

平成28年6月14日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

精子頭部を正しく形作るために必要なタンパク質を発見  
～男性不妊症の原因究明と新規診断法につながる成果～

研究成果のポイント

1. 精子頭部を覆っている特殊な細胞小器官「アクロソーム(先体)」の形成メカニズムを解明しました。
2. アクロソームタンパク質 ACRBP を欠損させた雄マウスは、雌を妊娠させる能力が低く、精子頭部でアクロソームと核が異常形成していることが見いだされました。
3. ACRBP がヒト奇形精子症と関連している可能性が示唆されたため、今後 ACRBP をターゲットとする不妊症治療での新たな診断技術の開発が期待されます。

国立大学法人筑波大学生命環境系の兼森芳紀助教と馬場忠教授(TARA センター連携教員)らのグループは、大阪大学微生物病研究所の伊川正人教授と理化学研究所バイオリソースセンターの小倉淳郎室長(筑波大学連携大学院教授)らとの共同研究により、精子頭部が正常に形成するために必要なタンパク質 ACRBP を発見しました。

哺乳動物の精子頭部にはアクロソーム(先体)と呼ばれる袋状の細胞小器官があり、受精に必要なさまざまなタンパク質が含まれています。今回の研究では、馬場教授自身が約 30 年前にブタ精子から単離したアクロソームタンパク質 ACRBP に着目し、その生理機能を明らかにするために遺伝子改変マウスの作製と解析を行いました。その結果、ACRBP を欠損させた雄マウスは雌を妊娠させる能力が低く(低妊孕性)、アクロソームと核の形態が異常であることが見いだされました。加えて、ACRBP の欠損により、アクロソーム内に存在する精子セリンプロテアーゼアクロシンの自発的な活性化がおこっていることも明確になりました。これらのことから、ACRBP はアクロソームの正常な形成や機能のために必要なタンパク質であると結論づけられました。

現在、約 6 組に 1 組の夫婦が不妊で悩んでおり、その原因究明は出生率低下を防ぐための重要な研究プロジェクトです。興味深いことに、ACRBP 欠損マウスの精子形態は、男性不妊の主な原因である奇形精子症の症例と酷似していることが判明しました。今後、ACRBP のさらなる解析を進めることで、適切な不妊症治療を選択する上での新たな診断技術の開発や生殖補助技術の改良につながっていくことが期待されます。

以上の研究成果は、米国東部時間 2016 年 6 月 13 日 午後3時(日本時間 14 日午前 3 時)以降に米科学雑誌「米科学アカデミー紀要(PNAS)」にオンライン先行公開される予定です。

※本研究は、科学研究費補助金の助成によって実施されました。

## 研究の背景

有性生殖を行うほぼ全ての動物種の精子頭部には、アクロソーム(先体)とよばれるゴルジ体由来の特殊な細胞小器官があり、その内部にはさまざまな加水分解酵素が含まれています。精子形成過程において、アクロソームは球状精細胞で生合成がはじまり、伸長精細胞になると核を覆うように広がっていきます(図1)。受精の際には、アクロソーム反応によってその内容物を放出し、卵子との融合を容易にしています。

ACRBP は、ブタ精子からセリンプロテアーゼアクロシンの前駆体(プロアクロシン)と共精製されたアクロソームタンパク質です。マウスの精巣では、*Acrbp* mRNA 前駆体の選択的スプライシングにより 2 種類の ACRBP タンパク質 (ACRBP-W と ACRBP-V5) が産生されています(参考文献1)。球状精細胞から伸長精細胞への分化にともない ACRBP-V5 は分解され消失するのに対し、ACRBP-W は N 末端アミノ酸領域が除去された成熟型の ACRBP-C へと変換されます。先行研究から、ACRBP-C はプロアクロシンの活性化に関与することが示唆されてきましたが、ACRBP-W や ACRBP-V5 の生理機能については長く不明なままでした。

## 研究内容と成果

本研究では、まず ACRBP-W と ACRBP-V5 の両方を欠損させた ACRBP 欠損マウスの作製と解析を行いました。ACRBP 欠損の雄マウスは、野生型と比較して精巣重量や精子数に有意な差は見られませんでした。妊孕率が著しく低下していました。この低妊孕性の原因を詳細に調べると、ACRBP 欠損マウスの球状精細胞でアクロソーム内の顆粒状の構造物(アクロソーム顆粒)が消失していました。このアクロソーム顆粒の不形成が、その後の伸長精細胞や精巣上体精子でのアクロソームや核の形成に影響を与えていました。実際には ACRBP 欠損精子は、アクロソームや核の異常度合いに応じて 4 種類のタイプに分別されました(図2)。アクロソームタンパク質の存在を調べると、ACRBP 欠損精子ではプロアクロシンが成熟型アクロシンへと自発的に活性化していることも判明しました。

