

**【目的】** 次世代個体の健康な発生・成長を担う生殖細胞の分化機構に関して、エピジェネティック制御が生殖細胞の形成や、その後の分化段階で起こる減数分裂などに必須な役割を果たしていることが示されてきた。一方、細胞外環境に敏感に反応し、さまざまな細胞状態の制御に重要な代謝状態と、その制御機構に関しての生殖細胞に関する知見は少なく、特に胎仔期生殖細胞の代謝状態に関してはこれまでほとんど調べられてこなかった。そこで本研究の代表者らは、これまでにマウス胎仔生殖細胞のメタボローム・プロテオームの統合解析を行い、胎仔生殖細胞が生殖巣の体細胞や多能性幹細胞と比較して、高いミトコンドリア代謝などの特徴的な代謝状態にあることを明らかにしてきた。その知見をもとに本研究では、胎仔生殖細胞で亢進している、解糖系から分岐するセリン生合成経路やミトコンドリア代謝の、胎仔生殖細胞から精原細胞や卵母細胞が形成される際の役割と作用機構を明らかにすることを目的とした。

**【方法】** マウス胎仔精巣の器官培養に、解糖系から分岐するセリン生合成系経路の律速酵素 PHGDH の阻害剤である CBR-5844 を添加すると、胎仔生殖細胞の精原細胞への変化が促進されることが、これまでの研究でわかった。そこで、セリン生合成経路の下流で精原幹細胞への分化制御に働く遺伝子候補を同定するために、阻害剤の有無で発現が変化する遺伝子を、RNA-seq によるトランスクリプトーム解析で調べた。一方、ピルビン酸のミトコンドリアへの取込みを担う MPC タンパク質の阻害剤である UK5099 をマウス胎仔卵巣の器官培養系に添加し、卵母細胞への分化に対する影響と下流遺伝子候補を調べた。また *Mpc2* 遺伝子の生殖細胞特異的欠損マウスの解析により、*in vivo* での役割を調べた。さらに妊娠中に糖質制限をすると、MPC 阻害による影響と類似した卵母細胞の異常が見られるかを、糖質を含まず脂質が主体の高ケトン食を給餌することにより調べた。

**【結果】** PHGDH の阻害剤存在下で培養した胎仔精巣の生殖細胞では、エピゲノム制御に関連する遺伝子の発現上昇が見られ、それらが精原細胞への変化に関与することが示唆された。一方、マウス胎仔卵巣の器官培養系に MPC の阻害剤を添加すると卵胞形成の初期段階が抑制され、さらにミトコンドリア代謝の中間代謝産物で、DNA やヒストンの脱メチル化の制御に関与する  $\alpha$  ケトグルタル酸およびコハク酸が、阻害剤の影響を緩和することがわかった。また卵母細胞で発現し、卵母細胞を取り巻く顆粒膜細胞の増殖に必要な分泌性因子 GDF9 の遺伝子発現が阻害剤により低下し、さらにまた GDF9 の添加が阻害剤の影響を緩和することが明らかになった。さらに *Mpc2* の欠損マウスでも、同様な初期卵胞発達の抑制が確認された。これらの結果から、ピルビン酸のミトコンドリアへの効率の良い取込みを介して、トリカルボン酸回路の  $\alpha$  ケトグルタル酸などが十分に確保されることにより GDF9 の発現が保たれ、それにより卵胞形成が円滑に進行すると考えられた。一方、高ケトン食給餌を行ったマウスから産まれた雌マウス卵巣を調べたが、卵胞形成に異常は見られなかった。

卵母細胞におけるピルビン酸のミトコンドリアへの取込の役割

