

報道関係各位

平成 29 年 2 月 3 日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「Y染色体遺伝子Zfy1、Zfy2の精子形成における相補的で多段階にわたる機能を解明」 — 受精障害や初期胚発生障害の一部の原因解明への期待 —

【ポイント】

- Y 染色体遺伝子 Zfy1 と Zfy2 のダブルノックアウトマウスの作製に成功しました。
- Zfy1 と Zfy2 が相補的にかつ多段階に精子形成を制御していることを明らかにしました。
- 受精障害や初期胚の発生障害の一部の原因解明へとつながることが期待されます。

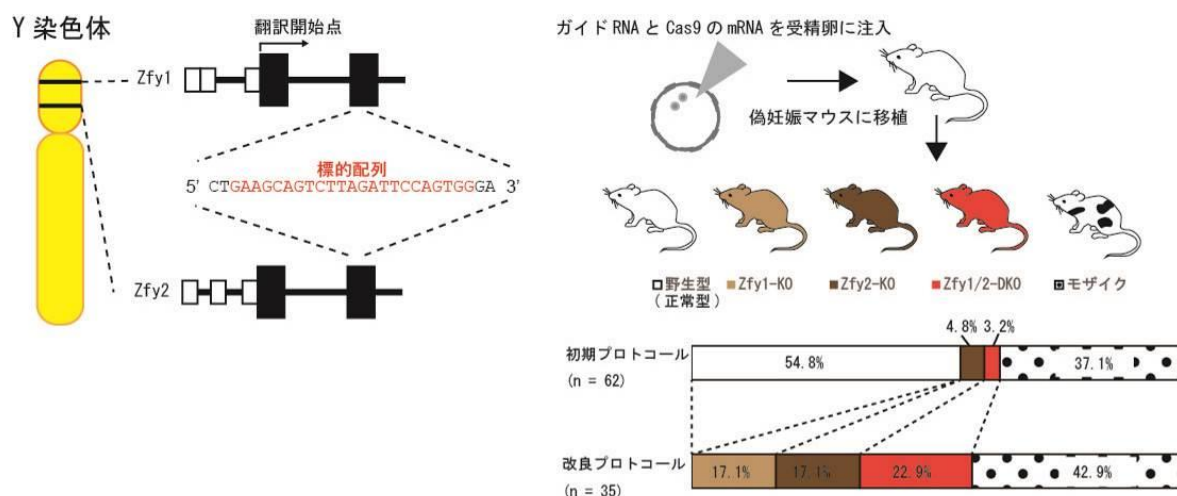
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生・再生医学分野の浅原弘嗣教授、千葉朋希助教、中筋貴史大学院生の研究グループは同大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学分野の久保田俊郎名誉教授、宮坂尚幸教授、理化学研究所バイオリソースセンターの小倉淳郎室長、越後貫成美専任技師、長崎国際大学、国立成育医療研究センター、および国立がん研究センターとの共同研究で、Y 染色体遺伝子 Zfy1、2 が相補的にかつ多段階に精子形成を制御していることを明らかにしました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、日本医療研究開発機構(AMED-CREST)ならびに米国国立衛生研究所(NIH,NIAMS)の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 PLOS Genetics に、2017 年 1 月 23 日に暫定版がオンラインで公開され、2 月 6 日に完全版が公開されます。(文献)。

【研究の背景】

Y 染色体は雄にしか存在せず、精子形成において重要な役割を担っていると考えられていますが、その構造上の特殊性から、従来の相同組み換えを用いた方法ではノックアウトマウスの作製が困難であり、個々の遺伝子機能解析が十分に進んでいませんでした。研究グループは新しいゲノム編集技術であるTALENやCRISPR/Cas9 systemを用いてY染色体上にある遺伝子のノックアウトマウスを作製しその機能解析を行ってきました。Zfy1とZfy2は1980年代に雄の性決定遺伝子候補として注目を浴びましたが、その後Y染色体上のSryという遺伝子が真の性決定遺伝子であることが判明したため長い間忘れ去られていました。しかし近年、Zfy1とZfy2が精子形成に関与することが判明し、にわかに注目を集め始めました。従来のZfy1とZfy2の研究はこれらの遺伝子をマウスなどに導入する方法を取っていますが、今回研究グループはノックアウトという遺伝子の機能を調べる上でより正確な方法で解析を行いました。

