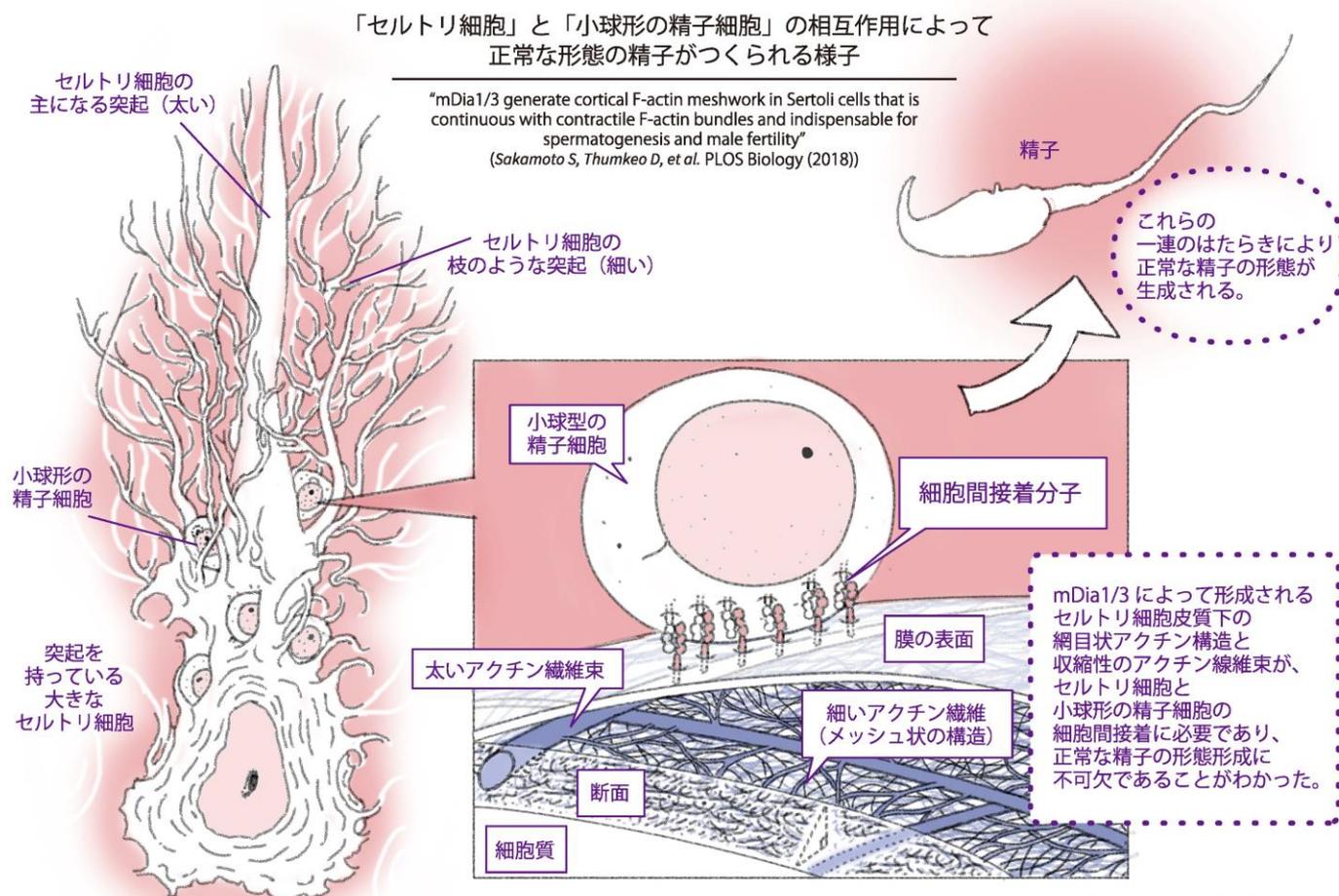


精子形態形成の分子メカニズムを 超解像度顕微鏡と一分子イメージングで解明 —新しい男性不妊治療法の開発に向けて—

概要

京都大学大学院医学研究科創薬医学講座の坂本智子 特定研究員（研究当時、現：iPS 細胞研究所特定研究員）、タムケオ・ディーン 同特定准教授、成宮周 同特任教授らの研究グループは、精巣内に存在するセルトリ細胞の表層にある網目状の細胞骨格アクチンの構造が、アクチン重合活性を持つ mDia1 及び mDia3 タンパクによって作られ、セルトリ細胞と精子細胞の細胞間接着を形成・維持することで、正常な精子の形態形成に寄与していることを見出しました。本研究成果は、セルトリ細胞内のアクチン細胞骨格系の異常が男性不妊の原因の一つとなることを示唆するものであり、新しい男性不妊の治療法の開発につながる可能性を提示しています。

本研究成果は、2018年9月26日に米国の国際学術雑誌「PLOS Biology」にオンライン掲載されました。



作図：はやのん理系漫画制作室（2018年）

1. 背景

妊娠を望むカップルのうち約 10~15%が不妊であり、その約半数は男性側に原因があると考えられています。男性不妊の原因の多くは精子形成障害ですが、その半数は原因が分からないため、根本的な治療法がないのが現状です。

独特の形をしている精子は精巣で小球形の精子細胞から作られていることが知られています。これまでの研究報告から、正常な精子の形成には精子細胞と精巣内に存在している支持細胞であるセルトリ細胞の密接な相互作用が重要であることが分かっていました。その際、形成される精子細胞~セルトリ細胞間接着は、細胞間接着分子と裏打ちの細胞骨格アクチンから構成されていますが、生体内においてこの裏打ちアクチンがどのような構造をしているのか、そして、どのように形成・維持されるのかについてはほとんど分かっていませんでした。また、生理的な意義についてもその全容は明らかではありませんでした。