次いで、ACRBP-W と ACRBP-V5 の機能的差異を明らかにするため、それぞれを外来的に発現するトランスジェニックマウスを作製し、ACRBP 欠損マウスと交配させました。ACRBP 欠損マウスの妊孕率の低下は、ACRBP-W と ACRBP-V5 それぞれの外来的発現によって著しく回復しました。アクロソームや核の異常形成は、ACRBP-V5 トランスジェニックマウスとの交配で野生型と同程度まで復元しました。一方、ACRBP 欠損マウスに ACRBP-W を発現させると、野生型マウスと同様にプロアクロシンのアクロシンへの変換が見られませんでした。これらのことから、ACRBP-V5 は精子形成過程でのアクロソーム形成に必要であること、ACRBP-W と ACRBP-C はアクロソーム反応前までプロアクロシンを不活性な状態に維持しておく機能をもつことが明らかになりました(図3)。

## 今後の展開

現在、約 6 組に 1 組の夫婦が不妊で悩んでおり、その原因究明は出生率低下を防ぐための重要な研究プロジェクトとして位置づけられています。興味深いことに、ACRBP 欠損マウスの精子形態は、男性不妊の主な原因である奇形精子症「Teratozoospermia」の症例と酷似していました。今後、奇形精子症患者の *ACRBP* 遺伝子の変異を調べることで、疾患の原因が解明される可能性があります。今回発見した ACRBP をターゲットとする不妊症治療での新たな診断技術の開発や生殖補助技術の改良が期待されます。

参考図

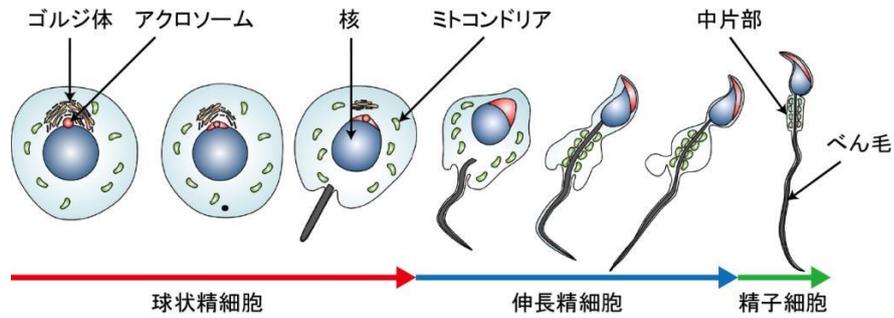


図 1.マウスの精子形成過程

減数分裂後、球状精細胞でアクロソームの生合成がはじまります。ゴルジ体から輸送されたアクロソーム小胞が核付近で融合し、内部に顆粒状の構造物(アクロソーム顆粒)を含む1つの大きなアクロソームを形成します。伸長精細胞になると、アクロソームは核頭部を覆うように伸長化していきます。

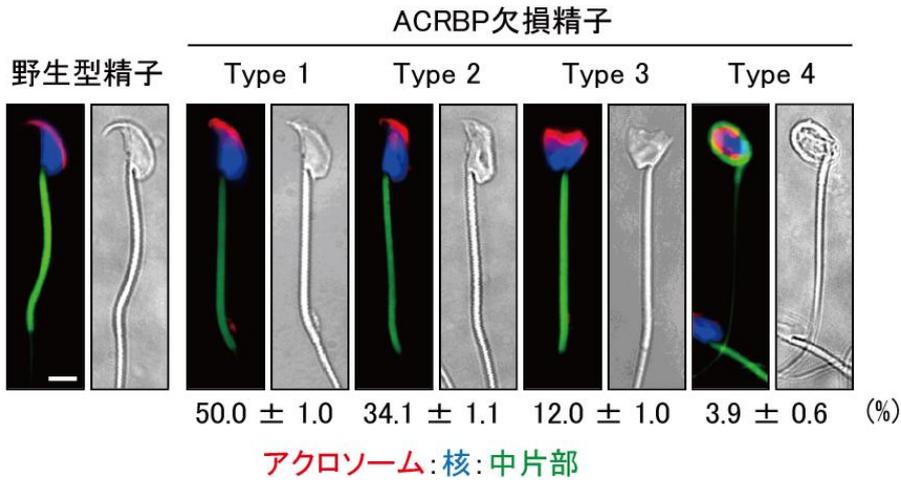


図 2.精巣上体精子でのアクロソームと核の形態

ACRBP 欠損マウスの精巣上体精子は、アクロソームと核が変形しており、その異常度合いによって4種類のタイプ(Type 1-4)に分別されました。写真下の数字は、全 ACRBP 欠損精子中のそれぞれのタイプが占める割合を表しています。

