

米国科学誌「Genes & Development」誌掲載
Myc/Mycn 遺伝子を介した解糖系による精子幹細胞の自己複製の促進

-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

精子幹細胞は精巣にある未分化な生殖細胞である精原細胞の一部の細胞で、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。この細胞が自己複製分裂を持続的に行うことで個体の精子形成が一生にわたり継続します。私たちは今回 Myc とそのファミリー分子である Mycn 遺伝子を同時に破壊することで、これらの遺伝子による精子幹細胞の糖代謝バランスの維持が自己複製分裂の制御に重要な役割を果たすことを見出しました。また解糖系を刺激する小分子化合物 PS48 を用いることで、これまで精子幹細胞の長期培養ができなかったマウスから、長期培養を誘導することに成功しました。これは培養が困難である組織幹細胞の樹立を解糖系の刺激により克服した最初の例です。私たちの研究成果は新規の生殖工学技術の開発に加えて、男性不妊の原因の理解やその治療法の開発に貢献すると期待されます。

1. 背景

精子幹細胞は生殖細胞の中で唯一自己複製能力を持ち、個体の精子形成の源となります。精子幹細胞は精巣の中でわずか 0.02-0.03%と、その数が非常に少ないことに加え、この細胞に特異的なマーカーとなる分子が存在しないため、その解析は極めて困難です。私たちのグループは 2003 年に精子幹細胞の長期培養に成功し、これを Germline Stem (GS) 細胞と名付けました。GS 細胞は試験管内では幹細胞として長期間にわたって増殖しますが、不妊個体の精巣に移植すると精子形成を再開して精子を作ることができます。GS 細胞の培養技術により少数の精子幹細胞を大量に増やすことが可能になり、精子幹細胞を用いた遺伝子改変個体の作成や、新たな不妊治療などへの可能性が拓けました。しかし GS 細胞の樹立には動物個体の遺伝的背景が大きく影響し、マウスでも GS 細胞が樹立できる系統は限られており、その原因も明らかになっていませんでした。

Myc/Mycn 遺伝子はがん遺伝子として有名な転写因子です。Myc/Mycn 遺伝子は遺伝子を活性化するのみならず抑制する能力も持つ点で、数多くある遺伝子の中でもユニークなものとして知られています。例えば、Myc 遺伝子を強制発現すると細胞死を誘導する一方で、その強い増殖刺激によりがんを引き起こします。また Myc 遺伝子は山中因子の一つとして iPS 細胞の作成にも使われることもあります。さらに最近の研究では、Myc 遺伝子が組織幹細胞でも重要な役割をもつことが分かってきました。例えば、血液幹細胞では Myc を欠損すると細胞分化ができなくなり、血液幹細胞が骨髄に異常蓄積します。神経幹細胞では Myc の欠損により細胞の移動と自己複製分裂が遅延します。精子幹細胞とよく似た遺伝子発現をもつ ES 細胞では、Myc/Mycn 両遺伝子が欠損すると自己複製分裂が完全にストップしてしまいます。興味深いことに、ES 細胞においては Myc の発現を部分的に抑制すると ES 細胞から精子形成の途中の減数分裂期の細胞が生じます。このように Myc/Mycn 遺伝子は細胞により大きく異なった機能を持ちますが、これまで精子形成における Myc/Mycn 遺伝子の機能は知られていませんでした。

2. 研究手法・成果

私たちは今回 Myc 遺伝子の欠損が精子幹細胞にどのような影響を及ぼすかを調べました。まず Myc もしくは Myc のファミリー分子である Mycn 遺伝子のみが欠損したマウスを作成しましたが、精子形成に大きな変化がありませんでした。そこで、Myc と Mycn 遺伝子の両方を同時に欠損させたマウスを作成したところ、Myc/Mycn 欠損マウスの精子幹細胞は自己複製分裂が極めて遅くなることが分かりました。ES 細胞では Myc 機能の抑制が精子形成細胞への分化を促進するという報告がありましたが、私たちの Myc/Mycn 欠損マウスでは精子形成が途中でストップし、減数分裂を超えた分化細胞を同定することができませんでした。このことから、Myc/Mycn は 1)精子幹細胞の自己複製分裂と 2)精子への分化の二つのステップに必要であることが分かりました。さらに Myc/Mycn 欠損マウスの精子幹細胞の自己複製分裂のメカニズムを詳細に解析したところ、Myc/Mycn 欠損は細胞のエネルギー代謝の中心となる「解糖系」という糖代謝の異常を引き起こすことが分かりました。

解糖系は細胞がグルコースを代謝する代謝経路で、最終産物としてピルビン酸や乳酸を生成します。この過程で細胞のエネルギーとなる ATP が生じ、細胞が増殖するエネルギーが供給されます。これまで解糖系が精子形成に及ぼす役割は知られていませんでしたが、私たちは Myc を欠損した GS 細胞では Akt というセリントレオニンリン酸化酵素の活性が弱まることで解糖系の酵素であるピルビン酸デヒドロゲナーゼの機能低下がおこり、その結果生じた解糖系の活性低下が自己複製能力の低下を起こすことを突き止めました。

GS 細胞は同じマウスでも遺伝的背景によって樹立できる効率が大きく異なり、その原因は不明でした。今回私たちは、Myc/Mycn 欠損 GS 細胞では解糖系の異常から自己複製分裂が著しく抑制されることにヒントを得て、Akt を介した Myc/Mycn の機能制御が GS 細胞の樹立の可否に関与していると仮説を立てました。この仮説を試すために、GS 細胞が樹立できるマウス系統 (DBA/2) と樹立が困難な系統 (C57BL/6) の未分化な精原細胞を比較したところ、DBA/2 の系統では解糖系が活発であるのに対して、C57BL/6 では解糖系の機能が低下していることを見いだしました。さらに C57BL/6 の精原細胞を用いて解糖系を刺激する小分子化合物をスクリーニングしたところ、PS48 の添加によりこれまで樹立困難であった C57BL/6 系統からも GS 細胞を樹立できるようになりました。PS48 は Akt 分子をリン酸化することができる Pdk1 というリン酸化酵素を活性化する分子として知られています。予想通り、PS48 という分子は解糖系を促進するのみならず、Myc/Mycn の発現も亢進させることが分かりました。これらの結果は解糖系を刺激することで組織幹細胞の自己複製分裂を試験管内で促進できた最初の例となります。

3. 波及効果

このように Myc/Mycn を介した解糖系の制御は精子幹細胞の自己複製に非常に重要な役割を果たしています。この経路を操作することで、より幅広い動物種から GS 細胞の樹立や新規の生殖工学技術の開発の可能性が拓けてきました。また臨床的にも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も役立つと考えられます。

また組織幹細胞の培養は一般に困難ですが、GS 細胞と同様に解糖系を刺激することで、これまで培養することができなかった他の組織幹細胞の培養系の確立にも貢献する可能性があります。

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」「ステムセルエイジングから解明する疾患原理」の支援により行われました。

<論文タイトルと著者>

タイトル：“Myc/Mycn-mediated glycolysis enhances mouse spermatogonial stem cell self-renewal”

著者：Mito Kanatsu-Shinohara, Takashi Tanaka, Narumi Ogonuki, Atsuo Ogura, Hiroko Morimoto,
Pei Feng Cheng, Robert N. Eisenman, Andreas Trumpp, Takashi Shinohara.

掲載誌：*Genes and Development*