

命をつないでいく生殖細胞：個体の生と死を越えて



研究ノート

甲斐歳恵*

Germline Cells Drive Lives: Beyond Birth and Death of Individuals

Key Words : germline cells, stem cells, piRNA, nuage

はじめに：生殖細胞研究に導かれて

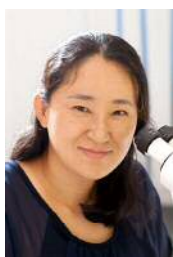
NHKで放映されているシリーズ世界遺産100のタイトルCGで用いられていたゴッダンの名作、*D'où venons-nous? Que sommes-nous? Où allons-nous?* (我々はどこから来たか 我々とは何か 我々はどこへ行くのか)をご存知の方も多いと思う。人の生から死を描いたとされるこの有名な絵画によって、我々は、自らの来し方、行く末、存在意義を問いかけるのであるが、このテーマが私を魅了してやまないのは、個体の生死を越えて、次世代を生み出すことで種として存続する生命の命題をも示しているかのように思えるからである。この生命の永続性が私の研究テーマである。ヒトを含む多くの動物は、有性生殖によって、遺伝的多様性を持つ次世代を生み出している。多くの動物では、ゲノムと呼ばれる遺伝情報を最低必要量の2倍量を有している。体細胞が分裂する時は、ゲノムの倍数は2倍量のままだが、配偶子形成—即ち、卵子と精子を生み出す過程では、1倍に減らされる。このゲノム数が半分になる分裂様式を、文字通り減数分裂と呼ぶ。ゲノム数が1倍になった卵子と精子の受精によって、ゲノムはまた2倍となり、胚発生を経て個体へと発生していく。生殖細胞はどのようにして次世代を生み出す配偶子である卵子と精子を生み出すのか？そしてそのゲノムを損なう事なく、次世代に受け渡す

のであろうか？

生殖幹細胞の維持と生殖細胞の分化、可塑性の発見

ヒトを始めとする多くの高等ほ乳類の雌は、生涯の一時期に生殖可能であるが、ショウジョウバエは、高等脊椎動物とは異なり、雌であってもほぼ生涯にわたり活発に卵を産み続ける。その理由は、卵巣に、生殖細胞を生み出す生殖幹細胞を維持しているからである。ショウジョウバエの生殖巣は、90年代の終わり頃から、ニッチ (niche) と呼ばれる幹細胞を維持するための微小環境の研究のモデル系として、分野を長くリードしてきた。今では、造血幹細胞や毛髪幹細胞、小腸の幹細胞などが、それぞれの微小環境、すなわちニッチで維持されていることが知られているが、当時は分子生物学的アプローチによって、構造的にニッチが存在し、幹細胞に足場を提供し、かつニッチからのシグナルによって幹細胞が未分化な状態に維持されている事を解明出来たのは画期的な発見であった。ショウジョウバエの卵巣、精巣を用いた幹細胞—ニッチの研究を契機として、マウスなどの高等ほ乳類でも同様のシステムによって組織幹細胞が維持されていることが次々と報告されるようになった [1]。

ニッチに隣接するように、雌性生殖幹細胞 (GSC) は存在している (図1)。これが非対称分裂によって、生殖幹細胞そのものと、分化していくシストブラスト (CB) に分裂する。CBは4回の非完全な体細胞分裂によって、細胞質が繋がった16細胞シストを形成し、そのうちの一つがやがては卵細胞となり、残りの15個は哺育細胞になって、卵細胞へRNAや蛋白質を供給する。16個の生殖細胞シストのうちの1つが卵細胞になるのはショウジョウバエの特徴であるが、細胞質が繋がった状態で分裂するシスト



* Toshie KAI

1970年6月生

大阪大学大学院理学研究科生理学専攻
後期課程 (1998年)

現在、大阪大学大学院 生命機能研究科
教授 博士 (理学) 生殖生物学

TEL : 06-6879-7971

FAX : 06-6879-7972

E-mail : toshie_kai@fbs.osaka-u.ac.jp

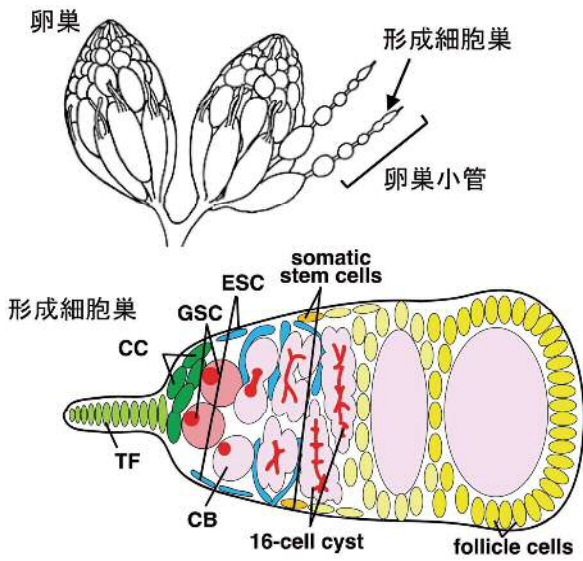


図1：ショウジョウバエ卵巣にある生殖原器。
生殖幹細胞（GSC）はニッチであるキャップ細胞（CC）に隣接し、非対称分裂によって生殖幹細胞自身と、分化していくもう一方のシストプラスト（CB）を生み出す。CBは4回の体細胞分裂によって16細胞シストを形成し、濾胞細胞（follicle cell）に包み込まれ、卵室として形成細胞巢から分離し、卵として成熟していく。

