

## 課題番号 2

## マウス胎生期における雄性生殖細胞のエピゲノム制御機構

## [1] 組織

代表者：立花 誠  
(徳島大学疾患酵素学研究センター)  
 対応者：松居 靖久  
(東北大学加齢医学研究所)  
 分担者：黒木 俊介  
(徳島大学疾患酵素学研究センター)  
 岡下 修己  
(徳島大学疾患酵素学研究センター)

研究費：物件費 30 万円

## [2] 研究経過

ヒストン修飾やゲノム DNA のメチル化によるクロマチンのエピジェネティック修飾は、様々な生命現象に密接に関わる。ヒストン H3 の 9 番目のリジン残基(H3K9) のメチル化は転写抑制に働くエピジェネティックマークであり、それに関わる分子群は分裂酵母からヒトに至るまで高度に保存されている。

生殖細胞の出現から配偶子形成に至る過程では、多彩なクロマチン修飾酵素によって時期・細胞特異的エピゲノムの編成がおこなわれる。なかでも、雄の胎生期の生殖細胞や未分化精原細胞では H3K9 のメチル化レベルが体細胞に比べて低いことがこれまでの我々の研究によって明らかになっている。しかし生殖細胞に特異的な H3K9 の低メチル化が、どのような生理的意義を有しているかについては明らかになっていない。本申請課題では、H3K9 の脱メチル化が生殖細胞の分化と機能をどのように調節しているかについて、細胞・分子レベルで明らかにすることを目的として研究を進めた。以下、研究活動状況の概要を示す。

H3K9 の脱メチル化酵素である Jmjd1a ファミリー分子の機能に注目した。Jmjd1a のホモログの 1 つである Jmjd1b には H3K9 脱メチル化酵素活性があることを我々は見いだしている (Kuroki et al., *Biology of Reproduction*. 2013)。生殖細胞特異的に Jmjd1a と Jmjd1b 双方の遺伝子が欠損するマウス (Jmjd1a/b-cKO マウス、図 1 参照) を作製し、その表現型の解析を行なった。さらに、Jmjd1a/b の生殖細胞における発現解析を行なった。


【Genotype】	【Genotype of germ cells】
	Jmjd1a / Jmjd1b
<i>Jmjd1a<sup>flx/+</sup>; Jmjd1b<sup>flx/+</sup></i>	Het / Het
<i>Jmjd1a<sup>flx/lox</sup>; Jmjd1b<sup>+/+</sup></i>	KO / Wt
Vasa-Cre <sup>+</sup> ; <i>Jmjd1a<sup>+/+</sup>; Jmjd1b<sup>flx/lox</sup></i>	Wt / KO
 <i>Jmjd1a<sup>flx/lox</sup>; Jmjd1b<sup>flx/+</sup></i>	KO / Het
<i>Jmjd1a<sup>flx/+</sup>; Jmjd1b<sup>flx/lox</sup></i>	Het / KO
<i>Jmjd1a<sup>flx/lox</sup>; Jmjd1b<sup>flx/lox</sup></i>	KO / KO

図 1. 解析に用いたマウスの系統。生殖細胞特異的遺伝子欠損マウスを作成するために、*Jmjd1a<sup>flx</sup>*、*Jmjd1b<sup>flx</sup>*、*Vasa-Cre* マウスを交配し、上記の遺伝子型マウスを作製した。

対応者である東北大学加齢医学研究所の松居靖久教授とは、第 10 回附置研ネットワーク国際シンポジウム (2015 年 7 月、札幌市)、第 37 回日本分子生物学会年会 (2015 年 12 月、神戸市) の際、共同研究の進め方についてディスカッションを行なった。また、定期的にメールで打ち合わせを行なった。

## [3] 成果

## (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

雄性生殖細胞の分化には、*Jmjd1a/b* が必須の役割を有することが分かった。図 2 に示すように、*Jmjd1a/b* の遺伝子量と雄性生殖細胞の分化過程には密接な相関があることが分かった。*Jmjd1a-KO; Jmjd1b-WT* では精子の伸長過程に異常が観察されるが、*Jmjd1a-KO; Jmjd1b-Het* では第一減数分裂での異常が観察された。また、*Jmjd1a-WT; Jmjd1b-KO* では雄性生殖細胞の分化は正常であったのに対し、*Jmjd1a-Het; Jmjd1b-KO* では精子の減少が観察された。以上のことにより、以下の 2 点が明らかになった。

