

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	哺乳類の性特異的なエピゲノム構造とその維持機構の解明
研究機関・部局・職名	徳島大学・疾患酵素学センター・教授
氏名	立花 誠

【研究目的】

背景

有性生殖は個体が遺伝子を子孫に伝えることのみならず、遺伝的な多様性の獲得、さらには様々な種が進化する原動力となった。有性生殖を行う生物にとって雌雄への性分化は非常に重要な意味を持つ。とりわけ哺乳類の性分化機構の実態を明らかにすることは、我々人類の成り立ちを探ることのみならず、将来的には医学や農学など様々な分野への貢献が期待される。

性の決定と分化の様式は生物によって多種多様である。ある種の魚類は成体になってからも性転換が可能である。爬虫類は種によってふ化する際の温度で性が決定する。鳥類も初期胚をホルモン処理することで性が変わることが知られている。このような生物では遺伝的な要因よりむしろ環境（エピジェネティックな）要因が性差を生み出すと考えられる。これに対して哺乳類では遺伝的要因（Sry の有無）が性分化を規定すると考えられている。しかし Sry は雄化のカスケードのスイッチをオンにする役割しか持たず、一過性に発現した後は急速にシャットダウンする。にもかかわらず一度確立した性差はリセットされない。何故細胞分裂を経ても性差は生涯にわたって維持されるのか？この機構にはエピジェネティックな因子が少なからず関与していると予想するが、その実体は全く明らかになっていない。研究代表者は性特異的なエピゲノムを安定に維持していくためには、DNA のメチル化やヒストンのメチル化といった細胞の記憶に関わる修飾が重要な役割を担っていることを証明することを目指して研究を行った。

以上の仮説と研究代表がこれまでに行ってきたヒストンメチル化酵素による遺伝子発現制御の研究実績を基に、新たに「哺乳類の性特異的なエピゲノム構造とその維持機構の解明」を目標とした研究を提案した。

本研究課題で解明すべき点

1. 胎児期の性差確立における Sry 遺伝子座のエピジェネティックな制御について

Sry 遺伝子は胎児期の雄の生殖腺体細胞でごく限られた時期に一過性に発現する。この特殊な発現様式を制御するエピジェネティック因子の同定、並びに Sry 遺伝子座のエピゲノム構造の解明を行う。この実験を遂行するために、まずはマウス胎児の生殖腺から目的の細胞、つまり生殖腺体細胞を選択的に精製する系を確立する。具体的には性腺体細胞で特異的に発現する遺伝子の調節領域の下流に膜タンパ

ク遺伝子を挿入したトランスジェニックマウスを作成する。このマウスで実際に性腺体細胞の精製が確認できた後、胎児期における Sry 遺伝子座エピゲノム解析を行う。さらにその責任酵素（ヒストン修飾、DNA 修飾）を明らかにする。

2. 性腺体細胞における性特異的なエピゲノムの解析とその維持機構について

細胞特有な性質が分裂を経ても安定に維持されるためには、エピジェネティックな因子によって刷り込まれた記憶が重要な役割を担う。しかしこれまでに哺乳類の性差の維持とエピジェネティクスの関係を追及した研究は皆無であった。研究代表はこの現象にもヒストンや DNA のメチル化が深くかかわっていると予測し、それを明らかにすべく以下の研究を進める。

a) 雌雄の性差が確立する時期、およびそれが維持される時期の胎児期生殖腺体細胞からクロマチンを分離する実験系を構築する。さらにそのクロマチンを用いてメチル化 DNA や修飾ヒストンの分布の解析を行い、雌雄間でのエピゲノムの質的および量的な差を明らかにする。次にその性差が個体の成長とともに安定に維持されているのかをマウス個体を使って経時的に解析する。

b) 発生工学的な手法によって DNA のメチル化酵素、ヒストンメチル化酵素、及びヒストン脱メチル化酵素等を時間、あるいは細胞種特異的に欠損させるようにデザインしたマウスを樹立する。これらの遺伝子を性腺体細胞で特定の時期にノックアウトすることで性差の維持に関わるエピジェネティック因子を同定する。さらにその因子が欠損することで引き起こったエピゲノムの変化がどのような表現型（例：性分化障害による雌化、生殖能力の欠如、など）を惹起するのかどうかを明らかにしていく。

