

【目的】 本研究では、哺乳類の生殖細胞系列の発生・分化における代謝調節の攪乱が始原生殖細胞の形成やエピゲノム制御を介した遺伝子発現に与える影響を解明することを目的として進めた。我々は、マウスの多能性幹細胞から始原生殖細胞 (PGC) への分化過程において、解糖系から酸化的リン酸化への主要エネルギー代謝の変換が起こることを明らかにした。しかし、代謝調節の異常がどのような経路を介して生殖細胞の分化や機能に影響を与えるか、は全く分かっていなかった。そこで本研究では、生殖細胞分化に必須な代謝・エピゲノム関連因子を同定し、その薬剤による阻害や遺伝子操作により生殖細胞の分化や機能に現れる異常を検証する。また、代謝・エピゲノム関連因子が生殖細胞分化に寄与する分子メカニズムを解明する。

【方法】 生殖細胞の形成、分化の過程で代謝状態を調節する因子として転写因子やエピゲノム関連因子が挙げられる。本研究では、特に代謝調節とエピゲノム制御に焦点を当て、これらの制御と生殖細胞分化の関連性について研究を進めた。当研究室で行われたスクリーニングにより、始原生殖細胞の形成に関わるエピゲノム因子として、ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC3 とヒストンメチル化酵素 SETDB1 が特定された。本研究ではこれらに加え、培地組成を様々に変えて始原生殖細胞の分化誘導を行うことにより、生殖細胞分化に寄与する新規の代謝関連因子の同定を進めた。これらの遺伝子のノックダウンや薬剤による阻害が始原生殖細胞の形成を抑制する分子メカニズムを、定量 PCR を用いた遺伝子発現解析や免疫染色によるタンパク質の局在解析により検証した。

【結果】 *Hdac3* と *Setdb1* の遺伝子ノックダウンは、培養下での多能性幹細胞からの始原生殖細胞形成を顕著に阻害した。また、その制御機構を検証したところ、HDAC3 は転写因子 BLIMP1 と協調してヒストン H3/H4 の脱アセチル化を介した体細胞遺伝子の発現抑制を行い、SETDB1 はヒストン H3K9 のトリメチル化を介して BMP4 シグナルの阻害因子の発現を抑制しており、それぞれ異なる経路によって生殖細胞遺伝子の発現上昇に寄与していることが明らかになった。また、*Hdac3* や *Setdb1* のノックアウトマウスの解析から、これらの因子が個体内でも生殖細胞の形成に寄与していることを明らかにした。さらに、始原生殖細胞の形成に関わる新規の代謝経路として、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の合成を担うヘキソサミン経路を同定した。始原生殖細胞の形成に重要な役割を果たす WNT シグナル経路の主要制御因子である beta-catenin が O-GlcNAc 転移酵素 (OGT) を介した O-GlcNAc 化を受けることにより核局在を増加させることを見出しており、タンパク質の O-GlcNAc 化が生殖細胞の分化に関与する可能性を示した。

始原生殖細胞形成を制御する分子ネットワークと新規エピゲノム・代謝関連因子 (白抜き)

