

精子幹細胞の自己複製を促す新規遺伝子の発見

-男性不妊症の治療法開発・新規遺伝子改変動物作成への貢献に期待-

概要

京都大学大学院医学研究科の 篠原 隆司 教授らの研究グループは、精子幹細胞の自己複製を促す新しい遺伝子を発見しました。精子幹細胞は自己複製と分化を繰り返し、個体の生涯にわたり精子を作り続けます。脳下垂体から分泌される2つの性腺刺激ホルモン、卵胞刺激ホルモン (Follicle Stimulating Hormone (FSH)) と黄体形成ホルモン (Luteinizing Hormone (LH)) のうち、これまでは FSH が精子幹細胞の自己複製を促進すると考えられていました。しかし FSH 欠損モデルを用いた今回の研究において、FSH は精子幹細胞の自己複製に必要でなく、逆に LH 欠損モデルでは精子幹細胞の増殖能力が亢進されるが明らかになりました。LH 欠損モデルの精巣遺伝子発現の解析の結果、WNT5A 遺伝子が精子幹細胞の自己複製を促すことを発見しました。この研究成果は男性不妊の原因の理解やその治療法の開発に役立つとともに、遺伝病の発症機序の理解にも貢献すると期待されます。

今回この成果が、米国科学誌「Stem Cell Reports」誌に掲載されることになりました。研究成果の詳細については、次のとおりです。

1. 背景

哺乳類の精子形成は視床下部、下垂体そして精巣の3つの臓器により制御されています。これら臓器のフィードバック経路は古くから知られていましたが、この過程を調節するホルモンが精子幹細胞にどのような影響を与えるかは未だ明らかではありませんでした。これまでに、下垂体ホルモン FSH 受容体ノックアウトマウスおよび下垂体ホルモン LH により分泌が調節される Androgen 受容体の欠損マウスでは精原細胞の数が減少することや、一方で FSH がセルトリ細胞の精子幹細胞の自己複製因子である Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) 発現を上昇させることなどが報告されていました。これらの結果に基づき、下垂体ホルモンはセルトリ細胞の GDNF 発現を上昇させて精子幹細胞の自己複製分裂を促進すると一般に考えられていました。

しかしながら、私たちのグループではこの定説とは異なった見解を持っていました。なぜならば、精子幹細胞は精巣細胞のうち 0.02-0.03%の割合でしか存在せず、その解析は非常に困難であるからです。精子幹細胞は特別な微小環境(ニッチェ)において自己複製を行うと考えられていますが、その数は非常に少なく、同定することは不可能であるからです。そこで今回の研究では精子幹細胞を直接同定できる移植アッセイ法を用い、これらのノックアウトマウスにおける精子幹細胞の状態を解析しました。

2. 研究手法・成果

下垂体ホルモン FSH および LH が精子幹細胞の自己複製に及ぼす影響を解析するため、本研究では FSH および LH 受容体の欠損モデルマウスを用いました。また精子幹細胞機能を調べる上で唯一の機能的アッセイである精子幹細胞移植法により、精子幹細胞機能を定量的に評価しました。

まず、FSH または LH 受容体欠損マウスがもつ精巣細胞をそれぞれ移植のドナーとして、野生型精巣をホストとする移植実験を行い、それぞれのモデルマウスの精子幹細胞機能を調べました。すると FSH ノックアウトマウスには特に異常が見られませんでした。LH 受容体欠損マウスでは幹細胞の濃度が上昇

していました。

次に、精子幹細胞制御を担うニッシュの状態を調べるために、FSH および LH 受容体の欠損マウス精巣を宿主とし、これらのマウスに野生型精巣細胞をドナーとする移植実験を行いました。この実験においても、FSH 欠損マウスの精子幹細胞ニッシュ機能は正常であることが示されました。これに対して、LH 受容体欠損マウス精巣内では精子幹細胞の移植効率が良くなり、さらに精巣内で精子幹細胞増殖能も高くなる結果が得られました。つまり、LH 受容体の欠損により精子幹細胞ニッシュ機能が亢進することが示されました。したがって、FSH はニッシュ機能には関与せず、LH は精子幹細胞ニッシュ機能を負に制御するということが明らかになりました。

そこで LH 受容体欠損マウスの精巣細胞を回収し、その遺伝子解析を行うことでどのようにして幹細胞の自己複製が促進されているかと調べました。LH 欠損マウス精巣で発現が変化している遺伝子をマイクロアレイ解析により網羅的に探索した結果、486 遺伝子の発現が変化していることを見出しました。これらの中で LH 欠損により発現が上昇し、また分泌因子である 4 遺伝子を候補遺伝子として、さらに精子幹細胞の自己複製を促進させるかどうかを調べたところ、WNT5A という遺伝子は試験管内で精子幹細胞の自己複製を促すことを発見しました。さらに WNT5A を精巣内に導入しても精子幹細胞の自己複製能が高くなることが示されました。したがって本研究により、LH シグナルの欠損により WNT5A の発現が上昇することで精子幹細胞ニッシュ機能が促進される仕組みが明らかになりました。

本研究は Zhenmin Lei ルイビル医科大学教授、C. V. Rao フロリダ国際大学教授らとの共同研究により行われました。

3. 波及効果

今回の研究により、FSH が GDNF を制御して精子幹細胞の自己複製を促進するという定説とは異なる仕組みが明らかになりました。すなわち、FSH は精子幹細胞機能には関与せず、LH は精子幹細胞ニッシュ機能を負に制御するという私たちのグループは明らかにしました。さらにこの知見を元にした遺伝子探索により、WNT5A 遺伝子が試験管内および生体内において精子幹細胞の自己複製を促進することを発見しました。精子幹細胞の培養技術はマウス、ラット、ハムスターに限られておりその他の生物からはまだ成功していません。WNT5A 遺伝子はヒトを含めた多くの動物種の精子幹細胞の培養に役立つ可能性があります。そのような技術はヒト男性不妊治療の開発や遺伝子改変動物作出技術の開発に貢献すると期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省新学術領域「生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御」の支援により行われました。

<論文タイトルと著者>

“The luteinizing hormone-testosterone pathway regulates mouse spermatogonial stem cell self-renewal by suppressing Wnt5a expression in Sertoli cells” Tanaka Takashi, Mito Kanatsu-Shinohara, Zhenmin Lei, C. V. Rao, and Takashi Shinohara.

<用語解説>

マイクロアレイ解析：多数の遺伝子の発現量を同時に解析するため、プラスチックやガラス等の基盤上に多数の DNA 断片を高密度に配置した分析機器を使用する解析方法。

分泌因子：細胞間のシグナル伝達を担うタンパク質等の分子。