

|||||
総 説
|||||

精子細胞特異的に発現するイントロンレス遺伝子について

田 中 宏 光

(長崎国際大学 薬学部 薬学科 分子生物学研究室)

Investigation of intronless genes expressed during germ cell differentiation

Hiromitsu TANAKA

(Lab. of Molecular Biology, Dept. of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Nagasaki International University)**Abstract**

Primordial Germ Cells (PGC) appear very early development and migrate to the genital ridge during ontogeny. Then, as the genital ridged differentiate, PGCs differentiate into oogonia in females and spermatogonia in males. In the testis, spermatogonia proliferate and differentiate as stem cells, after which spermatocyte differentiation and meiosis, and morphogenesis with the nuclear form of the haploid germ cell take shape, the mitochondria are rearranged in a specific manner, the flagellum develops, and the acrosome forms. It has been found that almost all genes and many specific genes are expressed in the testis containing a series of sperm cell differentiation and the cells that support it. Furthermore, it was revealed that many intron-less genes, which were caused by retrotransposition, are functioning among these genes. In this paper, we summarize the intron-less genes expressed during spermatogenesis and consider the reasons why they exist in large numbers.

Key word

Germ Cells, Retrotransposition, Chromosome, Testis, Miosis

要 旨

胚発生の非常に初期に未分化生殖細胞が生じ、個体発生の過程に生殖巣に遊走し到達する。その後、生殖巣の分化に伴って、雌では卵原細胞、雄では精原細胞へと分化する。精巣においては、精原細胞は幹細胞として増殖・分化し、その後精母細胞の分化と減数分裂、減数分裂後の半数体精子細胞特有なクロマチン形成を伴う形態形成が整然と起こる。一連の精細胞分化とそれを支える細胞を含む精巣では、ほとんどすべての遺伝子が発現し、また多くの特異的遺伝子が含まれていることが明らかにされている。さらに、それらの遺伝子の中にレトロトランスポジションによって生じたと考えられているイントロンレス遺伝子が、数多く機能していることが明らかにされた。本稿では、精子形成過程で発現するイントロンレス遺伝子についてまとめ、数多く存在する理由について考察する。

キーワード

生殖細胞、レトロトランスポジション、染色体、精巣、減数分裂

1. はじめに

受精卵は、精子と卵子から受け継がれた DNA を正確に複製し細胞増殖を繰り返す。この間、

一世代の生殖細胞の分化増殖の過程で、染色体 DNA に約70か所の塩基置換が起こるといわれている¹⁾。しかし、細胞の分化増殖中に塩基置

換が起こった生殖細胞のうち、一部の半数体細胞では、減数分裂によって塩基置換が排除される(図1)²⁾。体細胞は一定の分裂の後、死を迎えるが、細胞分裂を続ける生殖細胞にとって、相同組み換えと減数分裂は種を支えるために必須である²⁾。我々は、体細胞とは異なった生殖細胞の特徴について解析をすすめるため、雄性の生殖細胞である精子で特異的に発現する遺伝子群のクローニングを行った³⁾。その解析から、精子細胞にはイントロンレス遺伝子が多く発現機能していることが明らかになった(表1)^{2,4,5)}。

2. 精子形成

精子形成は、男性ホルモンを産生する精巣で

終生営まれる。精子形成は、精巣の中にある精細管と呼ばれる糸状の管の中で行われ、①精子細胞の幹細胞である精原細胞の増殖と分化、②精母細胞の減数分裂、③半数体精子細胞の精子への形態形成の3段階に分けることができ、様々なホルモンや局所的な増殖因子の制御のもとで進行する。精巣の切片には、精子細胞を含む精細管とその周りに存在するライディッヒ細胞が主に観察され、そのほかにリンパ管、毛細血管などの脈管系、少数のマクロファージが存在する(図2)⁶⁾。精細管壁は基底膜とそれを取りまく結合組織および繊維芽細胞より成り、さらに壁の外には、ミオイド細胞が付着している。

