



生殖細胞形成における DNA メチル化の変化とその調節因子を解明 -不妊の原因解明、治療法開発への応用に期待-

私たちの体は精子と卵子が融合してできる一つの受精卵に由来します。この精子や卵子の元となる生殖細胞が形成される過程では、遺伝子の働きを調節する DNA メチル化という化学修飾（細胞が備え持つ修飾の一つ）が大きく変化します。誕生したばかりの生殖細胞は体の中にごく僅かしか存在しないため、その詳細な研究はこれまで困難でした。2011年、京都大学大学院医学研究科の斎藤通紀教授、林克彦准教授（現九州大学医学研究院教授）らが様々な細胞に分化する能力を持つマウス多能性幹細胞から、培養皿の中で生殖細胞を作り出し、この細胞を体の中に移植することで精子や卵子を作製できることを示しました。しかし、これらの細胞の特性解明が喫緊の課題でした。今回、九州大学生体防御医学研究所の佐々木裕之主幹教授・副学長、医学系学府医学専攻博士課程4年白根健次郎の研究グループは斎藤教授、林教授らと共同で、生体外で多能性幹細胞から人工的に生殖細胞を作成する際の DNA メチル化の変化が、体の中で生殖細胞が形成される過程の変化をよく再現することを示し、またその細胞を用いて、メチル化変化のメカニズムと調節因子の一端を解明することに成功しました。本研究で得られたデータは今後、ヒトの生殖細胞発生メカニズムの研究やその破綻による不妊の原因解明、治療法開発の基盤になることが期待されます。

本研究成果は2016年9月15日（木）正午（米国東部標準時間）に、国際雑誌『Developmental Cell』にオンライン掲載されました。

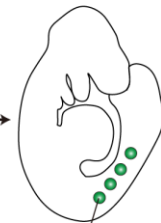
研究者からひとこと:人工的に誘導できる生殖細胞はこれまで困難だった様々な研究を可能にしました。DNA メチル化が下がるメカニズムや調節因子を明らかにすることができたのも今回の重要な成果です。この培養系を使った研究から生殖細胞の発生メカニズムのさらなる理解と、ヒトの不妊の原因解明と治療法開発が進むことが期待されます。

受精後 6.5 日
のマウス胚



エピブラスト

受精後 9.5 日
のマウス胚

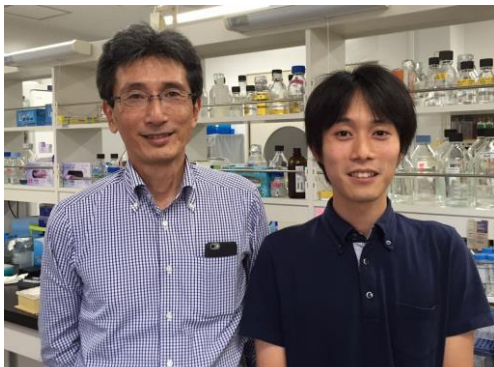


生殖細胞

生殖細胞分化
DNA メチル化
レベルの低下

(参考図)

マウスでは受精後 6.5 日の胚のエピブラストと呼ばれる体細胞から生殖細胞が誕生します。この過程では大規模な DNA メチル化の低下が生じます。この生殖細胞の発生過程を体の外で再現したのが、今回研究に用いた生殖細胞誘導系です。この誘導系をヒトにおいても確立できれば、不妊や流産の原因解明に役立ち、これらの病気に悩むカップルにとって大きな福音となることが期待されます。



(左) 佐々木主幹教授 (右) 白根さん

【お問い合わせ】 生体防御医学研究所 主幹教授 佐々木裕之
電話:092-642-6759 (6760) FAX:092-642-6799
Mail: hsasaki@bioreg.kyushu-u.ac.jp

概要

九州大学生体防御医学研究所エピゲノム制御学分野の佐々木裕之主幹教授（副学長）の研究グループは、同大学医学研究院の林克彦教授、京都大学大学院医学研究科斎藤通紀教授のグループとの共同研究により、生体外で多能性幹細胞（*1）から人工的に生殖細胞を誘導する際の DNA メチル化（*2）変化が、生体内で生殖細胞が形成される過程の変化をよく再現することを示し、またそのメチル化変化のメカニズムと調節因子を解明することに成功しました。

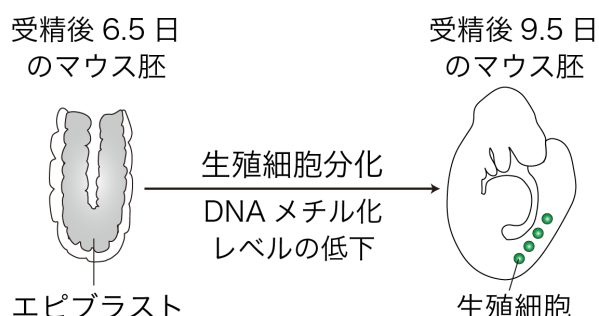
不妊や流産の原因を明らかにし、その予防や治療に貢献するためには、培養皿の中で精子や卵子を形成させ、その形成メカニズムや細胞の特性の詳細な解析を行うことが重要です。京大斎藤、九大林らは培養皿の中で多能性幹細胞から精子や卵子の元となる生殖細胞を、そして、その細胞を生体に移植して精子や卵子を作り出すことに成功しています。本研究では、この方法で多能性幹細胞から生殖細胞を誘導する際に遺伝子の働きを調節する DNA メチル化変化を、最新の高速シーケンサー（*3）を用いて解析しました。その結果、培養皿の生殖細胞誘導系で生じるメチル化変化は生体内で生殖細胞が形成される際の変化をよく再現しており、この誘導系は様々な研究に応用可能であることが示されました。また、この誘導系を用いて、メチル化変化のメカニズムと調節因子の一端を明らかにしました。今回のマウスで得られたデータは、今後ヒトの生殖細胞誘導系を確立し、不妊の原因解明や不妊治療の改善などに役立つと考えられます。

