

No.	23-2060	
Project Title	血液精巣関門の機能制御メカニズムの解明	
Principal Investigator	Seiji Takashima (Shinshu University・Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Manabu Ozawa (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Associate professor)
	Project Member (s)	秋山かのん (信州大学 繊維学部・学部生)
	Project Member (s)	飯柴彩佳 (信州大学繊維学部・学部生)
	Project Member (s)	永井千智 (信州大学繊維学部・学部生)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（研究完了）

本研究の目的

生殖細胞の細胞膜構成成分セミノリピドが血液精巣関門を制御する仕組みを明らかにすることを最終目標とする。今回申請では、セミノリピド欠損が、血液精巣関門を構成するセルトリ細胞にもたらす遺伝子発現変容を、RNA-seqで網羅的に把握し、そこから血液精巣関門制御に関わる『生殖細胞-セルトリ細胞間相互作用関連遺伝子群』を抽出することを目指す。

実施状況

◎**血液精巣関門の構造解析**:セミノリピド欠損マウス血液精巣関門の構造解析を行なった。まず、ホルマウント免疫染色で密着結合帯の連続性を解析したところ、セミノリピド欠損精巣でも密着結合帯に明らかな不具合は認められなかった。そこで、透過型電子顕微鏡にて微細構造を解析したところ、細胞膜のキッシングやアクチン束によるその裏打ちなど、密着結合に特徴的な微細構造にも変化は見られなかった。しかし、詳細に解析を行ったところ、ある特定の状態にある精細管でのみ、密着結合が消失することを発見した。その出現法則を把握し、そのステージのセルトリ細胞を回収することで、より精度の高いRNAseqが可能であることがわかった。またこの時、野生型精巣で特定の状態にある精細管を詳細に観察したところ、生殖細胞とセルトリ細胞の間に特殊な細胞間相互作用構造が形成されることを発見した。この構造は密着結合分子で構成されるものの、通常の密着結合で見られる特定の構造が欠損していることを見出した。この構造の透過電子顕微鏡観察においても、同様の違いが確認された。また、超超解像度顕微鏡法を確立し、蛍光免疫染色で透過型電子顕微鏡に匹敵する解像度での多色蛍光血液精巣関門観察に成功した。

◎**セルトリ細胞トランスクリプトーム解析による、セルトリ-生殖細胞相互作用を担うセルトリ細胞表面分子の同定**:信州大学において、セルトリ細胞特異的にヒトNGFRを高発現するAmh-Cre; Gt(ROSA)26Sor<tml(CAG-NGFR*)Mta遺伝子を有する野生型及びセミノリピド欠損マウスを作出、それぞれからMACSにてセルトリ細胞を純化回収し、医科研においてトランスクリプトーム解析を行う予定であった。交配作業は順調に進んだが、セミノリピド欠損マウスは虚弱体質で冬季に繁殖力および生後生存率が低下し、予定していたサンプル回収に支障をきたした。また、MACSによる純化において純度が不十分であったことから、レポーターをRosa26-mTmGマウスに変更することに決定した。これまでに、マウスの交配を進め、目的の遺伝子を持つマウスの繁殖体制が整ったところである。

◎**血液精巣関門機能低下原因遺伝子の発見**:KIAA1210という巨大タンパク質を欠損するマウスの精巣では、血液精巣関門のバリア機能低下が確認されたものの、精子形成・妊孕性は正常であった。この結果は、血液精巣関門のバリア機能は精子形成に必須である、という定説を覆すものであった。