目的】

ヒトを含む哺乳類の命は、精子と卵を介した受精により連鎖と受け継がれる。これまで、培養して増やすことができない精子の形成・機能の解析には、主に生化学的なアプローチが取られてきた。しかし近年の遺伝子破壊（ノックアウト: KO）マウスを用いた解析から、それまで受精に必須と考えられてきた因子（Acrosin, GalTase, Fertilin など）が必須でないことが示されたり、Calmegin や ACE のように無関係と思われていた因子が表舞台に現れたりした例が、多く示されている。そこで、本研究では、ゲノム編集マウス作製・解析技術を開発するとともに、精巣特異的に発現する遺伝子を網羅的にノックアウトし、雄性不妊モデルマウスの開発・解析を通して、哺乳類の精子・受精のバイオロジーを究めることを目的とした。

【研究の方法】

本研究の主目的は精巣特異的に発現すると言われる約 1,000 遺伝子の内、いまだ KO されていない約 400 遺伝子について、KO マウスを作製し、雄性生殖における生理機能を明らかにすることにある。そのため、各標的遺伝子について、guide RNA (gRNA) を複数設計し、CAS9 タンパク質と一緒に受精卵に導入することで、タンパク質コード領域を大きく抜き取った KO マウスを作製する。得られた KO 雄マウスを交配試験により、妊孕性を判定し、産仔が得られない雄性不妊となる遺伝子を選別する(図 1)。我々の経験から、約 3 割の遺伝子が妊孕性に必須となることが期待される。

不妊雄マウスについては、精巣における精子形成、精巣上体における精子成熟、成熟精子の受精能などについて、組織解剖学的解析および細胞生物学的解析から表現型を明らかにして不妊となる原因を特定する。

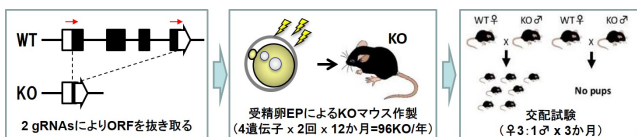


図 1. 雄妊孕性必須遺伝子の CRISPR/Cas9-KO スクリーニング

特に、見かけは正常な精子であるにも関わらず受精できない場合には、電子顕微鏡観察、CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)、体外受精や顕微授精、胚移植などを駆使して、図 2 に示す受精のステップごとに、受精不全の原因を究明する。

また妊孕性に必須な遺伝子産物については、特異的抗体の作製もしくはペプチド標識により組織内・細胞内での局在や相互作用因子を同定し、分子レベルで生理機能を明らかにすることを目指す。

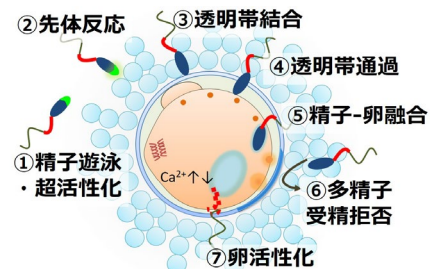


図 2. 哺乳類の受精ステップ

さらに、マウス内在性遺伝子をヒト型（野生型および疾患型）に置換して妊孕性を検討し、男性不妊症の治療法開発や投薬効果の検討モデルとする。なお本研究では、CRISPR/Cas9 ゲノム編集に、ウイルスベクター、ES 細胞キメラ解析、生殖工学などを組み合わせることで、常にゲノム編集マウス作製・解析技術の最新化、効率化を行う。

【期待される成果と意義】

日本を含む先進国では約 6 組に 1 組が不妊に悩み社会的にも大きな問題となっている。しかしながら、不妊の遺伝的要因は殆ど分かっておらず、また適切なモデルマウスも殆ど樹立されていない。本課題で得られるマウスは、ヒト不妊モデルとして診断・治療法開発に繋がるのが期待される。

一方、世界的な統計では、妊娠の約 4 割が望まない妊娠とされる。これまで避妊用内服薬は、女性用ピルしかない状況にあった。本課題で発見される遺伝子群を標的とした阻害剤は男性避妊薬の可能性を開くものである。

なお、哺乳類の生殖制御はヒトに限らず、畜産動物・実験動物・絶滅危惧種の効率的繁殖、愛玩動物・害獣の計画的繁殖制限などへの応用も期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Miyata H, et al., Sperm calcineurin inhibition prevents mouse fertility with implications for male contraceptive. *Science* 350: 442-445 (2015)
- ・ Miyata H, et al., Genome engineering uncovers 54 evolutionarily conserved and testis-enriched genes that are not required for male fertility in mice. *PNAS* 113: 7704-7710 (2016)
- ・ Kiyozumi D, et al., NELL2-mediated lumicrine signaling through OVCH2 is required for male fertility. *Science* 368:1132-1135. (2020)

【ホームページ等】

<https://egr.biken.osaka-u.ac.jp/>