本研究成果は2016年9月15日（木）正午（米国東部標準時間）に、国際雑誌『Developmental Cell』にオンライン掲載されます。

■背景

生殖細胞は胚発生の初期にエピブラストと呼ばれる体細胞から分化します。この過程では大規模な DNA メチル化変化が生じることが知られています（図①）。しかし、これらの細胞は生体内にごく僅かしか存在しないため、これまで詳しい解析は困難でした。2011年、京大斎藤、九大林らは培養皿の中でマウス多能性幹細胞（胚性幹細胞と iPS 細胞）から生体のエピブラストに類似する細胞（エピブラスト様細胞）を、さらにエピブラスト様細胞から生殖細胞に類似する細胞（生殖細胞様細胞）を誘導し、マウス生体への移植を経て精子や卵子を作り出すことに成功しました。このようにして誘導された細胞は、生体で生殖細胞が形成される際の遺伝子の働きの変化や DNA メチル化変化を再現するのか、また、この誘導系は生体の生殖細胞形成のモデルになり得るのかという課題が生じました。

図①



■ 内容

本研究グループは、マウス胚性幹細胞とエピプラスト様細胞及び生殖細胞様細胞の DNA メチル化と全ての遺伝子の働きの状態を、最新の高速シーケンサーで解析しました。その結果、エピプラスト様細胞から生殖細胞様細胞が誘導される過程では、DNA メチル化の導入や維持に関わる酵素の働きが抑えられ、メチル化レベルは低下しました。この結果は、培養皿で誘導された生殖細胞が、生体内で生殖細胞が形成される際のメチル化変化をよく再現することを示します。また、詳細な解析からメチル化の低下は DNA 複製と共に起きることがわかりました。次にこのメチル化の低下を制御する因子の候補として、Prdm14 というタンパク質に着目しました。その機能を無くしたマウスは不妊になることが知られています。Prdm14 を欠損する胚性幹細胞から誘導された生殖細胞様細胞ではメチル化の低下が起こりませんでした。この結果は Prdm14 が生殖細胞の形成だけでなく、DNA メチル化の低下にも重要な役割を果たすことを示します。今回の研究により、培養皿中で胚性幹細胞から誘導される生殖細胞は生体の DNA メチル化変化を再現することが明らかになり、この培養系の信頼性が改めて示されました。また、多数の細胞を得ることで可能になった詳細な解析から、メチル化低下のメカニズムとその調節因子が明らかになりました。

■ 効果・今後の展開

この培養系を利用すれば多数の細胞が調製できることから、これまで生体の生殖細胞では研究が困難だった詳細な遺伝子の働きや DNA メチル化の研究が進展することが期待されます。Prdm14 欠損による生殖細胞の DNA メチル化異常が、ヒトの不妊とどのように関わるかは今後の課題です。本研究で得られたデータは今後、ヒトの生殖細胞発生メカニズムの研究やその破綻による不妊の原因解明の基盤になることが期待されます。

■ 研究について

本研究成果は科学研究費補助金・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」（課題番号 25112010）と AMED-CREST「生殖発生に関わる細胞のエピゲノム解析基盤研究」の支援により得られました。また、この研究では大学院生の白根健次郎（日本学術振興会特別研究員）が重要な役割を果たしました。

■ 発表雑誌

雑誌名： Developmental Cell

論文タイトル： Global landscape and regulatory principles of DNA methylation reprogramming for germ cell specification by mouse pluripotent stem cells

著者： Kenjiro Shirane, Kazuki Kurimoto, Yukihiro Yabuta, Masashi Yamaji, Junko Satoh, Shinji Ito, Akira Watanabe, Katsuhiko Hayashi, Mitinori Saitou, and Hiroyuki Sasaki.

【用語解説】

(*1) 多能性幹細胞

多能性幹細胞とは様々な細胞へと分化する能力（多能性）をもち、自身を複製することのできる細胞のことです。その例としては胚性幹細胞や iPS 細胞があります。

(*2) DNA メチル化

DNA はアデニン、チミン、グアニン、シトシンという 4 種類の塩基から構成されています。DNA 配列中の中でシトシン-グアニンという順番に並ぶシトシンにはメチル基が付加されます。DNA メチル化には遺伝子の働きを調節する役割があります。

(*3) 高速シーケンサー

高速シーケンサーとは DNA 配列の解読を一度に大量に行うことのできる機器のことです。細胞のもつゲノム全体の DNA メチル化の解析や遺伝子転写物の定量などに利用されています。

【研究に関するお問い合わせ先】

生体防御医学研究所 エピゲノム制御学分野 佐々木 裕之（ささき ひろゆき）

TEL: 092-642-6759（6760）

FAX: 092-642-6799

Mail: hsasaki@bioreg.kyushu-u.ac.jp