

【目的】 精子形成期において、生殖細胞が分化し減数分裂期へ移行する際には、数千もの遺伝子発現が変化し、体細胞型の遺伝子発現プロファイルから生殖細胞特有の遺伝子発現プロファイルへと切り替わる。これまでに、生殖細胞特異的なエピゲノム変化及びクロマチン構造変化によって遺伝子発現プロファイルの変化がもたらされることが示されている。興味深いことに、クロマチンの開閉状態は、減数分裂期の前後においてプロモーター領域よりも遺伝子間領域で大きく変化していた。そのため、エンハンサーの活性化状態が生殖細胞特異的な遺伝子発現プロファイルの制御に機能していることが示唆されたが、詳細な分子機構は不明であった。本研究では、マウス精子形成期における活性化エンハンサーの同定、及びその分子機構の解明を目的とした。

【方法】 マウス精巣から精子形成期の代表的な分化段階の生殖細胞を単離した。単離した細胞を用いて、活性化エンハンサーの指標であるヒストン修飾 H3K27ac のゲノムワイドな分布を ChIP-seq 法により明らかにした。さらに ROSE (Rank Ordering of Super-Enhancers) アルゴリズムを用いて生殖細胞特異的なスーパーエンハンサーを同定した。

【結果】 マウス精子形成期におけるエンハンサー活性化状態を明らかにするために、精巣から生殖細胞を単離し、活性化エンハンサーの指標であるヒストン修飾 H3K27ac のゲノムワイドな分布を ChIP-seq 法により解析した。活性化エンハンサーの分布は、分化型精原細胞から精母細胞への分化の過程で大きく変化していた。また、一部の活性化エンハンサーが局所的にクラスターを形成していることを見出し、ROSE アルゴリズムにより各分化段階でスーパーエンハンサーを同定した。特に、減数分裂期移行後に多くのスーパーエンハンサー (meiotic SEs) が形成されており、その近傍には、精子形成に必須の遺伝子が存在していた。減数分裂期以降の特異的なエンハンサー領域に含まれる転写因子結合モチーフの探索の結果、生殖細胞特異的な転写因子である A-MYB 結合モチーフが同定された。マウス精巣における A-MYB のクロマチン結合領域を解析したところ、meiotic SEs 領域内に存在していることが明らかになった。A-MYB の集積が meiotic SEs の形成に必要であるかを検討するために、*A-myb* 機能欠失マウスの精母細胞における H3K27ac の分布を解析したところ、meiotic SEs で H3K27ac の集積が減少していることが示された。これらの結果から、A-MYB が meiotic SEs の形成に機能することが示唆された。meiotic SEs の形成機構を明らかにするために、未分化精原細胞における meiotic SEs 領域のエピジェネティックな状態を解析したところ、H3K4me2 が集積していることが示された。meiotic SEs 領域における H3K4me2 の集積は、減数分裂期移行の精母細胞や精細胞では減少していた。また、meiotic SEs 領域以外に形成される活性化エンハンサー領域では H3K4me2 の集積はみられなかった。以上から、meiotic SEs は、未分化精原細胞において H3K4me2 の集積を伴う準備状態にあることが示唆された。本研究から、次の 1~3 に示される、meiotic SEs の標的となる精子形成関連遺伝子群の発現制御機構が明らかになった。1. 未分化精原細胞において meiotic SEs 領域及びプロモーター領域に H3K4me2 が集積した準備状態が形成される。2. 減数精子形成期へ移行後に A-MYB などの転写因子が集積する。3. H3K27ac が集積した活性化状態へ変化し、標的遺伝子の発現が誘導される。

マウス精子形成期におけるスーパーエンハンサー (meiotic SEs) の形成機構