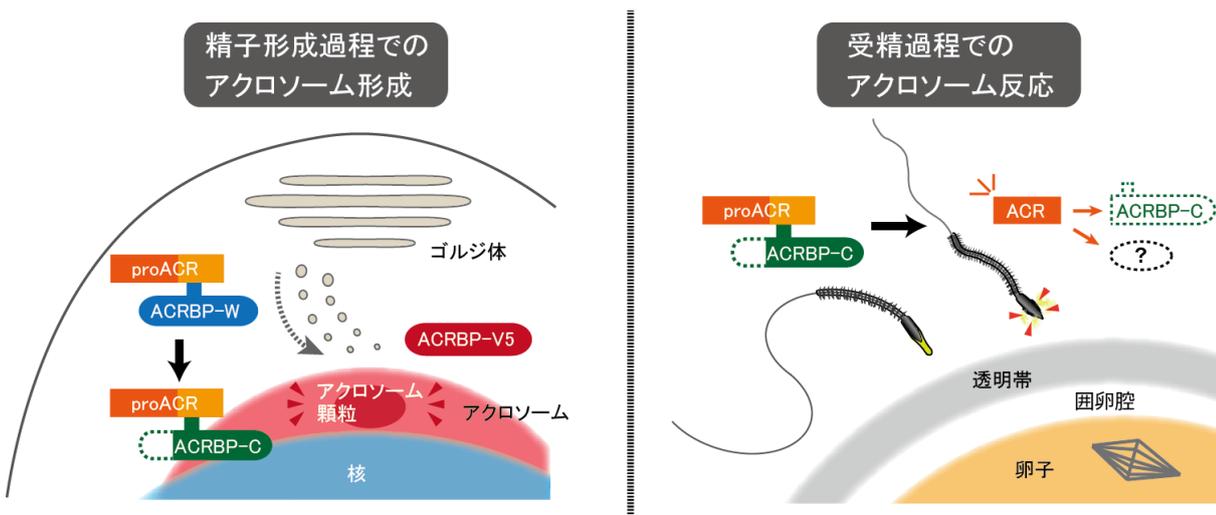


図 3. 今回の研究成果のモデル図

(左図)精子形成過程の球状精細胞で、ACRBP-W と ACRBP-C はプロアクロシン(proACR)と結合し、自発的な活性化を抑制しています。一方、ACRBP-V5 はアクロソーム内のアクロソーム顆粒の形成に関与しています。(右図)受精過程でのアクロソーム反応で、ACRBP-C は proACR の活性化を制御する機能をもっています。

#### 参考文献

(1) Kanemori Y, Ryu JH, Sudo M, Niida-Araida Y, Kodaira K, Takenaka M, Kohno N, Sugiura S, Kashiwabara S, Baba T., Biol Reprod. 2013 Apr 25;88(4):105.

#### 掲載論文

【題名】 Biogenesis of sperm acrosome is regulated by pre-mRNA alternative splicing of Acrbp in the mouse  
(精子アクロソームの生合成は、Acrbp mRNA 前駆体の選択的スプライシングによって制御される)

【著者名】兼森芳紀<sup>1,2</sup>、古賀義隆<sup>1</sup>、首藤舞<sup>1</sup>、Woojin Kang<sup>1</sup>、柏原真一<sup>1,2</sup>、伊川正人<sup>3</sup>、蓮輪英毅<sup>3</sup>、永島聖<sup>1,2</sup>、石川祐<sup>1,2</sup>、越後貫成美<sup>4</sup>、小倉淳郎<sup>1,4</sup>、馬場忠<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>筑波大学生命環境系、<sup>2</sup>筑波大学ヒューマンバイオロジー学位プログラム、<sup>3</sup>大阪大学微生物病研究所、  
<sup>4</sup>理研バイオリソースセンター、<sup>5</sup>筑波大学 TARA センター

【掲載誌】Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)  
doi/10.1073/pnas.1522333113

#### 問い合わせ先

兼森 芳紀 (かねもり よしのり)  
筑波大学 生命環境系 助教

馬場 忠 (ばば ただし)  
筑波大学 生命環境系 教授 (TARA センター 連携教員)