



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Elucidation of the murine blood-testis barrier function : Role as a "gatekeeper" regulating persistent spermatogenesis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	千原, 正尚
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11281号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56182
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masataka_Chihara_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：千 原 正 尚

審査委員	主査	教授	昆	泰 寛
	副査	教授	木	村 和 弘
	副査	教授	石	塚 真由美
	副査	准教授	永	野 昌 志

学位論文題名

Elucidation of the murine blood-testis barrier function – Role as a “gatekeeper” regulating persistent spermatogenesis –

(マウス血液精巣関門の新たな機能の解明－精子発生の調節を担うゲートキーパーとしての役割－)

雄の配偶子である精子は、精巣内に存在する曲精細管で産生される。曲精細管の上皮（精上皮）には、将来精子となる様々な分化段階の精細胞（精祖細胞、精母細胞、精子細胞）とそれらの分化・成熟を支持するセルトリ細胞が存在する。マウスは生後数日中に精細胞分化の **First wave** を開始し、以降、規則的な精細胞分化の波が精上皮周期を形成していく。**First wave** 由来精母細胞がパキテン期に達する生後 15 日頃、密着結合帯である血液精巣関門（BTB）が隣接するセルトリ細胞間に形成され、精上皮は基底区画と傍腔区画とに分けられる。精細胞は分化に伴い、次第に精細管の基底側から管腔側へと移動するが、その過程において、プレレプトテン期／レプトテン期精母細胞は BTB を通過する。通説として、BTB は傍腔区画内を体循環から隔離し、減数分裂後の精細胞の抗原性を自己の免疫システムから隔離する免疫学的障壁として機能すると考えられてきた。しかしながら、BTB を破壊したマウス精巣において、自己免疫反応の誘導は証明されておらず、BTB が精子発生に果たす役割とその制御機構については不明である。本研究では、BTB 構成蛋白の動態と精細胞分化との関連を検証し、BTB の機能解明を試みた。

はじめに、成熟マウスの精子形成過程における BTB 構成蛋白の動態を解析した。密着結合蛋白である CLDN11, OCLN, および ZO1 は、精上皮周期の全ステージにおいて精祖細胞と精母細胞の間で線状に観察され、精細胞の BTB 通過が起こる前後のステージではプレレプトテン期／レプトテン期精母細胞の基底側と管腔側の

両方に観察された。本結果は、精細胞の BTB 通過時には、まず移動する精細胞の基底側に新しい BTB が形成され、その後管腔側にある古い BTB が分解されることを強く示唆した。このため、BTB による傍腔区画隔離能は精子形成過程を通して厳密に維持されていることが明らかとなった。一方、CLDN3 は精細胞の BTB 通過が起こる前後のステージ特異的に BTB 近傍に局在したことから、BTB 構成蛋白では特に CLDN3 が精細胞の BTB 通過に重要な役割を有することが考えられた。

続いて、成熟マウス精巣における CLDN3 の発現部位を精査した結果、CLDN3 は BTB を構築するセルトリ細胞のみならず、密着結合帯を形成しないプレプトテン期／レプトテン期精母細胞の細胞膜にも局在した。さらに、*in vivo* RNAi 法によって *Cldn3* 発現を抑制した精巣において、精細胞の BTB 通過の抑制に加え、プレプトテン期精母細胞の存在期間の延長が観察された。これらの結果より、CLDN3 は精細胞の BTB 通過を制御するとともに、精細胞分化の進行を調節している可能性が示された。

最後に、「生体におけるビタミン A 欠乏は可逆的に精子形成を停止させる」ことに着目し、ビタミン A 欠乏食給餌 (VAD) マウスを用いて BTB の構築と精細胞分化の関連を解析した。VAD マウスの性成熟過程を観察した結果、First wave の精細胞分化の開始と進行に異常は認められなかったが、Second wave 以降の精細胞分化におけるプレプトテン期／レプトテン期精母細胞数の減少ならびに BTB の初期形成の遅延が認められた。さらに、性成熟後の VAD マウスでは、顕著な精巣変性と精子形成の停止に先行して BTB の崩壊が観察された。ビタミン A の補填による精子形成再開後、プレプトテン期／レプトテン期およびパキテン期精母細胞の出現と一致して BTB の再形成が認められたことから、BTB の初期形成には特定の分化段階に達した精細胞とセルトリ細胞の協調作用が必要であり、また、BTB は精細胞分化の開始ではなく、持続的な精子形成を維持する為に必須の構造であると考えられた。

上述の結果は、精細胞とセルトリ細胞は相互に密接に関わり合いながら BTB の局在を制御し、精細管内を精子形成に適した微小環境に維持していることを示す。すなわち、BTB は免疫学的障壁というよりむしろ、精細胞の体系的な分化調節を担うゲートキーパーとしての役割を持つことが明らかになった。

これらの成果は、血液精巣関門の破綻が雄性不妊症の一因となることを明らかにした知見であり、その意義は大きい。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 千原正尚氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。