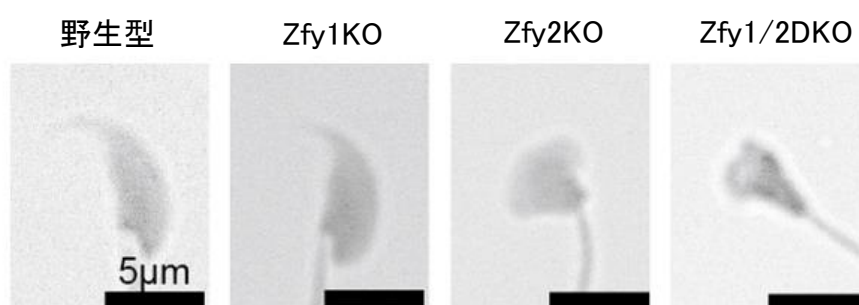
【研究成果の概要】

新しいゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 system を導入することで Zfy1 ノックアウト(KO)マウス、Zfy2KO マウス、Zfy1 と Zfy2 のダブルノックアウト(Zfy1/2DKO)マウスを高効率に作製することに成功しました(図1)。



【図1】左図: Zfy1 と Zfy2 の共通の配列を標的としてガイド RNA を設計しました。右図: 受精卵へ RNA を注入する時間を改良することで高効率にノックアウトマウスを作製することに成功しました。

Zfy1KO マウス、Zfy2KO マウスは自然交配により産仔を得ることができましたが Zfy1/2DKO マウスは不妊でした。この原因を調べていくと Zfy2KO、Zfy1/2DKO の精子は奇形(図2)や運動率の低下を認め、その程度は Zfy2KO よりも Zfy1/2DKO の方が重度でした。これらのことから Zfy1 と Zfy2 は相補的に精子形成に関与していることが示されました。