以前より、脳と精巣にはほとんどすべての遺伝子が発現していると言われている⁷⁾。この理

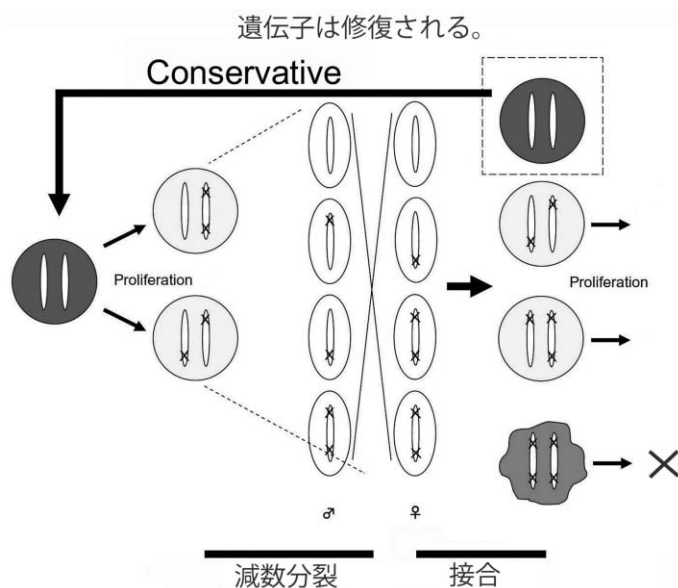


図1 減数分裂と接合

大きなゲノムをもつ生物では、細胞増殖によってDNAに変異が蓄積する。減数分裂と接合によって、DNAの変異は固定されずに修復されるものが現れ、無限の細胞の増殖が保証される(Tanaka, H., Baba, T. (2005)より改変)。

表1 マウスのタンパク質をコードする遺伝子におけるイントロンレス遺伝子の割合

発現する細胞	遺伝子の数	イントロンレス遺伝子の数	イントロンレス遺伝子の割合	文献
精子細胞特異的	246	51	20%	4
体細胞特異的および非特異的	約25,000	1,966	8%	5

由としては、脳において様々な分化細胞が存在することが考えられる。また精巣においては、精原細胞から減数分裂後の半数体の精子細胞に至る分化を支える遺伝子と、それを支持する細胞との両方の遺伝子が発現していることが、多種類の遺伝子発現の理由として考えられる。

3. 精子形成特異的遺伝子

マウスでは生まれた直後から雄性生殖細胞（精細胞）の分化が始まり、精原細胞から減数分裂を経て精巣内精子が完成するまでに35日ほどかかる。様々な臓器のcDNAライブラリーが作製され、ディファレンシャルディスプレイ、精巣特異的サブトラクティッドライブラリー、マイクロアレイなど、遺伝子解析技術の進歩とともに、精巣で特異的に発現する遺伝子が同定されてきた⁸⁾。その結果、1,000前後の特異的遺伝子が染色体上に散在し、様々な染色体から生殖細胞

特異的に遺伝子が発現していることが明らかになった⁴⁾。さらに、遺伝子破壊マウスを作製することにより、これら遺伝子の生体での機能の解析が進められ、その多くで1つの機能が失われても受精可能な精子形成が起こることが示されていた⁹⁾。このことから、個々の特異的遺伝子の生体での役割は、複数の遺伝子の機能によって相補され、生体および生殖細胞分化が維持されていることが理解できる。

4. イントロンレス遺伝子

イントロンレス遺伝子は、レトロトランスポジションによって創出される（図3）。ゲノム・プロジェクトによって、ヒト及びマウス染色体上にはおよそ2,000の機能的なレトロトランスポゾン遺伝子が存在し⁵⁾、その多くが半数体の精子細胞で発現していることが明らかになった。また、精原細胞で特異的に発現する25の遺伝子

