埼玉医科大学
Saitama Medical University

[PRESSRELEASE]

2016 年 3 月 30 日

精子・卵子形成の為の減数分裂を開始させる仕組みを発見

【概要】

埼玉医科大学ゲノム医学研究センターの奥田晶彦教授・鈴木　歩助教らは、Max タンパク質の消失が減数分裂を惹起することを明らかにしました。

生殖細胞、特に生殖幹細胞は体細胞分裂により増殖し、かつ、必要に応じて精子・卵子を産生する為に体細胞分裂を止め減数分裂を始めますが、この生殖細胞における体細胞分裂からの減数分裂への切り替えの機構に関してはほとんどわかっていません。本発表では、この２種類の細胞分裂の切り替えに Max タンパク質が関与していることを明らかにしました。この発見は、体細胞分裂から減数分裂への移行の仕組みの全容解明を促進し、かつ、そのことが精子・卵子形成不全という病態の理解であるとか、精巣腫瘍などの生殖器系の腫瘍の原因の解明へと発展することが期待されます。

【研究の背景と経緯】

精子幹細胞は京都大学教授篠原隆司博士が開発した生殖幹細胞ですが、自己増殖性はもちろんのこと、精細管内に移植すると生涯に渡って成熟した精子の供給源として機能することができます。しかしながら、精子幹細胞が最終的に精子に変換するまでの過程で呈する様々な変化がどういった原理・原則に従って起こっているかという点に関してはほとんどわかっていません。特に、精子幹細胞が通常の幹細胞や体細胞と同様に細胞増殖の為に体細胞分裂を行っている状態から、精子形成の開始の為に体細胞分裂を止め減数分裂を始める仕組みに関しては全くといっていいほど何もわかっていません。こういった状況の中で奥田らは、図 1 のモデル図にあるように精子幹細胞が幹細胞としての性質を維持している状態では、Max タンパク質がその幹細胞において減数分裂を起こさないにようにしていることを見出しました。すなわち、奥田らは精子幹細胞において Max タンパク質の量を減らすと、減数分裂が惹起されることを示しました。なお、このモデル図にあるように Max タンパク質はもともと細胞増殖促進に関わる c-Myc 転写因子が機能する為に必須なパートナー因子として同定されたタンパク質であり、篠原隆司博士らの研究から、この c-Myc/Max 転写複合体は精子幹細胞においてもこの幹細胞が幹細胞として自己増殖する為に重要な働きをしていることが証明されています。従って、精子幹細胞において Max タンパク質の量が低下することには 2 つの意味があることになります。その一つは、今回の発表で示されているように精子形成の為に減数分裂を誘導することであり、2 つ目の Max タンパク質の量の低下の生物学的な意味は c-Myc の細胞増殖促進活性の減弱に伴って幹細胞状態が破綻することであります。なお、幹細胞状態は、精子形成という細胞分化と相反することなので、Max 遺伝子の発現の低下に伴った精子幹細胞の幹細胞状態の破綻は、間接的に精子形成の促進に繋がっていると考えられます。

【研究の内容】

奥田らの今回の論文の成果は、奥田らが長年行ってきた ES 細胞における c-Myc の機能解析の過程で偶然得られた結果でした。事実、奥田らが今回の研究成果を得る上で用いた Max ホモ欠失 ES 細胞はもともと ES 細胞における c-Myc 活性の重要性を確認することを目的に

樹立したものでした。しかしながら、奥田らは Max ホモ欠失 ES 細胞で生殖関連遺伝子の発現が顕著に上昇していることを発見しました（図 2)。そして、この現象は、Max ホモ欠失 ES 細胞と同様に Myc 活性を持たない c-Myc/N-Myc ダブルホモ欠失 ES 細胞では全く認められていないこととは極めて対照的なデータでした。また、奥田らは、Max ホモ欠失 ES 細胞では生殖関連遺伝子の発現が上昇しているといっても Blimp1 遺伝子など、始原生殖細胞で重要な働きをしている遺伝子の発現に関してはほとんど上昇しておらず、Stra8 や Dazl 等、減数分裂関連の遺伝子に限定的に発現の上昇が見られることに気付きました（図 2)。それ故、奥田らは、Max ホモ欠失 ES 細胞において異所性に減数分裂が開始しているのではないかと考え、減数分裂の初期に特徴的な染色体構造であるシナプトネマ複合体の主要な構成要素である Sycp3 タンパク質に対する抗体を用いた免疫染色を行いました。その結果、生殖細胞からのものと区別できないほどの減数分裂の初期と思われる染色像が得られました(図 3)。但し、Max ホモ欠失 ES 細胞が減数分裂様の細胞生物学的変化を示すといってもそれだけではその発見の生理的な意義がわからないので、まず、奥田らは、生理的な生殖細胞における減数分裂の過程で Max の発現が低下しているか否かを検討しました。その結果、一般的に恒常的な発現をする遺伝子として知られている Max 遺伝子の発現が、雌の減数分裂の場である生殖隆起の中の始原生殖細胞において顕著に低下していることを見出しました（図 4)。同様に、雄の減数分裂の場である精巣においても減数分裂に先立って Max 遺伝子の発現が低下することも確認しました（data not shown)。かつ、冒頭に触れたように、精子幹細胞における Max 遺伝子の強制的な低下によっても減数分裂様の変化が誘導されることを証明しました（図５)。