- ・雄性生殖細胞の分化において、*Jmjd1a* と *Jmjd1b* の機能が重複している。
- ・*Jmjd1b* 欠損に比べ、*Jmjd1a* 欠損の表現型の方がよりシビアな表現型となることから、*Jmjd1b* より *Jmjd1a* が優位に機能している。

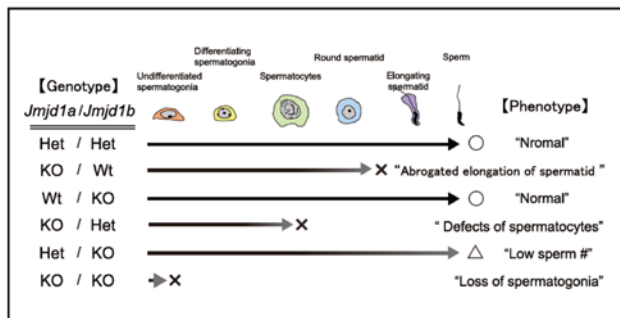


図 2. Jmjd1a/b を欠損したマウス生殖細胞の表現型のみまとめ。Jmjd1a 単独のホモ欠損に比べ、Jmjd1a ホモ欠損、Jmjd1b ヘテロ欠損の表現型はよりシビアになる。同様に、Jmjd1b 単独のホモ欠損に比べ、Jmjd1b ホモ欠損、Jmjd1a ヘテロ欠損の表現型はよりシビアになることが分かった。また 4 アリル全て欠損したマウスが、最も重篤な表現型を示した。

雄性生殖細胞を純化し、Jmjd1a と Jmjd1b の mRNA 発現プロファイルの解析を行なった。図 3 に示したように、Jmjd1a と Jmjd1b は生殖細胞で高い発現を示し、且つそれは時期特異的であった。

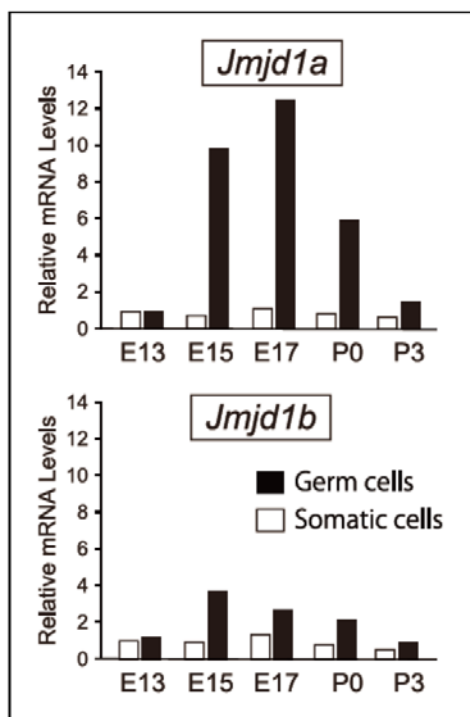


図 3. 胎仔あるいは新生仔のマウスから雄性生殖細胞を純化し、定量的 RT-PCR によって Jmjd1a/b の mRNA の発現解析を行なった。これまでは Jmjd1a/b の発現はパキテン期の雄性生殖細胞に限られると考えられていたが、胎生後期の生殖細胞でも発現のピークがあることが明らかになった。

### (3-2) 波及効果と発展性など

高齢化社会を迎えている日本の将来において、生殖医療のニーズはより高くなると予測される。本研究をさらに発展させることで、配偶子形成に必要なエピゲノム構造とその構築因子について明らかになることが期待される。これにより、生殖細胞エピゲノムを人為的に改変することが可能になるかも知れない。

本研究の成果は、H3K9 の脱メチル化が、従来報告されていた精子形成の伸長反応のみならず、減数分裂の進行や未分化精原細胞の維持にも必須の役割を有することを強く示唆している。生殖細胞の H3K9 のメチル化レベルを人為的に改変することで、減数分裂、精子形成過程を試験管内で再現することが可能になるかも知れない。

加えて、東北大学加齢医学研究所・松居靖久研究室における始原生殖細胞のエピゲノム制御に関する知見を合わせ、将来的には胚性幹細胞から精子形成までの全過程を試験管内で再現することが可能になるかも知れない。

### [4] 成果資料

H3K9 脱メチル化酵素 Jmjd1a と Jmjd1b による雄性生殖細胞の発生制御

黒木俊介、立花誠

第 38 回日本分子生物学会年会 ポスター 1P0901

2015 年 12 月 1 日 (神戸市)