

精子幹細胞の分化にブレーキをかける仕組み：

単一細胞 RNA シークエンシング技術を使って、新しい精子幹細胞因子を同定

発表者：

牧野 吉倫（東京大学定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野 助教）

岡田 由紀（東京大学定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野 准教授）

雑誌名：「Scientific Reports」

日本時間 2019 年 4 月 15 日（月）午後 6 時（英国時間：15 日（月）午前 10 時）

DOI 番号：10.1038/s41598-019-42578-z

発表概要：

ヒトに限らず多くの動物種のオスでは、精子幹細胞から精子が産生されています。精子幹細胞は自己増殖を繰り返しながら、同時に一部の幹細胞が精子へと分化することが知られており、この機構は持続的な精子の産生に欠かせません。マウスの精子幹細胞は、生後数日以内に出現することが分かっていますが、その出現過程のメカニズムには未だ不明な点が多く残されています。

今回、東京大学定量生命科学研究所の牧野吉倫 助教、岡田由紀 准教授の研究チームは、個々の細胞の遺伝子発現を網羅的に解析する手法（単一細胞 RNA シークエンシング法）を用いて、精子幹細胞の成立に関与する *Dec2* 遺伝子を見つけました。*Dec2* 遺伝子から産生される DEC2 タンパク質は、概日時計の制御や、神経・筋組織の幹細胞の維持に関係することが、これまでに明らかにされています。精子幹細胞では、*Sohlh1* 遺伝子が精子幹細胞の分化に中心的な役割を果たしていますが、DEC2 タンパク質は、この *Sohlh1* 遺伝子の発現を抑制し、精子幹細胞が不適切に分化してしまわないようブレーキを掛ける役割を担っていることが分かりました。

本研究によって明らかにされた精子幹細胞の維持メカニズムは、近年、注目を集める生殖補助医療のより一層の発展に寄与することが期待されます。

発表内容：

ヒトに限らず多くの動物種のオスでは、精子幹細胞から精子が産生されています（図 1）。神経幹細胞など他の組織幹細胞と同様に、精子幹細胞は自己増殖を繰り返しながら、同時に一部の細胞が精子へと分化^{注1}しています。この性質によってオス個体は精子幹細胞を失わず、持続的に精子を作り出すことができます。生殖期間を通じて新しい精子が産生され続けることは、種の保存・繁栄にとって重要であると考えられます。この観点から、精子幹細胞が自らの性質を失わずに増殖するメカニズムの研究が行われてきました。

マウスの精子幹細胞は、生後数日以内に出現することが分かっていますが、その出現過程のメカニズムには

未だ不明な点が多く残されています。メカニズムの解明を阻む理由のひとつは、この生後数日以内の精巣内に、様々な分化過程の生殖細胞が混在していることです(図2)。一般的な方法では、これらの混在する細胞をひとまとめにして解析することしかできず、個々の細胞の状態や性質を正確に捉えることは困難でした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の牧野吉倫 助教、岡田由紀 准教授の研究チームは、個々の細胞の遺伝子発現を網羅的に解析する手法(単一細胞 RNA シークエンシング法^{注2})を用いて、それぞれの細胞の性質を個別に明らかにしました(図2)。調べた数千個の遺伝子のうち、特徴的な発現分布を示す遺伝子群を抜きだしてさらに解析した結果、精子幹細胞の成立・維持に関与すると考えられる候補として *Dec2* 遺伝子を見つけました(図2)。*Dec2* 遺伝子はこれまでに、概日時計の制御や、神経・筋組織の幹細胞の維持に関係することが明らかにされていますが、精巣における *Dec2* 遺伝子の機能は知られていませんでした。

そこで今回の研究では、*Dec2* 遺伝子を欠損させたマウスの精巣を調べ、実際に精子幹細胞の数が減少していることを確認しました。また精子幹細胞の分化には、*Sohlh1* 遺伝子が中心的な役割を果たしていますが、*Dec2* 遺伝子から産生される DEC2 タンパク質は、*Sohlh1* 遺伝子のプロモーター^{注3}に競合的に結合し、*Sohlh1* 遺伝子の発現を抑制する転写抑制因子であることを見出しました(図2)。

