

平成 30 年 9 月 26 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462460

研究課題名(和文) DNA修復欠損マウスにおけるゲノムの質の低下した空胞様構造をもつ精子形成の解析

研究課題名(英文) Analysis of spermatogenesis with vacuolar structure under reduced genome quality in DNA repair deficient mice

研究代表者

中根 裕信 (Hironobu, Nakane)

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：10304205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：A群色素性乾皮症(XP)遺伝子(Xpa遺伝子)を欠くXpa遺伝子欠損マウスは、XP患者の精子形成不全を示し、XPの病態モデルとなる。我々は、Xpaマウス精巣の幹細胞が、精巣変性状態に適応し、ゲノムの質は低下しても精子形成を継続すると考えている。空胞変性の特異抗体で免疫組織・生化学的解析を行い、Xpaマウス精巣の空胞変性の病態を解明した。この検索をin vivoで行うため空胞化変性モニターマウスを作り、空胞化を指標とし精子形成不全の治療薬を検索している。これまでの解析を合わせゲノムの質は低下しても空胞様構造をもつ精子形成を継続できる機序に迫り、また治療薬開発の可能性があると考えている。

研究成果の概要(英文)：We have showed that xeroderma pigmentosum group A (Xpa) gene-knockout mice [Xpa (-/-) mice] provide a valuable model for impaired spermatogenesis as well as for UV-induced skin tumors in XPA patients. Immunohistochemical and biochemical analysis using specific antibody of vacuolar formation was performed to clarify the pathology of vacuolar degeneration of Xpa mice testis. In addition, we created and observed monitoring mice of Xpa for vacuolar degeneration. We try to find therapeutic agents for impaired spermatogenesis by use of these mice. Through this analysis, we believe that the pathology of Xpa mouse testis and spermatogenesis with sperm head vacuoles under reduced genome quality will be elucidated and that there is a possibility of development of therapeutic drugs.

研究分野：解剖学

キーワード：DNA修復欠損マウス 精子形成 精巣変性 ゲノム不安定性 空胞様構造

1. 研究開始当初の背景

(1) 色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum:XP)は、日光紫外線による高頻度の皮膚癌発生と進行性の精神神経症状、さらに精巣発育不全を臨床的特徴とし、ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair:NER)に異常をもつ遺伝疾患である。これまで我々は、A 群色素性乾皮症遺伝子 (Xpa 遺伝子)を欠損した Xpa 遺伝子欠損マウス(Xpa マウス)の解析から、このマウスが XP 患者と同様に精子形成不全を示し XP の病態モデルとなることを明らかにした。Xpa マウス精巣病変を精細管のステージも考慮して調べたところ、精巣変性状態と精子形成の継続が混在した病変が見られた。人においても、男性不妊患者 143 人(620 人中)が、Xpa 遺伝子のプロモーター領域の塩基置換によって、Xpa 遺伝子の発現を顕著に低下させることから(Gu et al, Reprod.BioMed. Online,2010)、**これらの患者の精巣では Xpa 遺伝子の発現が低下し**、Xpa マウス精巣と同様の状態と考えられる。よって、Xpa マウス精巣病変はヒト男性不妊の患者精巣の病態の一部を示すと思われる。

(2) 生殖補助技術(ART)では、精子ゲノムの質の維持が重要であり、そのゲノム維持機構の解明が待たれている。特に不妊男性では、精子頭部に空胞をもつ精子が多く見られ、精子ゲノムの質の低下があるとされる。この病態は特発性造精不全にも関わる可能性もある。

2. 研究の目的

これまでの解析から、Xpa マウス精巣の精巣幹細胞が、精巣変性状態に適応かつ生存し、ゲノムの質は低下しても精子形成を継続する病態となるという仮説を持っている。本研究は、精子ゲノムの質の低下を生じる精巣病態を解明するために、Xpa マウス精巣変性状態での精子形成を継続する精細管に着目し、

