

## 動植物の精子変態過程におけるオートファジーの役割

法月拓也<sup>1,2</sup>・南野尚紀<sup>2</sup>・上田貴志<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

<sup>2</sup> 基礎生物学研究所 細胞動態研究部門

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38

<sup>3</sup> 総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38

Takuya Norizuki<sup>1,2</sup>, Naoki Minamino<sup>2</sup> and Takashi Ueda<sup>2,3</sup>

### Roles of autophagy during spermiogenesis in animals and plants

Key words: autophagy, evolution, organelle remodeling, spermatozoid, spermiogenesis,

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo, 7-3-1

Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033, Japan

<sup>2</sup>Division of Cellular Dynamics, National Institute for Basic Biology, Nishigonaka 38, Myodaiji,

Okazaki, 444-8585 Japan

<sup>3</sup>Department of Basic Biology, School of Life Sciences, Graduate School for Advanced Studies,

Nishigonaka 38, Myodaiji, Okazaki, 444-8585 Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.9a4.00130

### 1. はじめに

生殖はすべての生物において存続の基盤となる重要な生命現象である。無性生殖が遺伝的に同質な次世代個体を生ずるのに対して、有性生殖においては両親（配偶子提供者）とは遺伝的に質の異なる次世代個体を生ずる。そのため有性生殖は、多くの真核生物で遺伝子構成の多様性を増加させる仕組みとしてはたらいっている。有性生殖は配偶子間の形態の違いから同形配偶子接合と異形配偶子接合に分けることができ、異形配偶子接合の中でも、精子（運動性の小型の雄性配偶子）と卵（非運動性の大型の雌性配偶子）を介した接合様式が多くの動植物で用いられている。

哺乳類の精子形成においては、体細胞分裂によって多数の精母細胞（2n）が形成され、それが減数分裂することで精細胞（n）が形成される（図 1A）。その後精細胞は大規模な形態変化を経て精子へと成熟する。一方コケ植物であるゼニゴケ（*Marchantia polymorpha*）では、単相の雄性生殖器に納められた造精子器において分裂方向が直交する細胞分裂により多くの精原細胞（spermatogenous cell, n）が形成され、最後の直交分裂により多数の精母細胞（spermatid mother cell, n）となる（コケ植物では減数分裂は孢子形成の過程で起こる）。その後精母細胞の細胞壁に対し分裂面が斜めに入る細胞分裂がおこり、精細胞（spermatid, n）が形成される（Shimamura, 2016）。その後精細胞は大規模な形態変化と運動性の獲得を通じて、細長い螺旋型の細胞体と2本の鞭毛をもつ精子（spermatozoid）へと変態する（図 1B）。このコケ植物の精子変態過程における大規模な細胞内構造の変化は、主に電子顕微鏡を用いた観察によって明らかにされてきた（Renzaglia