また、メカニズム的な解析結果としては、Max による減数分裂の抑制は 6 種類のサブタイプが知られているポリコーム抑制複合体 PRC1 の中の最も非典型的な複合体であると言われている PRC1.6 の機能を反映していることを証明しました(図 1)。なお、6 種類の PRC1 複合体では、PRC1.6 のみに Max タンパク質がサブユニットの一つとして含まれています。

【今後の展開】

今回の奥田らによる研究成果は、今までほとんどわかっていなかった生殖細胞の体細胞分裂から減数分裂への移行を決定する分子基盤の完全な解明へと発展していくと考えられます。そして、この減数分裂誘導機構におけるブレークスルーは精子もしくは卵子形成に異常を持つヒトの病気の原因の解明へとつながると考えられます。かつ、生殖細胞の体細胞分裂から減数分裂への移行の欠陥と生殖器腫瘍の発生との因果関係について解明される可能性が考えられます。さらには、奥田らの、生殖細胞のみならず ES 細胞も減数分裂を開始できる潜在能力を有するという発見は、極めて早い時期に発生が破綻（流産）するケースの中には着床前の発生初期の胚における異所性の減数分裂の誘導が原因である場合があることを示唆します。

この研究成果は（2016 年 3 月 30 日に英国雑誌 ***Nature Communications*** オンライン版 (http://www.nature.com/ncomms/index.html）にて掲載されました。なお、本論文のタイトル及びその日本語訳は以下の通りです。

Loss of MAX results in meiotic entry in mouse embryonic and germline stem cells

Max 遺伝子発現の消失は ES 細胞及び生殖幹細胞において減数分裂を惹起させる

また、本研究は、主に、私立大学研究基盤形成支援事業（文部科学省）及び新学術領域（生殖細胞、領域代表：篠原隆司）（文部科学省）の支援を得て行われました。

【発表者】
奥田晶彦（埼玉医科大学ゲノム医学研究センター　教授）
鈴木　歩　（埼玉医科大学ゲノム医学研究センター　助教）

【参考図】

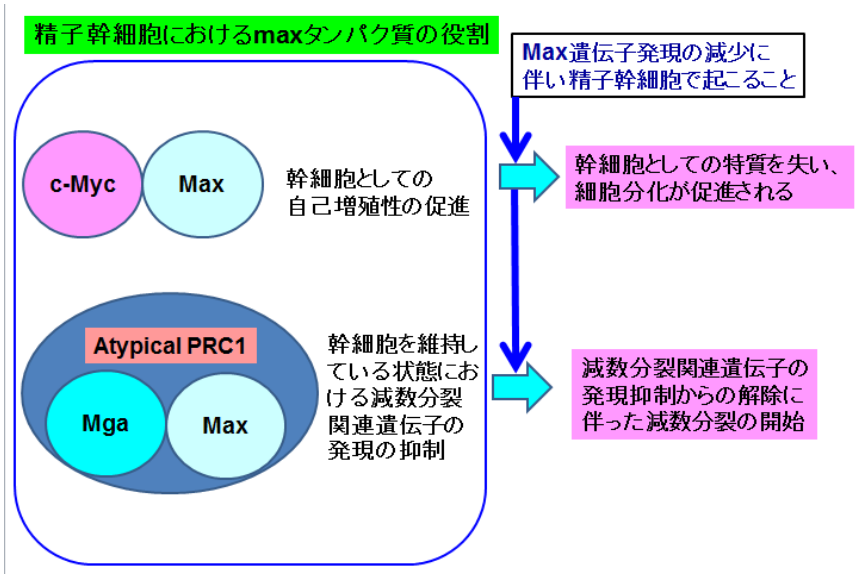

図 1 精子幹細胞における Max タンパク質における役割に関するモデル図
精子幹細胞では、Max は非典型的 PRC1 (PRC1.6)の構成因子として減数分裂関連遺伝子からの発現を抑制しているのと同時に、c-Myc のパートナー因子として精子幹細胞の幹細胞としての自己増殖性を維持している。そして、何らかの理由により Max タンパク質の量が低下すると、PRC1.6 の機能がなくなり、その複合体により発現が抑制されていた減数分裂関連遺伝子の発現が高まることで減数分裂が誘導される。かつ、Max の量の低下に伴い c-Myc の機能も低下する。そしてその c-Myc 活性の低下は幹細胞状態の破綻を介しても間接的に減数分裂を促進する。