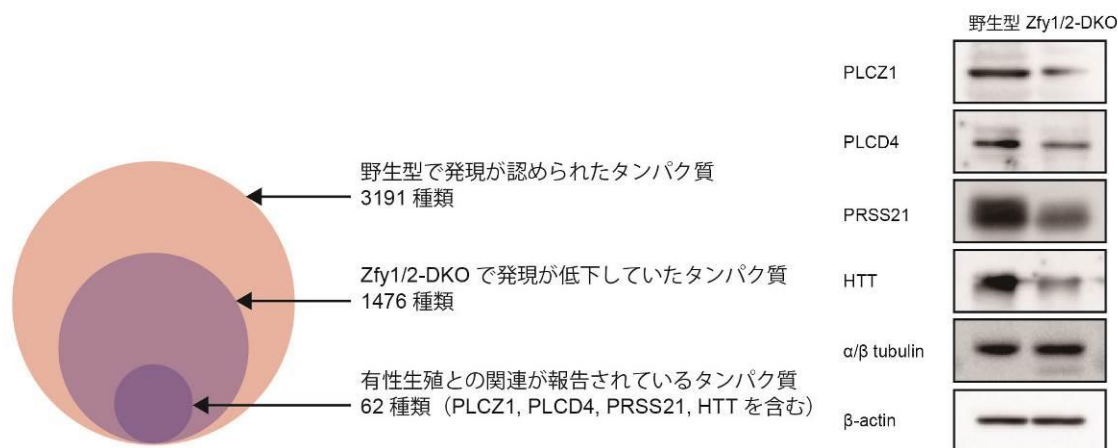


【図2】精子頭部の奇形が Zfy2KO、Zfy1/2DKO で観察されました。

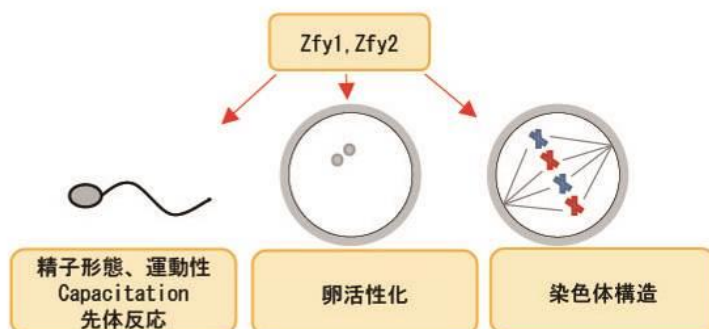
Zfy1/2DKO マウスは体外受精を行っても受精卵を得ることができませんでした。精子の奇形や運動率の低下以外の原因を調べていくと、Zfy1/2DKO 精子は capacitation という雌性生殖器内や培養液中で起こる受精に必要な変化が起こっておらず、それに続いて起こる先体反応も起こっていないことがわかりました。

さらにZfy1/2DKO精子の受精能を調べるために顕微授精を行ったところ、Zfy1/2DKO精子の受精率は非常に低く、未受精卵の一部は活性化が起こる前の段階で発生が停止していました。これは精子に含まれる卵の活性化因子に異常があることを示しています。またZfy1/2DKO精子を用いて顕微授精によって受精した胚を移植しても産仔を得ることができず、同様の胚を培養した結果、胚盤胞まで到達することなく発育を停止してしまいました。この原因を調べるために受精卵の染色体染色を行ったところ、精子由来の染色体が断片化を起こしていることが分かりました。

Zfy1とZfy2は遺伝子発現を制御する転写因子と考えられています。今回の研究で認められたさまざまな表現型はZfy1とZfy2が制御する下流遺伝子の発現量が変化したために起こったものと考えられます。この下流遺伝子を同定するため、網羅的にタンパク質を調べることができる質量分析を行った結果、野生型(正常型)の精子タンパク質に比べてZfy1/2DKO精子タンパク質で発現量が低下していたもののうち今回の表現型を説明する4つのタンパク質が含まれていました。その4つの遺伝子とは卵活性化因子であるPLCZ1、先体反応に関わるPLCD4, PRSS21、精子奇形に関わるHTTです(図3)。



【図3】左図：質量分析において野生型とZfy1/2DKO精子で発現していたタンパク質の相関図。右図：質量分析で同定したZfy1/2DKOマウスの表現型と合致するタンパク質のウェスタンブロット。野生型と比べてZfy1/2DKOではPLCZ1, PLCD4, PRSS21, HTTの発現の低下が観察された。



【図4】Zfy1とZfy2の機能の模式図。Zfy1とZfy2は精子の様々な機能を制御している。

【研究成果の意義】

本研究において作製した Zfy1KO マウス、Zfy2KO マウス、Zfy1/2DKO マウスの報告は世界で初めてであり、Zfy1 と Zfy2 が相補的に精子形成を多段階に制御していることが明らかになりました(図4)。ヒトにはホモログとして ZFY が Y 染色体上に存在していますが、不妊症との関連を示す報告は現在のところなく、ヒトの精子形成における ZFY の機能分かっていません。Zfy1 と Zfy2 のさらなる解明が受精障害や初期胚の発生障害の一部の原因解明へとつながることが期待されます。

文献

Nakasuji, T., et al., Complementary Critical Functions of Zfy1 and Zfy2 in Mouse Spermatogenesis and Reproduction. PLoS Genet, 2017. 13(1): p. e1006578.

図1－3は文献より引用一部改変。

【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
システム発生・再生医学分野 浅原弘嗣(アサハラ ヒロシ)

TEL:03-5803- 5015 FAX:03-5803- 5810

E-mail: asahara.syst@tmd.ac.jp

ホームページ: <http://www.tmdusystemsbiomedicine.com/>

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 広報部広報課

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp