

No.	24-2109	
Project Title	PTBP1欠損セルトリ細胞の大規模トランスプトーム解析と精細胞の減数分裂制御機構の解明	
Principal Investigator	Hideto Mori (WPI Premium Research Institute for Human Metaverse Medicine (WPI-PRIME) Osaka 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)	森 秀人 (大阪大学 ヒューマン・メタバース疾患研究拠点・特任准教授)

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（年次終了）

研究背景と目的

精子形成は、精原細胞の自己複製、減数分裂、精子細胞の成熟が連続的に進行することで成立しており、その過程ではセルトリ細胞による構造的・分子的サポートが不可欠である。特に、セルトリ細胞は血液精巣関門や細胞骨格を介して精細胞の移動・接着・成熟を支えているが、その制御機構には未解明の点が多い。小沢准教授らの先行研究では、セルトリ細胞特異的な RNA 結合タンパク質 PTBP1 の欠損が、精細胞の分化異常と雄性不妊を引き起こすことが示されていた。本研究では、PTBP1 がセルトリ細胞内でどのような RNA 制御を担い、精子形成を支えるセルトリ細胞機能をどのように維持しているのかを明らかにすることを目的とした。

研究成果

昨年度は、セルトリ細胞特異的 Ptbp1 欠損マウスを用いた組織学的解析、精製セルトリ細胞の RNA-seq、抗 PTBP1 抗体を用いた RIP-seq 解析、および細胞培養系での機能検証を統合し、PTBP1 がセルトリ細胞の細胞骨格制御を介して精子形成を支える分子機構を明らかにした。Ptbp1 欠損マウスでは、精巣重量の低下、精細胞の脱落、多核巨細胞の出現、精巣上体内の成熟精子の著減が認められ、雄性不妊を示した。また、セルトリ細胞核の異所的配置、CLDN11 や β -catenin の異常、F-actin 構造の乱れ、血液精巣関門の破綻が観察され、PTBP1 がセルトリ細胞の構造的支持機能に重要であることが示された。

さらに、セルトリ細胞特異的に GFP を発現するレポーターマウスを用いて高純度にセルトリ細胞を分取し、RNA-seq 解析を実施した。その結果、Ptbp1 欠損セルトリ細胞では細胞骨格制御、細胞接着、低分子輸送に関連する遺伝子群の発現変動が認められた。加えて、RIP-seq 解析により、PTBP1 が mTORC2 構成因子である Rictor mRNA を含む mTOR 経路関連 RNA に結合することを見出した。Ptbp1 欠損セルトリ細胞では Rictor mRNA 量の大きな変化を伴わずに RICTOR タンパク質量が低下し、下流の PKC α リン酸化も減少していたことから、PTBP1 は Rictor の転写後制御を通じて mTORC2-PKC α 経路を維持していると考えられた。

最後に、セルトリ細胞由来 TM4 細胞を用いた PTBP1 ノックダウン実験により、PTBP1 低下が RICTOR タンパク質の減少、PKC α リン酸化の低下、細胞形態および F-actin 構造の異常を引き起こすことを確認した。さらに、恒常活性型 PKC α の導入により PTBP1 欠損に伴う細胞骨格異常が部分的に回復することを示し、PTBP1-RICTOR-mTORC2-PKC α 軸がセルトリ細胞の細胞骨格構築に機能的に重要であることを実証した。これらの成果は、Communications Biology 誌に発表された。

今後の展開

本研究により、PTBP1 が単なるスプライシング制御因子としてではなく、Rictor mRNA の転写後制御を介して mTORC2-PKC α シグナルを維持し、セルトリ細胞の細胞骨格、細胞接着、血液精巣関門の恒常性を支えることが明らかとなった。今後は、PTBP1 が Rictor mRNA 上のどの領域に結合し、どのような分子機構で RICTOR タンパク質発現を制御するのかを詳細に解析する。また、プロテオーム解析や翻訳状態の解析を組み合わせることで、PTBP1 を中心としたセルトリ細胞内 RNA 制御ネットワークの全体像を明らかにすることを目指す。以上の研究は、申請者（森）がこれまで培ってきたバイオインフォマティクス解析の経験と技術を活用することにより円滑に進められた。