

【目的】精子形成は、精子幹細胞の分裂増殖、2回の分裂を伴う減数分裂、そしてダイナミックな形態変化を伴う精子変態から構成され複雑かつ緻密な分化過程である。以前、我々は器官培養法によって、未熟な精原細胞から精子に至る精子形成過程を、体外において進行させることが可能な培養法を開発した。器官培養は培養液の組成を自在に変更できるため、生体内では実現が難しいような精巣内環境でさえ作れるという強みがある。それゆえ、男性不妊治療に応用できる可能性もあると期待される。レトロトランスポゾンを抑制する遺伝子である *Piwi* 経路構成遺伝子を欠損すると精子形成不全となり不妊となることが知られている。本研究では、*Piwi* 経路構成遺伝子ノックアウトマウスを不妊モデルとして、精巣器官培養法によって、精子形成不全を *in vitro* で治療する方法を開発することを目的として開始した。これまで *Piwi* 経路構成遺伝子ノックアウトマウスの一つ、*Tdrd7* KO マウスを対象に取り組んできたが、現在までに有効な方法の確立には至っていない。しかし、その研究過程で使用した逆転写酵素阻害剤が、野生型マウスの精巣の器官培養において、*in vitro* 精子形成効率を改善することを示唆する結果が予想外に得られた。我々の開発した精巣の器官培養法は、効率が低いという点が問題となっていた。そのため本結果は、この問題を解決する突破口となり得る重要な結果であると思われた。そこで逆転写酵素阻害剤の精巣の器官培養における精子形成誘導効率の改善効果とその作用機序の解明を行った。

【方法】本研究では、3種の逆転写酵素阻害剤について *in vitro* 精子形成の誘導効率への影響を調べた。精子形成のレポーターマウスである *Acr-GFP* マウスの新生仔の精巣を、それぞれの逆転写酵素阻害剤を添加し器官培養を行った。

【結果】逆転写酵素阻害剤を添加した群では、*GFP* の発現面積割合が向上し、精子形成誘導効率の改善が認められた。

逆転写酵素阻害剤は、レトロトランスポゾンの転移を抑制することが報告されているため、生体内精巣と培養した精巣の生殖細胞のレトロトランスポゾンのコピー数をそれぞれ調べた。その結果、生体内精巣に比べ培養した精巣ではレトロトランスポゾンのコピー数の増加が認められた。このことから、前述の逆転写酵素阻害剤による *in vitro* 精子形成効率の改善効果は、培養下の精巣組織で減弱した生殖細胞中のレトロトランスポゾン抑制の働きが、逆転写酵素阻害剤により補われ、レトロトランスポゾンのレトロ転移による、生殖細胞ゲノムへのダメージを抑制していることによると考えている。

今後、培養環境においてレトロトランスポゾンの抑制を減弱させる原因を探索し特定することで、より生体内の環境に近い培養法を開発し、高効率な精子形成誘導が可能になると予想している。

逆転写酵素阻害剤の添加による *Acr-GFP* 発現面積割合への影響