

放射線照射による精子幹細胞のアポトーシス経路を解明

-抗がん剤等の DNA ダメージによる男性不妊の回避に期待-

概要

放射線や抗がん剤を用いたがんの治療に際して、精子幹細胞の DNA がダメージを受け、副作用として不妊症になることが知られています。これまで、DNA ダメージを受けた精子幹細胞がどのようにして細胞死を起こすのかは明らかになっていませんでした。今回の研究で私たちは、精子幹細胞における DNA ダメージは *Trp53(p53)-Trp53inp1-Tnfrsf10b(DR5)* 経路を活性化し、その細胞死を誘導することを明らかにしました。この経路は分化の進んだ精子前駆細胞で重要となる *Bbc3(Puma)* を介した細胞死の経路とは異なっており、今回の発見は幹細胞と分化決定された前駆細胞が異なった細胞死のメカニズムを利用することを示すものであります。また、この研究成果はがん治療の際に起こる精子幹細胞の欠損による不妊症の改善に応用できる可能性を示すものであります。

1. 背景

最近の抗がん剤治療では小児がんの 7 割以上の患者が 5 年以上生存し、このうちの約 3 割が不妊症となることが知られています。成人の場合は、精子保存法を用いて精子凍結を行うことが可能ですが、未成熟な小児の場合には精子を回収 することができないため、抗がん剤による不妊症は深刻な問題です。古くから精巣は DNA ダメージへの感受性が最も高い組織の一つであることは知られていました。特に精子形成の源となる精子幹細胞が障害を受けてしまうと、精子形成が起こらなくなり、不妊症となってしまいます。しかしながら、放射線を含む DNA ダメージがどのようにして精子幹細胞の細胞死を誘導するかは明らかになっていませんでした。通常組織では、「ゲノムの守護神」と呼ばれる *Trp53* 遺伝子が DNA ダメージの際の細胞死に関与するとされていますが、この分子は精子幹細胞の細胞死には影響しないと考えられていました。

2. 研究手法・成果

従来研究では形態学的な解析により精子幹細胞の有無を同定していました。しかしながら、私たちは、形態学的な手法では精子幹細胞への影響を正確に解析ができないと考えました。なぜならば、幹細胞活性は形態ではなく、機能的にしか解析できないからです。

そこで今回の研究で我々は、精子幹細胞移植法と培養精子幹細胞 (*germline stem (GS)* 細胞) を用いて解析を行いました。精子幹細胞移植法は不妊マウスの精巣に別個体の精巣細胞の移植を行い、そのコロニー形成能を解析するものです。また *GS* 細胞は私たちが 2003 年に樹立した細胞で、試験管内で大量に精子幹細胞を増幅することができます。

精子幹細胞移植法を用いて解析した結果、*Trp53* 遺伝子が欠損した精子幹細胞は放射線照射後も顕著に細胞死が抑制されていることが分かりました。*Trp53* 遺伝子がどのように細胞死を誘導するのかを調べるために、*GS* 細胞を用いて引き続き解析を行ったところ、*Trp53inp1* という *Trp53* 遺伝子の下流遺伝子が *Tnfrsf10b* 遺伝子の発現上昇を誘導することを見いだしました。さらに、放射線が照射されると *Tnfrsf10b*

に結合する *Tnfrsf10* が精巣の体細胞および生殖細胞に発現することで、*Tnfrsf10b* 遺伝子を発現している生殖細胞が細胞死を誘導していることが分かりました。一方、体細胞組織の幹細胞の細胞死で重要とされている *Bbc3* 遺伝子は分化決定された精子形成細胞の細胞死に働いており、精子幹細胞の生存には影響がないことが明らかになりました。最後に私たちは、これらの細胞死経路は放射線のみならず、シスプラチンなどの抗がん剤を加えた際にも同様に働いていることも確認しました。

本研究は京都大学放射線生物研究センターの高田穰教授との共同研究により遂行されました。

3. 波及効果

精子幹細胞の DNA ダメージに対する反応は様々に議論されて来ました。今回の研究成果は精子幹細胞の細胞死における *Trp53* の関与を明らかにしただけでなく、精子幹細胞と前駆細胞とでは *Trp53* の下流で細胞死に関与する分子が異なっていることを明らかにしました。また、この経路の分子を操作することで、抗がん剤治療による不妊の誘発を回避する方法を見出すことができる可能性があることを示唆しています。

4. 今後の予定

本研究成果は、2014年9月18日正午（米国東部時間）発行の科学誌「*Stem Cell Reports*」に掲載されます。

<用語解説>

Trp53inp1: 酸化ストレスをはじめとする細胞内ストレスを感知すると *Trp53* により発現が誘導される遺伝子。

Tnfrsf10b: 細胞外に放出される TRAIL というタンパク質の受容体であり、活性化することでアポトーシスを誘導する Death Receptor 5 (DR5) をコードする遺伝子。

Bbc3: 細胞内で *Trp53* の下流分子として発現し、アポトーシスを誘導するタンパク質 PUMA をコードする遺伝子。