従来、*Sohlh1* 遺伝子から産生される SOHLH1 タンパク質は、精子幹細胞が分化するのに必要な遺伝子の発現を促すことが知られています。さらにこの SOHLH1 タンパク質は、自分自身の転写も活性化します(図2)。すなわちこの自己活性化のループにより、*Sohlh1* 遺伝子はいちど発現を開始すると自動的に転写量が増大していき、精子幹細胞を分化に向かわせることが分かっていました。今回の研究によって、精子幹細胞が自己複製を行う際には、DEC2 タンパク質が *Sohlh1* 遺伝子の自己活性化ループを抑制し、精子幹細胞が不適切に分化しないようにブレーキを掛ける機能を担っていることが明らかになりました。

本研究によって明らかにされた精子幹細胞の維持メカニズムは、近年、注目を集める生殖補助医療のより一層の発展に寄与すると期待されます。

発表雑誌：

雑誌名：*Scientific Reports*

論文タイトル：Single cell RNA-sequencing identified *Dec2* as a suppressive factor for spermatogonial differentiation by inhibiting *Sohlh1* expression

著者：Yoshinori Makino, Niels H. Jensen, Naoko Yokota, Moritz J. Rossner, Haruhiko Akiyama, Katsuhiko Shirahige, and Yuki Okada* (*責任著者)

問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野

准教授 岡田 由紀 (おかだ ゆき)

用語解説：

注 1 「(細胞) 分化)」

細胞が性質を変える現象の一つ。幹細胞のように特定の性質を持たない細胞から、ある機能に特化した細胞に変化する過程のこと。精子幹細胞から精子が産生される過程も分化の一つ。

注 2「単一細胞 RNA シークエンシング法」

一つの細胞から抽出した RNA を増幅し、次世代シーケンサーで RNA の種類を網羅的に決定する実験技術。個々の細胞にどのような RNA が含まれているか、どのような遺伝子が発現しているかを調べられる。

注 3「プロモーター」

遺伝子の使用、不使用を決定する DNA 配列のこと。遺伝子の近傍（上流）に存在し、転写複合体がプロモーター配列に結合すると転写が開始され、遺伝子が発現する。転写因子や転写抑制因子は、転写複合体のプロモーター配列への結合を制御し、遺伝子発現の有無を調節している。