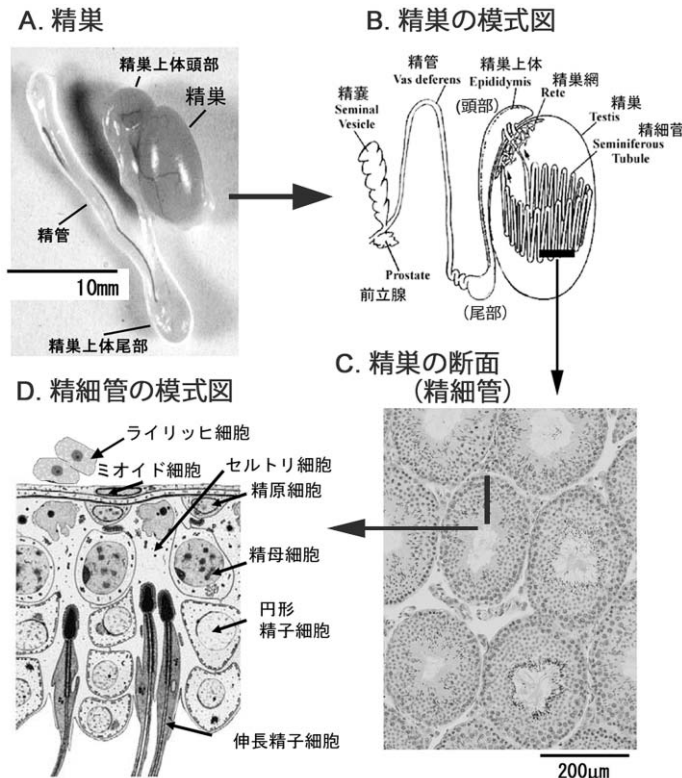


図2 精巣とその断面（田中宏光（2019）より改変）

がX染色体に存在するという報告¹⁰⁾や、X染色体を中心に、常染色体へ遺伝子のレトロトランスポジション、もしくはその逆も頻度高く起こることが示された¹¹⁾。たとえば常染色体上にある2つのイントロンレス遺伝子、ホスホグリセリン酸リン酸化酵素 (phosphoglycerate kinase-2/PGK-2) とピルビン酸脱水素酵素サブユニット $e2\alpha$ (pyruvate dehydrogenase subunit $e2\alpha$) は、X染色体上の祖先遺伝子の逆転写によるレトロトランスポジションに由来すると考えられ、精子形成過程でのX染色体不活性化を回避するために転移したといわれている¹²⁾。一方、X染色体に存在する精子形成に機能するイントロンレス遺伝子 PGAM4、NKAP-L などが同定されており^{13,14)}、X染色体の不活性化の回避と積極的なイントロン遺伝子創出との関係は不明である。

性染色体は新しい遺伝子の創造に重要な役割を果たしていると考えられている¹⁵⁾。雌性生殖細胞では常染色体と同様に2本のX染色体上での相同組み換えにより個体発生途上に起きた変異やレトロトランスポジションした遺伝子の修復が可能で、危険な変異を排除することができる。しかし、雄性生殖細胞では、X、Y染色体の差異が大きく、ほんの小さな相同領域を除い

てほとんどの領域で相同組み換えを起こさない。従って個体発生途上に起きた生殖細胞での遺伝子の変化は、減数分裂によって修復されることなく、次世代に伝わっていくしかない。このようにして、レトロトランスポゾン、イントロンレス遺伝子は、性染色体上では雄性生殖細胞経由で次世代に受け継がれ、最終的に様々な染色体に広がったのかもしれない。

また、生殖細胞特異的遺伝子にイントロンレス遺伝子が多く機能している理由として、以下の考えが成り立つのではないかと考えられる。レトロトランスポジションなどを含むDNAの変異は、個体発生の様々な細胞で起こる。しかしながら、次の世代に引き継がれるためには、胚発生の初期に運命づけられた生殖細胞でDNAの変異が起こる必要がある。特に、レトロトランスポジションで考えた場合、生殖細胞で発現している、すなわち mRNA として転写された遺伝子に対してのみ起こることになる。生殖細胞で発現している遺伝子が、オリジナルの遺伝子に加えて2つ目の遺伝子としてトランスポジションし機能したとき、オリジナルの遺伝子が生殖細胞で機能していた遺伝子であることから、体細胞で発現し機能を獲得するよりも生殖細胞で発現機能し、その後、機能する遺伝子として適合するこ