形成は、高等ほ乳類にも保存されている生殖細胞に特徴的な分裂様式である。シストプラストでは、分化を誘導する因子である Bam が発現し、不可逆的に分化過程に移行すると以前は考えられていたが、この Bam 因子を一過的に発現する系で詳細な観察を行ったところ、シストを形成後、繋がっていたシスト細胞が分離し、機能的な幹細胞へと脱分化することが明らかになった [2] (図2)。今では、iPS 細胞の開発により、分化した細胞の可塑性は疑う余地のない事実として認識されているが、当時、生体内で分化因子誘導後の細胞の可塑性、特に幹細胞へ脱分化しうることを示せたのは画期的であった。

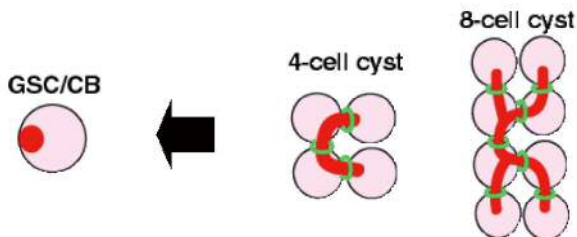


図2：生殖シストは崩壊し、それぞれのシスト細胞は生殖幹細胞へと脱分化しうる。

トランスポゾンによる変異の脅威と、その脅威から生殖細胞のゲノムを保護する小分子 RNA

生殖細胞は前述の通り、体細胞にはない特質—配偶子である卵子と精子を生み出し、そのゲノムが次世代に受け継がれて行く—を持つ。この特質を与えている分子機構を探求する目的で、生殖細胞に強く発現している遺伝子をマイクロアレイで解析したところ、複数の Tudor ドメイン蛋白質が非常に強く発現している事がわかった [3]。当時、Tudor ドメインの機能は明らかではなかったが、ほ乳類を含めて、このドメインを持つ蛋白質ファミリーが多く保存されていた。幸運にもシンガポールで PI として研究室を主催することになり、この Tudor ドメイン蛋白質ファミリーに集中して機能解析を行った。解析したいずれの蛋白質も、生殖細胞に特異的に発現し、その遺伝子を欠損すると、雌は卵発生が正常に行われず、不妊となる。これらの蛋白質は、興味深いことに、ヌアージュと呼ばれる生殖細胞に特異的な構造体に局在することが明らかとなった (図3)。

1957年にフランス人研究者らによってヌアージュ (nuage: 雲) と名付けられたこの不定形な構造体は、1世紀以上前から数多くの動物生殖細胞で報告されてきたが、その機能は長らく不明であった。ようやく近年になって、ヌアージュが、生殖細胞のゲノムの安定性を脅かすトランスポゾンを抑制する小分子 RNA の産生に関与していることが明らかとなった。トランスポゾンは転移性遺伝因子とも呼ばれ、ヒトゲノムの 40%以上を占めるいわゆるジャンク配列

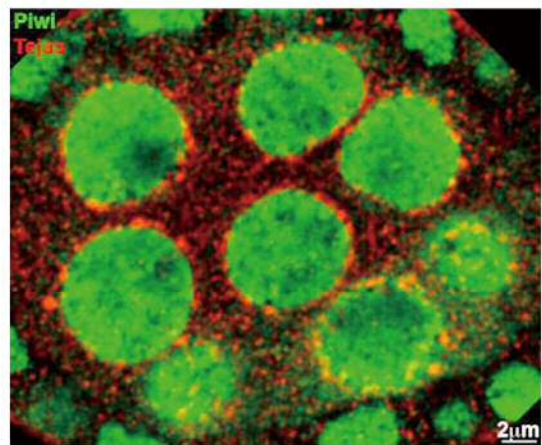


図3：2009年に報告したヌアージュに局在する Tudor ドメイン蛋白質の一つ、Tejas (赤)。核内での piRNA 産生にも関与する Piwi 蛋白質 (緑) とともに示す。細胞質で piRNA の増幅に機能する Tejas は、哺育細胞の核膜上、細胞質側にドット上に偏在する。

であるが、これらがゲノムに挿入されることにより、挿入変異や、あるいは切り出されるときにゲノムの欠損を引き起こすなど、変異の脅威となりうる。その活動は特に次世代に引き継がれる生殖細胞で活発であるが、生殖巣にのみ発現している小分子 RNA: piRNA によって抑制されている。