添付資料：

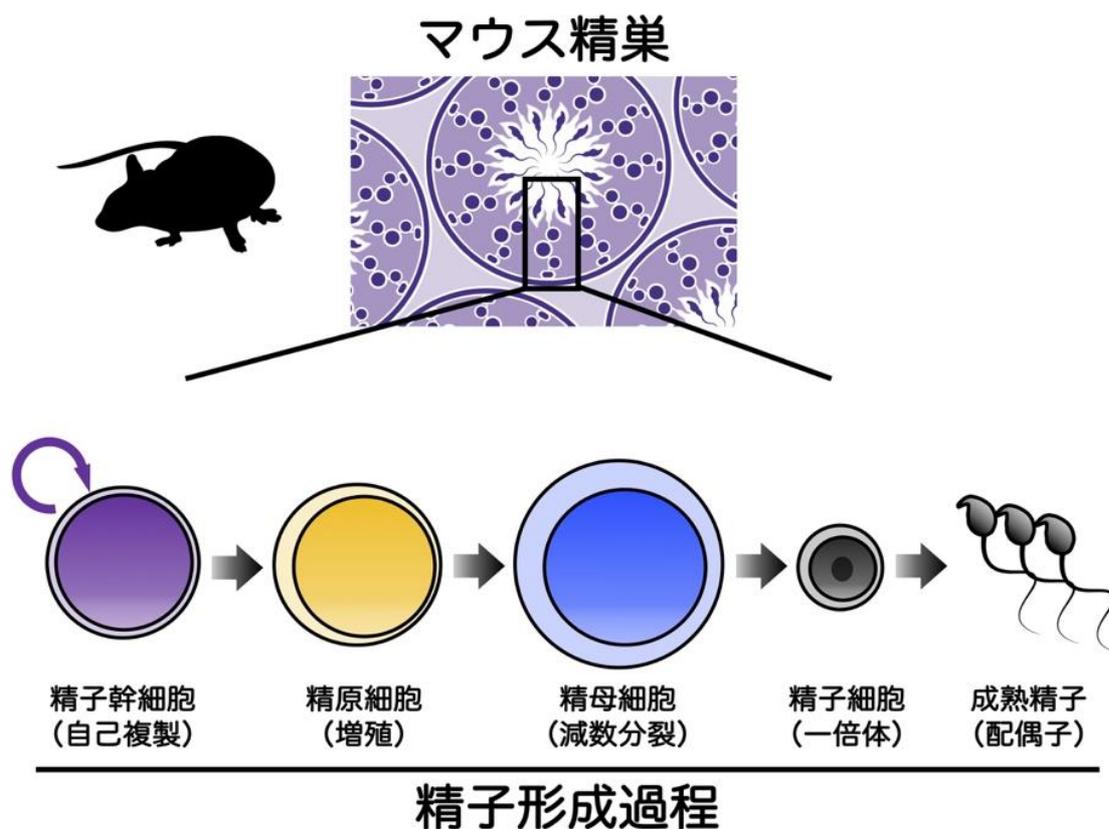


図1 マウス精子形成過程

精巣内部に規則正しく収納された精細管内で、精子形成の全過程が進行する。精子幹細胞から減数分裂を経て、一倍体の配偶子である成熟精子が産生される。生殖細胞は、分化するたびに精細管の中心へ移動し、精子が管腔に放出される。放出された精子は、精巣上体に貯蔵される。

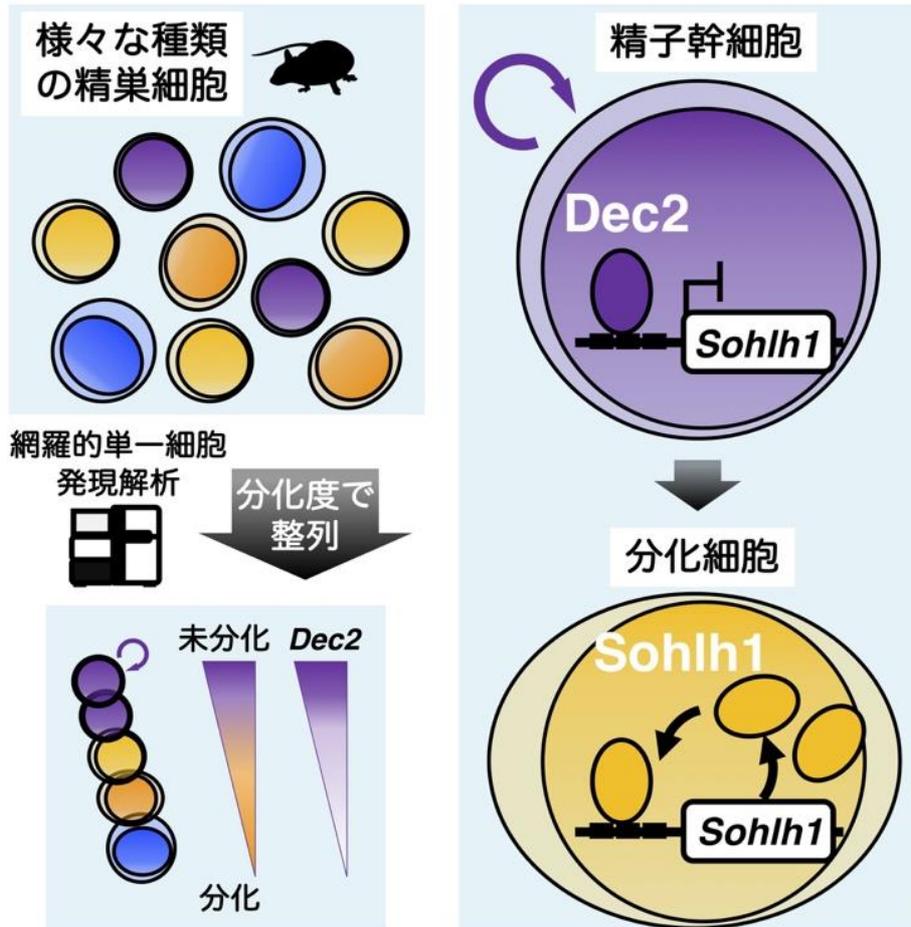


図2 単一細胞 RNA シークエンシング法による生殖細胞の性質の解析と *Dec2* 遺伝子による精子幹細胞の維持メカニズム

遺伝子発現パターンによって、個々の生殖細胞の分化度を予想。精子幹細胞に高い発現を示す遺伝子群を明らかにした。その中の一つである *Dec2* 遺伝子は、*Sohlh1* 遺伝子を抑制することにより、精子幹細胞の維持に寄与していた。