

# 令和2年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

企画題目	新型コロナウイルス感染症が性感染症となり得るのか検討する研究 (ネコおよびヒトの精液、生殖腺、副生殖腺に ACE2 受容体発現細胞が存在するか検討する)
研究者所属・氏名	研究代表者：森山隆太郎 共同研究者：萩原央記

## 1. 研究、開発・改良、提案目的・内容

本研究の目的は霊長類とネコの生殖系組織におけるアンジオテンシン変換酵素 II (ACE2) 受容体および TMPRSS2 発現細胞を同定することにある。新型コロナウイルス (SARS-CoV2) は ACE2 受容体と TMPRSS2 の両方をもつ細胞に侵入し、自己増殖することが知られている。本研究では SARS-CoV2 への感染が報告されているマカク (アカゲザル・ニホンザル) および家ネコの生殖系組織に ACE2 受容体や TMPRSS2 をもつ細胞が局在するかを調べることで、霊長類や伴侶動物であるネコにおいて新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が生殖機能に与える影響および性感染症となり得るのか検討することを。具体的には、免疫組織化学的手法を用いて繁殖期のマカクと家ネコ生殖腺・副生殖腺における ACE2 受容体および TMPRSS2 発現細胞の同定を行う。

## 2. 研究、開発・改良、提案経過及び成果

実験には成熟した繁殖期のアカゲザルとニホンザル各 2 匹ずつ計 4 匹の雄マカクを用いた。京都大学霊長類研究所で深麻酔下において生殖腺および副生殖腺 (精巣、精巣上体頭部・体部・尾部、精管、精囊、前立腺、尿道球腺、陰茎) を摘出したのち、中性ホルマリン液に浸漬した組織を用いて近畿大学にて解析を行った。本実験は京都大学霊長類研究所動物実験委員会の承認を受け、動物実験に関する指針に準拠して行った。

ACE2 受容体免疫陽性細胞を観察した結果、精巣のライディッヒ細胞、セルトリ細胞、精原細胞が ACE2 受容体免疫陽性であった。同様に TMPRSS2 免疫陽性細胞を観察した結果、精巣のライディッヒ細胞、セルトリ細胞、精巣上体頭部・体部・尾部にある精巣上体管周囲の上皮細胞、精囊、前立腺および尿道球腺の腺腔を囲む上皮細胞が TMPRSS2 免疫陽性であった。これらのうち、ACE2 受容体と TMPRSS2 両方の免疫陽性が観察された細胞は精巣のライディッヒ細胞、セルトリ細胞であった。

Western blotting 法により ACE2 受容体および TMPRSS2 発現組織を同定した結果、抗 ACE2 受容体抗体でバンドが観察された組織は精巣のみであり、抗 TMPRSS2 抗体でバンドが観察された組織は精巣、精巣上体頭部・体部・尾部、精囊腺、前立腺、尿道球腺であった。また、RT-PCR 法により mRNA 発現組織を同定した結果、ACE2 受容体 mRNA 発現組織は精巣のみであり、TMPRSS2 mRNA 発現組織は精巣、精巣上体頭部・体部・尾部、精囊腺、前立腺、尿道球腺、陰茎であった。

以上より、繁殖期のマカク生殖腺・副生殖腺において ACE2 受容体および TMPRSS2 が共発現している細胞は精巣のライディッヒ細胞、セルトリ細胞であることが明らかとなった。これらの結果は、SARS-CoV2 が精巣のライディッヒ細胞とセルトリ細胞に感染すること、さらには精子と混ざる前の精漿には SARS-CoV2 が存在しないことを示唆するものである。セルトリ細胞は精子形成に重要な役割を担う支持細胞である。また、ライディッヒ細胞はテストステロン合成および分泌を担う細胞である。これらのことを踏まえると、SARS-CoV2 が精巣のライディッヒ細胞とセルトリ細胞に感染した場合、霊長類の雄では造精機能障害や男性ホルモン分泌障害を引き起こすことが示唆される。しかし、霊長類における精細管内での SARS-CoV2 の生存期間は明らかとなっていないため、今回の結果からは射精精液を介したウイルス感染の可能性は不明である。精巣で作られた精子は精巣上体尾部へ送られ射精精子として貯留されるが、この間、およそ 10 日間の時間がかかる。そのため、セルトリ細胞で SARS-CoV2 が複製され精細管内へ放出されたとしても、ウイルスの生存期間が 10 日以内ならば、射精前にウイルスの多くは死ぬと考えられる。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・改良、提案計画

今年度はマカク雄の生殖腺および副生殖腺における発現細胞を同定したが、組織を入手することができなかつたため、雌の生殖腺および副生殖腺における発現細胞を同定することができなかつた。また、同様の理由により家ネコにおける発現解析を実施することができなかつた。そのため、今後はマカク雌および家ネコにおける発現解析を行う予定で研究計画を立てている。実際、京都大学霊長類研究所には令和3年度の共同研究申請を行い、継続研究としてその申請が受理されている。また、ネコについても北里大学獣医学部から組織の提供を受ける手はずが調っている。

4. 研究成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)

5. 開発・改良、提案課題の成果発表等

現在、マカク雄の生殖腺・副生殖腺における ACE2 受容体および TMPRSS2 発現細胞に関する論文を *Biology of Reproduction* 誌に投稿準備中である。また、令和3年度の繁殖生物学会や北米繁殖学会等で結果を発表する予定である。