Xpa マウス精巣と空胞様構造をもつ精子の解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

空胞変性を特異的に認識する抗体で、免疫染色およびウエスタンブロットを行った。また、Xpa マウス精巣における空胞化変性の検索を in vivo で行うために、空胞化変性のモニターマウスを導入し、Xpa マウスと交配し作成した。そして、実験に必要とする各時期の加齢状態を示すまで飼育し、実験に使用した。

4. 研究成果

上記目的を達成するために以下の実験を行った。空胞変性の特異的抗体で、免疫染色やウエスタンブロットを行い、Xpa マウス精巣が変性し、空胞を形成する病態を明らかにすることができた。また、Xpa マウス精巣における空胞化変性の検索を in vivo で行うために、空胞化変性のモニターマウスを導入・作成できた。さらに、このマウス精巣が空胞変性状態を経時的にモニターでき、免疫染色やウエスタンブロットのデータとも合致することも確認できた(論文投稿中)。同マウス精子で、サンプル採取の時期や検出方法(電顕等)の詳細な条件検討を行いながら、空胞様構造をもつ精子の同定を試みている。また、最新の知見(Xpa 欠損状態の変性の分子機構)から、Xpa マウスの精子形成不全を治療できる可能性のある薬剤による効果も実験中である。今後、上記の実験をさらに進め仮説の検証を行う予定である。本解析を通じ、Xpa マウス精巣と空胞様構造をもつ精子の病態解明が進むと同時に、これら病態の治療法の開発が可能になると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Okada, S., Inaga, S., Kawaba, Y.,

Hanada, T., Hayashi, A., Nakane, H., Naguro, T., Kaidoh, T., Kanzaki, S.

A novel approach to the histological diagnosis of pediatric nephrotic syndrome by low vacuum scanning electron microscopy. 査読有

Biomedical Research 35:227-236, 2014

Okada, S., Inaga, S., Kitamoto, K., Kawaba, Y., Nakane, H., Naguro, T., Kaidoh, T., Kanzaki, S.

Morphological diagnosis of Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy by low vacuum scanning electron microscopy. 査読有

Biomedical Research 35:345-350, 2014

〔学会発表〕(計 6 件)

Hironobu Nakane, Tadahiro Shiomi, Toshio Kameie, Sumire Inaga, Toshiyuki Kaidoh

Histological examination of joint contracture in *Xpg* null mice

第 10 回 3R(複製・組換え・修復) 国際シンポジウム、2016 年 11 月 13-17 日、ホテルー畑(島根県松江市)

栗政明弘、中根裕信、加藤晃弘、桑原義和
神経組織における DNA 損傷と臨床に及ぼす影響、日本放射線影響学会第 59 回大会、2016 年 10 月 26 日、JMS アステールプラザ(広島市中区)

中根裕信

色素性乾皮症、DNA 修復の解説と *Xpg* null マウスの歩行障害の研究、第 3 回色素性乾皮症全国大会、2016 年 10 月 15-16 日、あいち健康プラザ(愛知県知多郡)

森俊雄、岩本顕聡、杉浦重樹、中根裕信
酸化 DNA 損傷サイクロプリン定量系の高感度化、第 38 回日本光医学・光生物学会、2016 年 7 月 23 日、京都リサーチパーク・サイエンスホール(京都市下京区)

Hironobu Nakane, Tadahiro Shiomi, Toshio Kameie, Sumire Inaga, Toshiyuki Kaidoh

Histopathological analysis of joint contracture in *Xpg* null mice

第 121 回日本解剖学会総会・全国学術総会、2016 年 3/28-30、ビッグパレットふくしま(福島県郡山市)

Hironobu Nakane, Kiyoji Tanaka, Toshio Kameie, Sumire Inaga, Tomonori Naguro, Kaidoh Toshiyuki

Histological investigation of impaired spermatogenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (*Xpa*)-deficient mice

第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2015 年 3/21-23、神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市)

〔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

6. 研究組織
(1) 研究代表者
中根 裕信 (NAKANE, Hironobu)
鳥取大学・医学部・准教授
研究者番号：10304205

- (2)研究分担者
なし
- (3)連携研究者
なし
- (4)研究協力者
なし