

卵管内フローによる精子を卵子へと導く機構の全容解明

バイラー医科大学 梅津康平

本研究は、フローを感知する特殊な能力が精子にあることと、受精の場にフローが存在するというに着目し、走流性（流れに逆らって泳ぐ習性）が生体内の精子誘導機構であることを検証することを目的とした。

まず、本研究を遂行するにあたり最も重要な技術基盤である Optical Coherence Tomography (OCT) を用いたマウス雌性生殖器官の In vivo イメージングの確立を試みた。3D プリンターで作成したイメージングウインドウをメスマウスの背に移植し、そのウインドウを通して卵巣、卵管、子宮の OCT イメージングに成功した。これにより、雌性生殖器の詳細な内部構造までを三次元で可視化することが可能となった。また、卵管内で遊走している精子の三次元運動を捉えることにも成功した。現在、卵管内に存在するフローの解析を試みており、フロー速度とフローベクトルを卵管全域で算出中であり、これらのフロー指標と精子運動パラメーター（遊走速度、方向転換の頻度等）との関連解析を予定している。

次に、卵管内フロー抑制モデル動物として Dnah5 cKO マウスの作成に成功した。フローを生み出す繊毛のモータータンパク質である Dnah5 を卵管特異的プロモーターを用いて卵管特異的に欠損させたメスマウスを安定的に生産し、遺伝子ならびにタンパク質解析により卵管特異的 Dnah5 欠損を確認した。また、このメスマウスの卵管の繊毛運動を解析し、Cilia beat frequency がコントロール群と比較して有意に低下しており、このマウスがフロー抑制モデル動物として適切であることも確認した。さらに、Dnah5 cKO マウスを野生型オスマウスと交配させ、受精率や産仔数を算出したところ、妊孕性が著しく低下していることが明らかになった。このことは、卵管内フローが生体内の精子誘導機に関与しているという我々の仮説を支持していた。現在、OCT を用いて In vivo イメージングを行い、オスマウスと交配後に卵子に到達した精子数、到達時間、精子の運動速度、方向転換の頻度を算出ならびにコントロール群との比較を行い、フローが存在しない環境での精子の挙動を明らかにすることを試みている。

以上の研究成果は、精子運動と卵管内フロー双方を時空間的に把握し、これまでブラックボックスであった生体内の精子誘導機構の解明の一端を担い、将来的には不妊症の原因探究と打開ならびに生殖補助医療技術の改善につながると考えられる。

その他の研究成果として、OCT イメージングを活用した雄性生殖器の内部構造の三次元構築技術の確立の成功し、その成果が国際学術誌に受理された（次ページ文献 1）。また、いくつかの共同研究に参加し、その成果が査読を経て、国際学術誌に掲載されている（次ページ文献 2、3）。さらに、様々な国際学会で採用期間中に計 5 回の研究成果の発表を行い（次ページ文献 4-8）、それらの評価により複数の学会賞を受賞した（次ページ文献 9、11）。所属機関であるバイラー医科大学からも研究成果が評価され、Dean's Award of Excellence を受賞した（次ページ文献 10）。

【原著論文】

1. **Kohei Umezu**, Tian Xia, Irina V. Larina. Dynamic volumetric imaging and cilia beat mapping in the mouse male reproductive tract with optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 2022
2. Kaori Nozawa, Yoshitaka Fujihara, Darius J. Devlin, Ricardo E. Deras, Katarzyna Kent, Irina V. Larina, **Kohei Umezu**, Zhifeng Yu, Courtney M. Sutton, Qiuji Ye, Laura K. Dean, Chihiro Emori, Masahito Ikawa, Thomas X. Garcia, Martin M. Matzuk. The testis-specific E3 ubiquitin ligase RNF133 is required for fecundity in mice. *BMC Biology*, 2022
3. Shouhei Kurata, **Kohei Umezu**, Hironori Takamori, Yuuki Hiradate, Kenshiro Hara, and Kentaro Tanemura. Exogenous gamma-aminobutyric acid addition enhances porcine sperm acrosome reaction. *Animal Science Journal*, 2022

【国際会議での発表】

4. **Kohei Umezu**, Shang Wang, Irina V. Larina. Dynamic imaging of ovulated egg transport into the oviduct. The 55th Society for the Study of Reproduction Annual Meeting, WA, USA, July 2022
5. **Kohei Umezu**, Shang Wang, Irina V. Larina. Ovulated egg transport in the ovarian bursa. Texas Forum for Reproductive Sciences 27th Annual Meeting, TX, USA, June 2022
6. **Kohei Umezu**, Shang Wang, Irina V. Larina. Dynamic volumetric imaging of ovulated egg transport to the fallopian tube with optical coherence tomography. The International Society for Optics and Photonics West 2022, CA, USA, January 2022
7. **Kohei Umezu**, Tian Xia, Shang Wang, Irina V. Larina. Sperm tracking toward the oocyte: in vitro and in vivo. The 54th Society for the Study of Reproduction Annual Meeting, MO, USA, December 2021
8. **Kohei Umezu**, Shang Wang, Irina V. Larina. Dynamic volumetric imaging of ovulated egg transport to the fallopian tube with optical coherence tomography. The XXV Saratov Fall Meeting 2021, Saratov, Russia, September 2021

【受賞】

9. 2022 Lalor Foundation Merit Award, Society for the Study of Reproduction、2022年7月
10. Dean's Award of Excellence, Baylor College of Medicine、2022年5月
11. Travel Award at the 54th annual meeting of Society for the Study of Reproduction、2021年12月