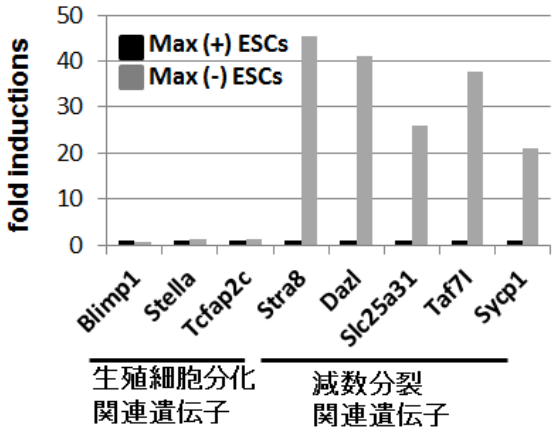

図 2 Max ホモ欠失 ES 細胞における生殖細胞分化及び減数分裂関連遺伝子の発現の変化

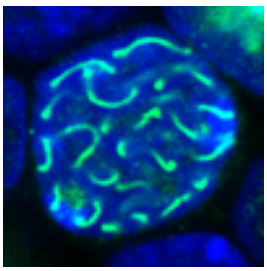

図 3 Max ホモ欠失 ES 細胞のシナプトネマ複合体の主要な構成要素である Sycp3 タンパク質に対する抗体を用いた免疫染色像

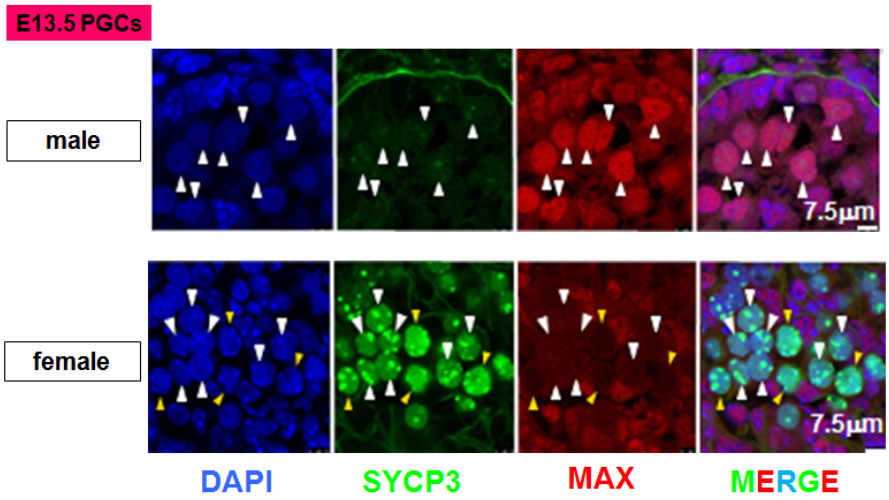

図 4 生殖隆起における雌特異的な Max 発現の生理的な低下に伴った減数分裂
13.5 日胚頃のマウス胎児において雄の生殖隆起では減数分裂が起きないが雌では減数分裂が起こる。この図は、その雌特異的な胎生期における減数分裂の時期に Max 遺伝子の発現の低下が認められることを示している。

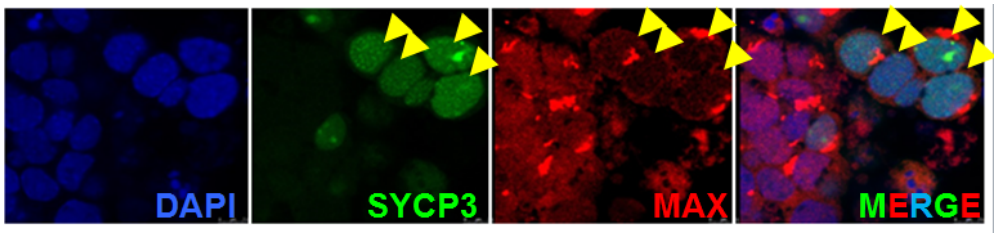

図 5 精子幹細胞では Max 遺伝子の発現の低下により減数分裂が惹起される
精子幹細胞における Max 遺伝子の発現をノックダウンにより強制的に低下させたところ、Sycp3 陽性の減数分裂過程にあると思われる細胞が産み出された。