

酸素による活性酸素制御が精子形成に果たす役割を解明

—活性酸素制御の破綻が男性不妊を引き起こす—

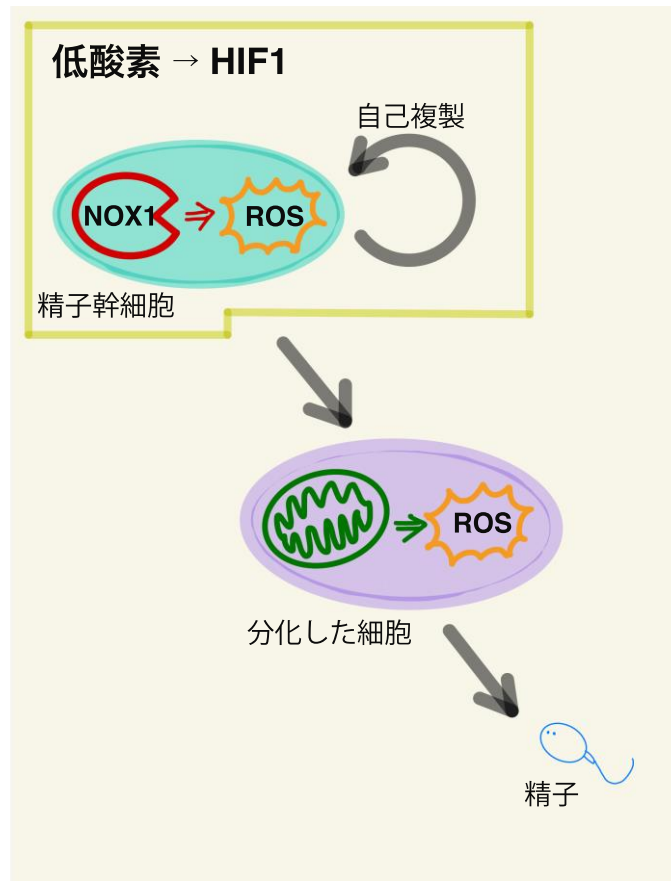
概要

京都大学大学院医学研究科の篠原隆司教授らのグループは、酸素による活性酸素の制御が精子形成の維持に重要な役割を果たすことをモデルマウスによる実験で発見しました。

活性酸素は細胞が正常な代謝を行う過程で生じるものです。活性酸素は生体内のシグナル伝達に必要である一方で、細胞に害を与えるものでもあります。細胞の中にはミトコンドリアという細胞内小器官があり、ここから大量の活性酸素が発生します。実は活性酸素はミトコンドリア以外にも NADPH オキシダーゼ^{注1} という酵素からも産生されており、この両者が主に細胞内の活性酸素量を決めています。

従来、活性酸素は生殖細胞に対して悪影響を与えると言われていましたが、今回の私たちの実験により、酸素が NADPH オキシダーゼとミトコンドリア 由来の活性酸素のバランスを制御し、両者が精子形成の過程でうまく使い分けられることが正常な精子形成に必要であることが分かりました。

本研究成果は、2021年1月14日に国際学術誌「Genes and Development」のオンライン速報版で公開されました。



1. 背景

精子幹細胞は毎日膨大な数の精子を作り続けます。精子幹細胞は一生に渡り分裂し続けますが、そのメカニズムはあまり分かっていません。私たちのグループでは 2013 年にこの細胞の分裂に関わる分子として Nox1 という活性酸素を生じる NADPH オキシダーゼ酵素が重要な役割を果たしていることを報告しました。この実験では Nox1 を欠損した精子幹細胞は正常な細胞に比べて分裂速度が低下していることから、Nox1 が産生する活性酸素が精子幹細胞の分裂に必要であることが示されました。一般的に活性酸素は精子形成に悪いと考えられているため、私たちの結果は予想外のものでした。今回私たちは、その作用機序を明らかにするために Nox1 欠損マウスから精子幹細胞を培養する実験を行いました。

2. 研究手法・成果

Nox1 を欠損した精子幹細胞を試験管内で培養したところ、野生型細胞と変わらず増殖することが分かりました。この結果はこれまでの私たちのマウス生体内での観察結果と矛盾していたため、この違いを生む原因を調べるために様々な培養条件を検討しました。その結果、生体内の酸素濃度に近い 1%の酸素濃度で Nox1 欠損細胞を培養した時のみ、幹細胞の自己複製能が更に低下することを見出しました。Hif1a^{注2} 欠損マウスの解析から、この低酸素における増殖抑制効果は、低酸素時のみに働く HIF1A という転写因子が、MYC という別の転写因子を介して、CDKNA1 という細胞分裂のブレーキ分子用いて細胞分裂を抑制していることが分かりました。