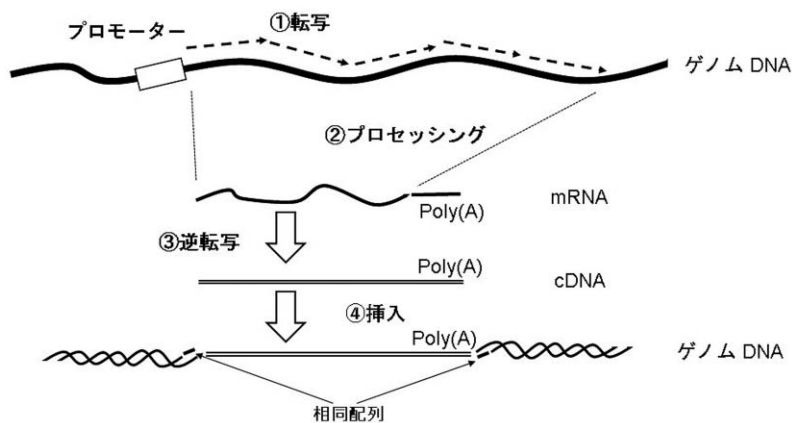


図3 レトロトランスポジション

転写された mRNA から逆転写酵素によって cDNA が作られ、転写されたゲノムとは別の場所に挿入される。挿入された DNA には poly(A) 付加され、断片の両脇には、連結時の修復によって相同な配列が生じる。

との方がより容易ではないかと考えられる。また、精子細胞において、細胞質がほとんど失われ、核では染色体の大部分がヒストンからプロタミンに置き換わり、スプライシングの活性が弱まる²⁾。このような細胞の特殊な細胞分化過程においてイントロンレス遺伝子は、遺伝子の発現・制御に適しているのかもしれない。

実際、精子細胞では、グルコースからアセチル CoA までの解糖系のほとんどすべての段階で体細胞型酵素とは異なった精子細胞特異的なアイソザイムのイントロンレス遺伝子が発現している (図4)²⁾。さらに、エネルギー代謝酵素をコードするイントロンレス SCOT-t 遺伝子も同定されている¹⁶⁾。

また、特徴的なイントロンレス遺伝子として HASPIN 遺伝子が興味深い¹⁷⁾。HASPIN は、ヒストンリン酸化タンパク質で、細胞分裂時の染色体分配に機能する重要な役割を果たしている¹⁸⁾。HASPIN 遺伝子は、魚類ではイントロンを含む遺伝子が存在するだけであるが、両生類

ではイントロンレス遺伝子を用いるものとイントロンを含む遺伝子を用いるものが存在する。哺乳類ではイントロンレス遺伝子としてインテグリン αE のイントロンに存在し¹⁷⁾、イントロンのある HASPIN 遺伝子は偽遺伝子化している。爬虫類・鳥類では、種によってイントロンレス HASPIN が機能しているが、染色体上の HASPIN 遺伝子の存在する周辺の遺伝子の様相が異なっている。HASPIN イントロンレス遺伝子の染色体上のふるまいの解析は、生物の進化の過程を考察するのに役立つものと考えられる。

5. おわりに

今後、様々な生物のゲノムの一次構造が明らかにされ、種間で比較することにより、イントロンレス遺伝子の起源も明らかになる。生殖細胞が初期に分化することの必要性など、減数分裂以外の特徴の意味が明らかにされることが期待される。

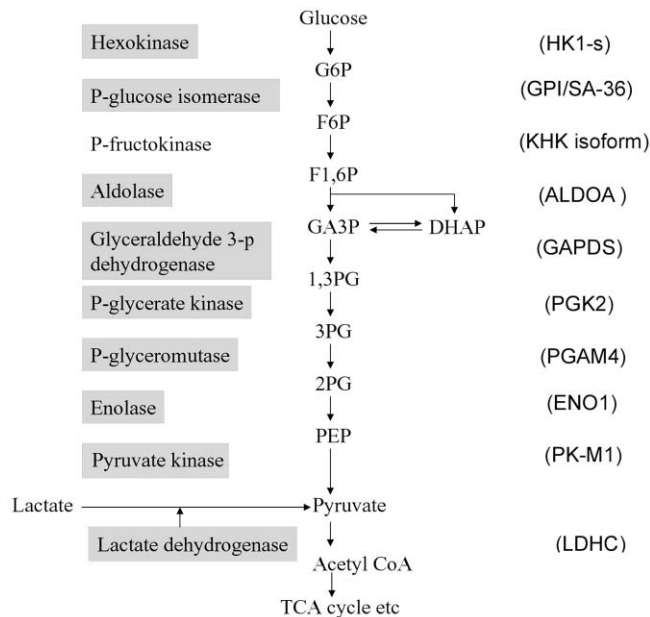


図4 解糖系に関する遺伝子群

左側に酵素名を示す。灰色の酵素は、精子細胞特異的なアイソザイムが発現している。() 内にアイソザイムの遺伝子名を示す。KHK isoform は、複数の臓器で発現が観察されている。(Tanaka, H., Baba, T. (2005) より改変)。