&Garbary, 2001)。しかしその分子機構にはいまだ明らかになっていない部分が多い。

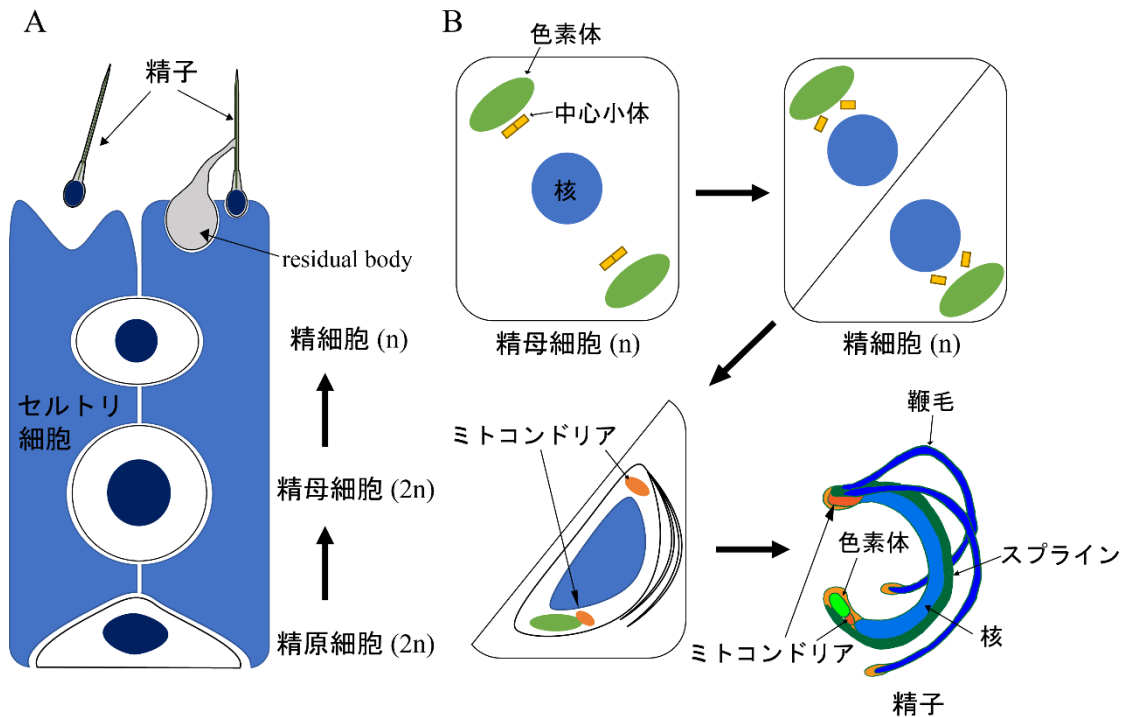


図 1. 動植物における精子形成過程

(A) 哺乳類における精子形成過程。体細胞分裂によって精原細胞 (2n) から精母細胞 (2n) が形成され、それが減数分裂することで精細胞 (n) が形成される。その後、余剰な細胞質が residual body としてセルトリ細胞によって除去されるなどして、精子へと変態する。図は (O'Donnell et al., 2011; Yoshida, 2008) を基に作成。

(B) ゼニゴケにおける精子形成過程。体細胞分裂によって精母細胞 (n) が形成され、精母細胞の細胞壁に対して分裂面が斜めに入る細胞分裂によって精細胞 (n) が形成される。精細胞は余剰な細胞質が除去されるなどして、精子へと変態する。図は (Shimamura, 2016) を基に作成。

オートファジーは真核生物で広く保存され、細胞質中のタンパク質やオルガネラを液胞/リソソームへ運び、分解・リサイクリングする仕組みである。様々なタイプのオートファジーがこれまでに報告されているが、その中でもマクロオートファジーの解析が最も進んでいる。マクロオートファジー (以後オートファジーと称す) では、細胞質中に形成された隔離膜の両端が細胞質を取り囲みながら伸長し、二重膜のオートファゴソームが形成される。オートファゴソームの外膜が液胞/リソソーム膜と融合することで、液胞/リソソーム内に一重膜のオートファジックボディーが放出され、最終的に液胞/リソソーム内の加水分解酵素によって分解される。酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた研究により、オートファジーに関わる多くの遺伝子 (ATG 遺伝子) が同定され、その機能が明らかにされてきた (Mizushima et al., 2011)。その後動植物においても、ATG 遺伝子のホモログに注目した逆遺伝学的解析が展開され、オートファジーが様々なタンパク質やオルガネラの分解を介して、発生やストレス応答など動植物の様々な生命現象に密接に関わっていることが明らかにされている (Mizushima & Komatsu, 2011; Yang & Bassem, 2015)。動植物の精子変態過程における大規模な細胞内構造の変化とオートファジーの関連は長い間不明で

あったが、近年精子変態においてオートファジーが果たす役割も明らかになりつつある (Liu et al., 2017; Sanchez-Vera et al., 2017; Shang et al., 2016; Wang et al., 2014)。そこで本稿では、動物と植物の精子変態とオートファジーの関連を概観する。前半ではまず、マウス (*Mus musculus*) の精子変態過程におけるオートファジーの機能についてこれまで得られている知見を紹介する。後半では、著者らが注目しているコケ植物の精子変態過程におけるオートファジーの重要性について、精子の形態や発生といった基本的な知見を交えて紹介する。

## 2. マウスの精子変態過程におけるオートファジーの機能

マウスの精子形成過程において、オートファゴソームマーカーとして使われている LC3 (ATG8 のホモログ) やオートファゴソーム形成に必要な ATG7 の発現を調べたところ、変態前の精細胞ではこれらがあまり発現せず、精子へ変態している途中の精細胞で強く発現していることが示された (Shang et al., 2016)。このことから、オートファジーは精細胞の形成過程でなく精子変態過程で重要なはたらきを担うことが示唆された。

マウスでは多くの *atg* 変異体が出生後まもなく致死となるため (Cheong et al., 2014; Komatsu et al., 2005; Kuma et al., 2004; Saitoh et al., 2009; Saitoh et al., 2008; Sou et al., 2008), これらの変異体を用いて精子変態過程におけるオートファジーの役割を解析することは不可能である。そこで生殖細胞特異的に *atg7* を欠失させた変異体を作成したところ、この変異体では精子の数が著しく少なく、形成された精子の頭部や尾部の形態や運動性が異常となり、不稔となることが明らかになった。また先体形成や細胞骨格関連の構造 [軸糸の 9+2 構造やマンシェット (*manchette*), アクチンフィラメント], 細胞質の除去にも異常が観察された (Shang et al., 2016; Wang et al., 2014)。先体は動物の精子のみに見られる、精子が卵膜を通過して卵の細胞膜に到達し受精するために必要な細胞内構造である。先体は pH が低く、リソソームに含まれるカテプシン D やカテプシン H などを含むことから、リソソーム関連オルガネラ (LRO) の一種と考えられている (Moreno & Alvarado, 2006)。先体は精子変態時にゴルジ体由来の前先体顆粒 (*proacrosomal granule*) が融合することによって形成される (Moreno & Alvarado, 2006)。またゴルジ体からの経路以外に、エンドサイトーシス経路も先体形成に寄与することが報告されている (Berruti & Paiardi, 2011)。Atg7 を欠失した生殖細胞では前先体顆粒が融合できず細胞質中に蓄積しており、正常な先体が形成されない。また先体形成過程でゴルジ体から先体へ輸送されゴルジ体由来の小胞の融合に関わる GOPC の輸送も異常になっていた。また phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 阻害剤 (PI3K はオートファゴソーム形成において重要なはたらきを担うため、PI3K 阻害剤を加えるとオートファジーが阻害される) である 3-MA や、オートファゴソームとリソソームの融合を阻害すると考えられる chloroquine (Mauthe et al., 2018) を処理しても、先体形成が異常になる。またオートファゴソームマーカーである LC3 は先体形成時に ATG7 依存的にゴルジ体由来の小胞と共局在する。以上のことから、先体形成にオートリソソームのはたらきが必要であることが示唆される (Wang et al., 2014) (図 2)。また LC3 や ATG7 を脱アセチル化することでオートファジーを正に制御していることが知られている Sirt1 は、先体形成においても LC3 や ATG7 の脱アセチル化を介して先体形成を正に制御している (Huang et al., 2015; Lee et al., 2008; Liu et al., 2017)。先体が LRO であることも合わせ、こ