mDia は細胞骨格アクチンの重合促進分子で、ヒトにおいて mDia1, 2, 3 の 3 つのアイソフォーム（構造は異なるものの同じ機能を持つタンパク質）が存在していますが、生体内における機能は不明でした。当研究室の過去の研究から、mDia1, 3 が重複的に働くことが分かっていたので、mDia1/3 二重欠損マウスの解析を行ったところ、雄性不妊を呈することを見出しました。そこで、本研究では、mDia1/3 のアクチン重合活性によって形成されるアクチン構造を明らかにし、雄性不妊との関連を解明することを目的に研究を行いました。

2. 研究手法・成果

まず、mDia1/3 二重欠損マウスの精子と精巣の観察から、雄性不妊の原因が精子形成不全にあることが分かりました。精子形成には精子細胞とセルトリ細胞間の密接な相互作用が重要であると考えられています。mDia1/3 は主にセルトリ細胞に発現していることが分かったため、精原細胞移植実験を行い、精子細胞側ではなく、セルトリ細胞内の mDia1/3 欠損が精子形成不全の原因であることを確認しました。

次に、セルトリ細胞内の mDia1/3 の働きを明らかにするために、超解像度顕微鏡を用いて、初代培養セルトリ細胞のアクチン線維をナノメートル（10 億分の 1 メートル）単位の解像度で観察しました。その結果、セルトリ細胞膜直下にメッシュの孔のサイズが約 100 ナノメートルの網目状アクチンの構造が存在し、このアクチン構造は、mDia1/3 の二重欠損や薬剤による mDia の不活性化により破綻することが分かりました。次に、網目状アクチンの動態を観察するため、初代培養セルトリ細胞内のアクチン線維を蛍光標識し、スピニングディスク共焦点顕微鏡で高速ライブイメージングを行いました。その結果、網目状アクチン構造を構成するアクチン繊維の重合速度には、平均 $0.4 \mu\text{m/s}$ と $1.3 \mu\text{m/s}$ の 2 種類が混在し、mDia1/3 欠損細胞では速い重合速度 ($1.3 \mu\text{m/s}$) を示すアクチン繊維だけが消失していることが分かりました。この速度は、一分子イメージングから計算した mDia3 のアクチン重合速度とほぼ同じでした。これらのことから、mDia1/3 は網目状アクチン構造の形成・維持に寄与していると考えられます。