引用文献

- 1) Furusawa, M. (2014) 'The disparity mutagenesis model predicts rescue of living things from catastrophic errors.' *Front Genet.* 5, P. 421.
- 2) Tanaka, H., Baba, T. (2005) 'Gene expression in spermiogenesis.' *Cell Mol Life Sci.* 62, PP. 344-354.
- 3) Tanaka, H., Yoshimura, Y., Nishina, Y., Nozaki, M., et al. (1994) 'Isolation and characterization of cDNA clones specifically expressed in testicular germ cells.' *FEBS Lett.* 355, PP. 4-10.
- 4) Kato, Y., Nozaki, M. (2012) 'Distinct DNA methylation dynamics of spermatogenic cell-specific intronless genes is associated with CpG content.' *PLoS One* 7, P. e43658.
- 5) Sakharkar K.R., Sakharkar M.K., Culiati C.T., et al. (2006) 'Functional and evolutionary analyses on expressed intronless genes in the mouse genome.' *FEBS Lett.* 508, PP. 1472-1478.
- 6) 田中宏光 (2019) '精子形成における遺伝子多型' 腎臓内科・泌尿器科 10, PP. 546-553.
- 7) Guo, J., Zhu, P., Wu, C., Yu, L., et al. (2003) 'In silico analysis indicates a similar gene expression pattern between human brain and testis.' *Cytogenet Genome Res.* 103, PP. 58-62.
- 8) Fujii, T., Tamura, K., Masai, K., Tanaka, H., et al. (2002) 'Use of stepwise subtraction to comprehensively isolate mouse genes whose transcription is up-regulated during spermiogenesis.' *EMBO Rep.* 3, PP. 367-372.
- 9) Miyata, H., Castaneda, J. M., Fujihara, Y., Yu, Z., et al. (2016) 'Genome engineering uncovers 54 evolutionarily conserved and testis-enriched genes that are not required for male fertility in mice.' *Proc Natl Acad Sci.* 113, PP. 7704-7710.
- 10) Wang, P. J., McCarrey, J. R., Yang, F., Page, D. C. (2001) 'An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia.' *Nat Genet.* 27, PP. 422-426.
- 11) Emerson, J. J., Kaessmann, H., Betran, E., Long, M. (2004) 'Extensive gene traffic on the mammalian X chromosome.' *Science* 303, PP. 537-540.
- 12) McCarrey, J. R., Thomas, K. (1987) 'Human testis-specific PGK gene lacks introns and possesses characteristics of a processed gene.' *Nature* 326, PP. 501-505.
- 13) Okuda, H., Tsujimura, A., Irie, S., Yamamoto, K., et al. (2012) 'A single nucleotide polymorphism within the novel sex-linked testis-specific retrotransposed PGAM4 gene influences human male fertility.' *PLoS One* 7, P. e35195.
- 14) Okuda, H., Kiuchi, H., Takao, T., Miyagawa, Y., et al. (2015) A novel transcriptional factor Nkapl is a germ cell-specific suppressor of Notch signaling and is indispensable for spermatogenesis. *PLoS One* 10, P. e0124293.
- 15) Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P. J., Cordum, H. S., et al. (2003) 'The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes.' *Nature* 423, PP. 825-837.
- 16) Koga, M., Tanaka, H., Yomogida, K., Nozaki, M., et al. (2000) 'Isolation and characterization of a haploid germ cell-specific novel complementary deoxyribonucleic acid; testis-specific homologue of succinyl CoA: 3-Oxo acid CoA transferase.' *Biol Reprod.* 63, PP. 1601-1609.
- 17) Yoshimura, Y., Tanaka, H., Nozaki, M., Yomogida, K., et al. (2001) 'Nested genomic structure of haploid germ cell specific haspin gene.' *Gene* 267, PP. 49-54.
- 18) Wang, F., Dai, J., Daum, J. R., Niedzialkowska, E., et al. (2010) 'Histone H3 Thr-3 phosphorylation by Haspin positions Aurora B at centromeres in mitosis.' *Science* 330, PP. 231-235.