

研究室紹介

神戸大学大学院医学研究科

腎泌尿器科学教室 アンドロロジーグループ

教授 藤澤 正人



神戸大学大学院医学研究科は、1944年（昭和19年）に設立された兵庫県立医学専門学校を前身とし、以来70年の歴史を有します。当泌尿器科学教室は、1962年（昭和37年）に開講され、本年度で52年目を迎えています。そのような歴史のなかで、当教室は全国の泌尿器科学教室のなかでも、アンドロロジーに関する基礎研究および臨床研究が盛んに行われている教室の1つです。2005年4月より、藤澤正人が第4代教授として就任しました。おもにアンドロロジー、癌、腎移植、感染症・化学療法との4つの研究グループに分かれ、大学の責務である診療・教育・研究の3本柱を全うするべく、スタッフおよび大学院生それぞれがテーマをもって課題に取り組んでおります。現在、アンドロロジーグループのメンバーは、教授、准教授以下、助教2名（うち1名米国留学中）、大学院生3名、中国からの留学生1名の総勢8名です。

当グループでは、視床下部-下垂体-精巣軸系においては cytokine, growth factor の精巣機能調節に及ぼす影響、一方の精巣内では Germ cell, Sertoli cell, Leydig cell の細胞間調節に着目し、これまでに多くの成果を報告してきました。また spermatogenesis, steroidogenesis における精巣機能調節機構を解明する手法として造精機能障害モデルや分離培養細胞を用いて精巣内遺伝子導入を試み、遺伝子発現の誘導、抑制の効果を調べる研究にも取り組んできました。現在アンドロロジーグループが取り組んでいる基礎研究について簡潔に紹介いたします。

1. セルトリ細胞機能に関する研究

私たちは、以前より特にセルトリ細胞の機能に着目し、培養細胞などを用いて、各種抗癌剤や環境ホルモン物質などの精巣毒物にさらされることによって生じる分子動態の変化について研究をすすめております。

Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) は、食品用ラップ、幼児の玩具、血液透析バッグやカテーテル等で使用され、生活環境に幅広く存在し、曝露の危険がある内分泌攪乱物質の1つであり、経口で摂取されると代謝され、Mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) となります。MEHPによる生殖毒性は、以前より報告されていますが、セルトリ細胞に及ぼす影響は十分に解明されていません。そこで、MEHPがセルトリ細胞へ与える影響を評価したところ、MEHPは、p44/42 MAPK 経路を介して tight junction の構成タンパクである claudin-11や occludin の発現低下をもたらすことが確認され、MEHPへの曝露が、造精機能障害の一因になりうることが示唆されました (Chiba K et al, J Androl, 2012)。

また、熱ストレスがセルトリ細胞に与える影響を考え

るうえで、強力な抗アポトーシス活性を有するストレス関連分子シャペロンとして知られるクラスタリンに着目して研究をすすめています。クラスタリンについては多くの研究がなされていますが、精巣での役割については未だ不明な部分が多いのが現状です。そこで私たちは、ラットの精巣からセルトリ細胞を培養し、この培養細胞にクラスタリンを標的とした siRNA を導入してクラスタリンの発現を抑制し、熱ストレスの影響を検討しました。その結果、クラスタリンの発現を抑制した培養 Sertoli 細胞において熱ストレス後の apoptosis が早期より高度にみられる傾向を示し、クラスタリンが熱ストレスによって生じる傷害から精巣細胞を保護する機能を有すると考えられました。

さらに私たちは、セルトリ細胞のさらなる機能解析のために、初代培養セルトリ細胞への効率的な外来性 DNA 導入法についても研究を進めています。エレクトロポレーション法を用いて、トランスフェクションに最適なプロトコルを検討し、その効率を検討したところ、従来のリポフェクションよりも有意に細胞の生存率および導入効率の高い条件を見い出すことができました (Li F et al, Biol Reprod, 2013)。

2. 精巣におけるポドシンの機能に関する研究

ポドシンは腎臓の糸球体毛細血管壁の足突起に位置し、スリット膜のバリア機能に重要な役割を果たしていることが報告されています。精巣でもポドシンの発現が確認されていますが、精巣内での働きは解明されておらず、私たちはポドシンの精巣内での働きについて研究を進めています。成熟ラットの精巣内において、ポドシンが精細管の tight junction に分布することが分かりました。そこで精巣障害を与えるため、抗癌剤であるシスプラチン (CDDP) をラットに投与したところ、ポドシンの発現が低下し、またその発現パターンが不連続な顆粒状へと変化することを認めました。さらに興味深いことに、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) を CDDP と同時投与すると、CDDP によるポドシンの発現の低

下が緩和されることが確認できました。以上より、ポドシンが精巣の tight junction を形成するタンパクであり、その発現パターンより精巣のバリア機能に関与していることが示唆され、また ARB が精巣障害を緩和・修復する可能性が示唆されました。

3. 細胞間接着因子異常と男性不妊に関する研究

低分子 GTP 結合タンパク質である Rap1 は生体内でさまざまな機能を有するといわれていますが、cadherin および integrin 依存性の細胞接着にも関与していることが知られ、近年男性不妊症との関連も報告されています。Rap1 の上流シグナルである RA-GEF-2 は、Rap1 の活性化因子であり、RA-GEF-2 と男性不妊症との関連を解明するために、RA-GEF-2 ノックアウトマウスを用いた解析を行っております。

RA-GEF-2 ノックマウスは、野生型と比較して体重差やホルモン差を認めないにもかかわらず、精液所見の不良、妊孕性の低下および低形成精巣を示すことが分かりました。また RA-GEF-2 は、精細管の内腔側に発現し、セルトリ細胞—生殖細胞間の接着への関与が示唆されました。そこで各種接着分子との関連について解析を進めたところ、ノックアウトマウスにおいて adherens junction の構成タンパクの 1 つと考えられる N カドヘリンの発現が低下し、その局在が diffuse で不規則になっており、以上から RA-GEF-2 は N カドヘリンを介して、セルトリ細胞—生殖細胞間の接着を調節していることが示唆されました (Okada K et al, Biochem Biophys Res Commun, 2014)。

今後の展望

男性生殖医療を教室の 1 つの柱とする泌尿器科学教室は、それほど多くありませんが生殖医療の半分は男性が関わるものです。当研究室では、男性生殖医療に従事する臨床医の視点から基礎研究に力を注ぎ、生殖医療のさらなる発展を目標にこれからも研究に邁進したいと思えます。