

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:20-21.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 9) 生殖腺体細胞の性差構築の分子機構の解析

矢澤 隆志

ステロイドを含む性特異的なホルモンにより、からだ全体の性分化が起こる。ゆえに、性差の構築は、精巣と卵巣が、性特異的なホルモンを産生するよう分化することであると言える。これら性の決定から分化に至る一連の過程を制御しているのは生殖腺の特定の体細胞群（精巣のセルトリ細胞やライディッヒ細胞、卵巣の顆粒膜細胞や莢膜細胞）である。よって、ホルモン産生を行う生殖腺体細胞の性差を知ることは、性分化の本質を知ることになると考えられる。私は、過去の研究で成体幹細胞である間葉幹細胞から生殖腺体細胞を分化誘導する系を確立した (Yazawa et al., 2006, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2014, 2015)。そして、幹細胞由来の細胞を解析することにより、これまでに報告されていない性差を持って生殖腺に発現する遺伝子群を同定している。本研究は、これらの遺伝子のうち核内受容体のコアクチベーターとして知られる PGC-1 α の発現と機能を解析し、生殖腺体細胞の性差とその構築における役割を調べることを目的に行った。

【方 法】

1. 生殖腺における PGC-1 α の発現解析

ヒトの精巣や卵巣から抽出した RNA やタンパク質を用いて、Q-PCR やウエスタンブロットティングにより、生殖腺における PGC-1 α の発現量の解析を行った。また、免疫組織化学法により、生殖腺内における PGC-1 α の局在を調べた。

2. 生殖腺体細胞における PGC-1 α の機能解析

セルトリ細胞由来の細胞株に PGC-1 α をレトロウイルスにより、過剰発現させた後に、細胞から RNA を抽出し、RT-PCR により性分化関連遺伝子の発現変化を解析した。さらに、ルシフェラーゼベクターを用いたレポーターアッセイにより、PGC-1 α の性分化関連遺伝子の転写における機能を調べた。

【結 果】

ヒト生殖腺では、PGC-1 α 遺伝子並びにタンパク質は、精巣で非常に高いレベルで発現していた。一方、卵巣においては、発現量は非常に低く、タンパク質レベルでの検出は困難であった。PGC-1 α の精巣内における局在は、セルトリ細胞であった。in vitro で分化させたセルトリ細胞由来の細胞株に、レトロウイルスに

9) 生殖腺体細胞の性差構築の分子機構の解析

研究代表者 矢澤 隆志

【目 的】

哺乳類における性（男女・雌雄）は、胎児期に性染色体によって生殖腺が精巣になるか卵巣になるかによって決定される。生後、精巣と卵巣から産生される性

より PGC-1 α を過剰発現させたところ、Anti-Müllerian hormone (AMH) や VANIN-1 といった精巣で高く発現し、性分化に関わることが知られている遺伝子の発現が、著しく上昇した。ルシフェラーゼベクターを用いたプロモーター解析により PGC-1 α は、AMH や VANIN-1 遺伝子の 5' 上流域の核内受容体・SF-1 の結合サイトに作用して、これらの遺伝子の転写を活性化することが分かった。SF-1 結合サイトに変異を入れた解析等から、PGC-1 α による転写活性化には、SF-1 が必須であった。

【考 察】

精巣のセルトリ細胞は、未成熟な生殖腺からの精巣の形成に必須であり、AMH の産生等により生殖器の雄性化にも重要な役割を果たす。本研究により、PGC-1 α は、セルトリ細胞に高いレベルで発現し、これらの過程に関わることが示唆された。この時、PGC-1 α は、多くの核内受容体のコアクチベーターとして作用しうるが、その中でも、SF-1 への作用が重要であると考えられる。SF-1 は、AMH を含むセルトリ細胞に発現する多くの性分化遺伝子の発現に必須であることから、PGC-1 α は、SF-1 の転写活性化能を上昇させることにより、性分化関連遺伝子の発現に関わることが示唆された。

【文 献】

- 1) Yazawa T, Imamichi Y, Miyamoto K, et al.: Regulation of Steroidogenesis, Development, and Cell Differentiation by Steroidogenic Factor-1 and Liver Receptor Homolog-1. *Zoolog Sci*, 32, 323-330 (2015)
- 2) Yazawa T, Imamichi Y, Miyamoto K, et al: Overviews of Stem Cells for Gonadal and Adrenal Steroidogenic Cells. *Am J Life Sci* 3, 58-64 (2015)