ところが、Nox1 を欠損した細胞は、活性酸素を生じる酵素である Nox1 を欠損しているにも関わらず、細胞内の活性酸素の量はさらに増えていました。そこで、活性酸素を大量に産生するもう一つの源であるミトコンドリアを調べると、低酸素ではミトコンドリアが増えていることが分かりました。更にミトコンドリアが精子幹細胞に与える影響を調べるため、ミトコンドリア特異的な遺伝子修復酵素である Top1mt^{注3} を欠損するマウスを解析しました。このマウスではミトコンドリアに DNA 突然変異が集積するため、ミトコンドリアの機能が細胞分裂と共に悪化します。Top1mt 欠損マウスは、若い時には正常に子孫を作ることができましたが、加齢と共に精子形成が減弱して不妊症になることが分かりました。また、それにも関わらずこのマウスの精子幹細胞は正常に分裂していました。これらのことから、精子幹細胞では酸素が活性酸素の産生を制御し、1) NADPH オキシダーゼ Nox1 由来の活性酸素が幹細胞の自己複製分裂に重要な役割を果たすこと、2) 精子形成の分化段階が進むと今度はミトコンドリアがより大きな役割を果たし、正常なミトコンドリア機能が精子形成に必要であることが明らかになりました。

3. 波及効果、今後の予定

- ・ 従来は活性酸素が精子形成に悪影響を与えると考えられていましたが、酸素が幹細胞において活性酸素の産生を制御することが初めて分かりました。
- ・ ミトコンドリアがないと分化した精子形成細胞が消失することを明らかにしました。
- ・ Top1mt 欠損マウスで見られたように若い時には正常に子孫を作ることが出来ても、加齢と共に精子形成が減弱して不妊になることがあります。ミトコンドリアの機能不全がそのようなケースの原因となっている可能性があります。
- ・ 今後は異なる起源の活性酸素が精子形成の過程でどのように使い分けられているかを明らかにして行きたいと思っています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究の遂行にあたり、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED-CREST）および、文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究、基盤研究 S による支援を受けました。

<研究者のコメント>

酸素が活性酸素量の産生に関わることが分かり、自己複製分裂が緻密に制御されているのに驚きました。我々の研究成果が不妊治療に役立つと嬉しいです。

<語句説明>

- 注1) **NADHP オキシダーゼ**：電子運搬体である NADPH から電子を受け取り、酸素分子を一電子分還元することでスーパーオキシドアニオンラジカルを産生する。複数のファミリー分子のうちに Nox1 が含まれる。
- 注2) **HIF1A**：細胞が低酸素になった時に活性化される転写因子として 1995 年に発見された。2019 年にこの遺伝子の発見でノーベル生理学賞が授与された。
- 注3) **Top1mt**：ミトコンドリアに局在する酵素で DNA 切断し再結合する能力をもつ。ミトコンドリアの分裂やミトコンドリアにある遺伝子が発現する際に DNA のねじれをほぐす役割を持つ。

<論文タイトルと著者>

タイトル：“ An interplay of NOX1-derived ROS and oxygen determines the spermatogonial stem cell self-renewal efficiency under hypoxia” (Nox1 由来の活性酸素と酸素の相互作用が低酸素環境における精子幹細胞の自己複製効率を決定する)

著者：Hiroko Morimoto, Takuya Yamamoto, Takehiro Miyazaki, Narumi Ogonuki, Atsuo Ogura, Takashi Tanaka, Mito Kanatsu-Shinohara, Chihiro Yabe-Nishimura, Hongliang Zhang, Yves Pommier, Andreas Trumpp, and Takashi Shinohara

- ・ 森本裕子、田中敬、宮崎岳大、篠原美都、篠原隆司：京都大学大学院医学研究科 遺伝医学講座 分子遺伝学分野
- ・ 山本拓也：京都大学 iPS 細胞研究所
- ・ 矢部千尋：京都府立医科大学病態分子薬理学教室
- ・ 越後貫成美、小倉淳郎：理化学研究所バイオリソース研究センター遺伝工学基盤技術室
- ・ Hongliang Zhang, Yves Pommier: 米国国立国立がん研究所
- ・ Andreas Trumpp: 独ハイデルベルグ幹細胞実験医学研究所

掲載誌：ジーンズアンドデベロップメント「*Genes and Development*」

DOI: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.339903.120>