【総合評価】

○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

哺乳類の性特異的なエピゲノム構造とその維持機構の解明に向けて、ヒストンメチル化酵素による遺伝子発現制御の研究をおこなった。二つの大きな目標は順調に進行し、発生工学的な手法を駆使し、成果を発表した。性分化という明快な表現系を設定することで、個体の発生分化におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御のひとつのモデルを提示するものである。2013 年 9 月になって性決定遺伝子 Sry の制御因子候補 Jmjd1a を同定し、その欠損マウスにおける雄化異常を見だし、Science 誌に発表するなど、ブレークスルーと言っても良いと成果が得られているとして高く評価

してよいと考えられる。研究代表者は本研究課題期間中に准教授から教授へと昇進した。今後の研究がさらに大きく発展することを期待したい。

② 目的の達成状況

- ・ 所期の目的が
(☒ 全て達成された ・ ☐ 一部達成された ・ ☐ 達成されなかった)

問題設定が明確であり、かつ有効な解析実験系が確立されていることから、研究目的の達成に向けて研究は順調に進捗した。

性差確立における Sry 遺伝子座のエピゲノム制御の実態と、それに関与する責任酵素の同定は、ほぼ確実に完遂し、生殖腺体細胞の機能分化に到るエピゲノム修飾を介した発現制御機構に関しても成果が得られている。Jmjd1a 以外でもエピゲノム修飾に関与する因子の遺伝子に対する条件的欠損あるいは発現マウスを活用できる環境を整備していることから、研究の先進性・優位性があることが伺われる。また、表現系の変化した遺伝子欠損マウスなどからの標的細胞の精製系が確立されていることから、遺伝子発現の網羅的解析は今後の研究の発展に繋がる有効な手段である。

今後の課題についての方針は明確であり、実現可能な実験系であることから、今後の更なる研究の土台作りに成功したと言える。

③ 研究の成果

- ・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(☒ ある ・ ☐ ない)

- ・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(☒ 創出された ・ ☐ 創出されなかった)

- ・ 当初の目的の他に得られた成果が (☒ ある ・ ☐ ない)

生殖腺体細胞の精製系を確立するため、その新規マーカーLNGFRを決め、その生殖腺体細胞特異的発現 TG マウスを樹立、特異抗体での細胞濃縮に成功しており、実験系の樹立に成功している。今後の研究の基礎として世界的にもすばらしい研究であると考えられる。

マウス胎児 Sry のエピゲノム解析においては、未分化生殖腺体細胞を精製し、ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd1a の高発現と Sry 遺伝子座の H3K9 メチル化の低下並びに H3K4 メチル化亢進を同定した。コントロール細胞では逆になっているため、Jmjd1a を含む遺伝子群による調節機構が示唆される結果を得ている。Jmjd1a 欠損マウスが雄化に必須の因子であることを明らかにしている。これらのデータは卓越した先進性があり、十分優位性があると考えられ、ブレークスルーと言っても良いと考えられる。哺乳類の性腺の性分化をエピジェネティックな変化として捉える発想は極めてユニークである。Science に 2013 年 9 月に発表したことは高く評価されよう。

さらに性特異的なエピゲノムの解析と維持機構の解析のため、さらに Jmjd1a 以外のクロマチン修飾酵素の欠損マウスにおいても精巣萎縮があり、これらの関連が示唆される結果が出ていることから、さらにこれらの結果が性発達の関連因子群として取

り上げられつつあり、当初の目的の他に得られた成果と言える。これらも含めて、性発達とエピゲノム調節機構にかなりの特記すべき研究成果があると思われる。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(■見込まれる ・ □見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(■見込まれる ・ □見込まれない)

性分化の決定におけるエピゲノム修飾の重要性が証明され、かつその責任因子が特定されたことで、今後、その他多くの個体発生や細胞分化の制御においても同様な遺伝子制御の実証が進むと期待される。マウスでの実験が成功していることから、当然ヒトの性発達異常疾患群への関与が疑われるため、発表されれば世界中のヒト遺伝性疾患を扱うグループへ仕事が広がるものと考ええる。

医学的な面での成果も大きく、遺伝性の性発達異常による疾患群へのインパクトが大きい。Jmjd1a を含めたエピジェネティック因子の阻害剤や促進剤の開発は、製薬企業へのインパクトや家畜工学の分野に広がる効果は大きく、社会的かつ経済的な側面への影響はこれ以外にも広がる可能性は高い。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (■行われた ・ □行われなかった)

研究の遂行は論理的かつ計画的に行われていることがうかがわれる。研究代表者は平成 23 年から教授に昇任し、独立したポジションとなって研究を推進しており、今後の発展を期待できる。

中学生・高校生に特別講義を行っており、発生工学等の技術に対する社会的な理解の増進に貢献している。