これまでの培養細胞を用いた研究では、収縮性のあるアクトミオシン線維束は細胞間接着の形成・維持に重要であることが知られていました。本研究では、超解像度顕微鏡を用いた解析により、初代培養セルトリ細胞において mDia 依存的な網目状アクチン構造を構成するアクチン繊維は、収縮性のあるアクトミオシン線維束とつながっていることを見出しました。さらに、mDia1/3 二重欠損セルトリ細胞ではアクトミオシン線維束が有意に減少し、収縮性のない Espin 結合アクチン線維束が増加していることを突き止めました。これらの結果は、mDia1/3 二重欠損セルトリ細胞と精子細胞の細胞間接着の障害を示唆していますが、*in vitro*（人工的環境下）再構築系を用いて、セルトリ細胞~精子細胞間接着の評価を行ったところ、mDia1/3 二重欠損セルトリ細胞は精子細胞と正常な細胞間接着をほとんど形成していないことが確かめられました。これらのことから、

mDia1/3 二重欠損は、収縮性アクトミオシン線維束の減少と非収縮性の Espin 結合性アクチン線維の増加をきたし、セルトリ細胞～精子細胞の接着形成・維持に障害をきたすと考えられます。

以上、精子形成過程において、mDia1/3 はセルトリ細胞内で、網目状アクチンを重合させ、それに連続する収縮性アクトミオシンを作り出し、セルトリ細胞～精子細胞間接着を形成・維持することで、正常な精子の形態形成に寄与していることが明らかになりました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究成果は、正常な精子の形態形成には、セルトリ細胞の表層にある mDia1/3 が重合する網目状アクチン構造とそれにつながっている収縮性のアクトミオシン線維束を介した、セルトリ細胞と精子細胞間接着の形成・維持が重要であることを明らかにしました。このことは、セルトリ細胞内のアクチン細胞骨格系の異常が男性不妊の原因の一つになりうることを示唆しています。男性不妊の原因の多くを占める精子形成障害のうち、約半数は原因不明です。雄性不妊の原因の一端を解明した本研究は、一部の男性不妊の新しい治療法開発の糸口になる可能性が期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、下記機関より資金的支援を受けて実施されました。

- 日本学術振興会 (JSPS) 基盤研究 S 「mDia が紡ぐアクチン細胞骨格の個体生理での役割と分子メカニズムの解析」(研究代表者：成宮周)
- 小野医学研究財団研究奨励助成金 (研究代表者：タムケオ ディーン)

なお、本研究は京都大学大学院医学研究科機能微細形態学分野 (斎藤通紀教授)、京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学分野 (渡邊直樹教授)、大阪大学微生物学研究所遺伝子機能解析分野 (伊川正人教授)、基礎生物学研究所生殖細胞研究部門 (吉田松生教授) 及び国立シンガポール大学メカノバイオロジー研究所 (カンチャナウォン・パコン准教授) との共同で行われました。

<論文タイトルと著者>

タイトル：mDia1/3 generate cortical F-actin meshwork in Sertoli cells that is continuous with contractile F-actin bundles and indispensable for spermatogenesis and male fertility (mDia1/3 はセルトリ細胞内において、細胞皮質下網目状アクチンとそれに連続する収縮性アクチン線維束を形成し、精子形成と雄性生殖能に不可欠である)

著者：Satoko Sakamoto, Dean Thumkeo, Hiroshi Ohta, Zhen Zhang, Shuangru Huang, Pakorn Kanchanawong, Takayoshi Fuu, Sadanori Watanabe, Kentaro Shimada, Yoshitaka Fujihara, Shosei Yoshida, Masahito Ikawa, Naoki Watanabe, Mitinori Saitou, Shuh Narumiya

掲載誌：PLOS Biology DOI : 10.1371/journal.pbio.2004874