そして、その小分子 RNA の細胞質中での産生と増幅に関与する蛋白質の多くがヌアージュに局在していることが、筆者らの研究室を始め、多くの研究者たちによって報告された [4]。トランスポゾンのセンス鎖に対して、アンチセンス鎖の piRNA と複合体を形成した PIWI ファミリー蛋白質が結合し、トランスポゾン RNA を切断する。切断されたセンス鎖からまた成熟 piRNA が産生され、PIWI ファミリー蛋白質と複合体を作り、その複合体はアンチセンス鎖 piRNA 前駆体を切断する。この増幅サイクルをピンポンサイクルと呼び、これに関与する蛋白質はヌアージュに局在していることから、ヌアージュは、ピンポンサイクルによる piRNA 産生のものであると考えられる。生殖細胞は、トランスポゾンの RNA を切断すると同時に piRNA の増幅サイクルをまわし、さらに強固にトランスポゾンを抑制するというこのエレガントなシステムを作り上げたのである。

piRNA 経路と万能性

ショウジョウバエを中心に、生殖細胞のゲノムを保護する小分子 RNA、piRNA 経路の詳細が解明されてきたが、この機構は有性生殖を行う動物種にあまねく保存されている [5]。マウスやラットなどの高等ほ乳類はもちろんのこと、内胚葉を持たない放射線形の体を持つ下等な刺胞動物の一つであるヒドラにも、このヌアージュと呼ばれる構造体と、ヌアージュで増幅される piRNA が検出され、トランスポゾンの抑制に機能しているようだ。興味深い事に、下等な動物では、体細胞系列にも生殖細胞系列にも分化する万能性細胞または多能性細胞を持つものが多い。ヒドラもその一つで、体を切り刻んでも、小さな断片から全体のポリプを再形成する高い再生能力を持つが、それは体内に偏在する多能性細胞が、失われた組織や細胞へと分化するためである。この多能性細胞は、体細胞系列のみならず、生殖細胞へも分化するのであるが、この多能性細胞に、PIWI

ファミリー蛋白質を含む piRNA 経路に関与する蛋白質が強く発現しており、piRNA の増幅装置であるヌアージュが観察された [6]。さらに、ヒドラから得られた小分子 RNA を解析したところ、ショウジョウバエやマウス同様にピンポンサイクルで増幅された piRNA の特徴が検出された。このことから、ヌアージュで増幅された piRNA は、生殖細胞のみならず、体細胞系列にも分化しうる多能性細胞でもトランスポゾンを抑制するために機能していると考えられる。

トランスポゾンの存在意義を考えると、生殖細胞にも分化できる多能性細胞に、ヌアージュや piRNA が認められるのは当然の結果である。自身の拡散および伝搬が存在目的の利己的なトランスポゾンは、寄生している宿主の生殖細胞系列でもっとも活動が高くなるように進化してきた。その対抗手段として、動物は、piRNA 経路を発達させたと考えられる。生殖細胞にも分化しうる人為的に作製された iPS のような万能性細胞で、トランスポゾンの挙動や piRNA および PIWI ファミリー蛋白質の機能が、どのように万能性や分化能力に作用するのか、非常に興味深いと考える。また、ガン細胞のような無限の増殖能を獲得した細胞でもその不死性にどのように寄生しているのかといった研究も報告されつつあり、生殖細胞と万能性を巡る非コード RNA 研究からますます目が離せないところである。

終わりに

平成 27 年 10 月に、テマセク生命研究所/シンガポール国立大から現ポジションに異動した。アメリカ、シンガポールと長い在外期間を経て、17 年ぶりに日本での研究活動を行うことになり、右往左往の日々が続いている。本稿は帰国後、邦文での記念すべき初論文であり、アメリカでのポストドク時代からシンガポール時代での仕事を総括させていただいた。これからの研究活動の新展開に期待しつつ、今回の異動およびシンガポールでの研究活動を支えてくれた方々にお礼を申し上げ、終わりの言葉とさせていただきます。

参考文献

- [1] Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. (2001) Stem cells find their niche. *Nature*

- (414):98-104
- [2] Kai T, Spradling A. (2004) Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries. *Nature* (428):564-9
- [3] Kai T, Williams D, Spradling A. (2005) The expression profile of purified *Drosophila* germline stem cells. *Dev Biol.*, 283:486-502
- [4] Pek JW, Anand A, and Kai T. (2012) Tudor domain proteins in development. *Development* (139):2255-2266.
- [5] Lim RSM, and Kai T. (2015) A piece of the pi(e): the diverse roles of animal piRNAs and their PIWI partners. *Sem Cell Dev Biol* 47-48:17-31.
- [6] Lim RSM, Anand A, Nishimiya-Fujisawa C, Kobayashi S, and Kai T. (2014) Analysis of Hydra PIWI proteins and piRNAs uncover early evolutionary origins of the piRNA pathway. *Developmental Biology* (386):237-251