これらの結果はオートファゴソームをリソソームへと輸送する仕組みが、動物の進化の過程で先体形成にリクルートされたことを示していると考えられる。

マンシレットは微小管やアクチンを含み、精子変態過程で一過的に形成される細胞内構造である (Fawcett et al., 1971; Kierszenbaum et al., 2003; Mochida et al., 1998; Mochida et al., 1999) (図 2)。核膜と密に近接し、核の変形が終了するとマンシレットが消失することから、核の変形に関与していると考えられている (Russell et al., 1991)。またマンシレット付近に小胞が観察され、モータータンパク質がマンシレット上に局在することから、中心体や尾部への物質の輸送も担っていると考えられている (Fawcett et al., 1971; Kierszenbaum, 2002; Kierszenbaum et al., 2003; Yoshida et al., 1994)。マンシレットを始めとする細胞骨格構造に異常が見られる変異体の精子は *atg7* 変異体の精子と表現型が類似することから、Shang らは精子の頭部や尾部の形態や細胞質の除去の異常といった *atg7* 変異体の精子の異常が細胞骨格の異常に起因するものと推察している (Shang et al., 2016)。*atg* 変異体による細胞骨格の異常はマウス胎児由来線維芽細胞 (Mouse embryonic fibroblast, MEF) などでも観察される (Zhuo et al., 2013)。そこで *Atg7*<sup>-/-</sup>MEF で過剰に蓄積しているタンパク質を質量分析で調べたところ、PDLIM1 が同定された (Shang et al., 2016)。PDLIM1 は  $\alpha$ -actinin や palladin と相互作用し、アクチンフィラメントを制御していると考えられている (Hasegawa et al., 2010; Ohno et al., 2009; Tamura et al., 2007)。MEF において PDLIM1 を過剰発現するとアクチンフィラメントや微小管の配向に異常が見られることや、PDLIM1 をノックダウンすることで *Atg7*<sup>-/-</sup>MEF の細胞骨格の異常が部分的に回復することから、PDLIM1 は細胞骨格を負に制御しており、これがオートファジーによって分解されることで、細胞骨格が正常に配向できると考えられた (Shang et al., 2016)。*atg7* 変異体の精細胞においても PDLIM1 が蓄積しており、野生型の精細胞ではリソソームへ輸送される PDLIM1 が *atg7* 変異体ではリソソームへ運ばれない。このことから、精子変態過程においても PDLIM1 は細胞骨格の配向を負に制御しており、オートファジーを介して PDLIM1 を分解することが細胞骨格の正常な配向に必要であると考えられる (Shang et al., 2016) (図 2)。

しかしながら、アクチンフィラメントの制御を行なっていると考えられている PDLIM1 がどのようにして軸系の 9+2 構造やマンシレット構造に関わるのかはいまだ不明である。オートファジーは鞭毛形成だけでなく、一次繊毛形成を制御していることも報告されている (Tang et al., 2013)。LC3 の新奇相互作用因子を同定する試みにより、OFD1 が候補因子として同定された (Tang et al., 2013)。OFD1 は口顔指症候群 I 型 (Oral-Facial-Digital Syndrome Type I, OFD1) と呼ばれる繊毛病の原因遺伝子と考えられており、OFD1 は中心小体や centriolar satellite と呼ばれる中心小体近傍の電子密度の高い領域、および基底小体や一次繊毛のストーク部分にも局在し、一次繊毛の形成に必要な因子である (Ferrante et al., 2001; Ferrante et al., 2006; Lopes et al., 2011; Romio et al., 2004; Singla et al., 2010)。オートファジーは一次繊毛形成を負に制御すると考えられる centriolar satellite 上の OFD1 を分解することによって、一次繊毛形成を正に制御していると考えられる (Tang et al., 2013)。OFD1 が精子変態過程にも関与するかは明らかになっていないが、オートファジーが PDLIM1 以外の細胞骨格などの制御因子を分解することで、精子変態過程における細胞骨格を始めとする細胞内構造のリモデリングの制御を行なっている可能性も考えられる。

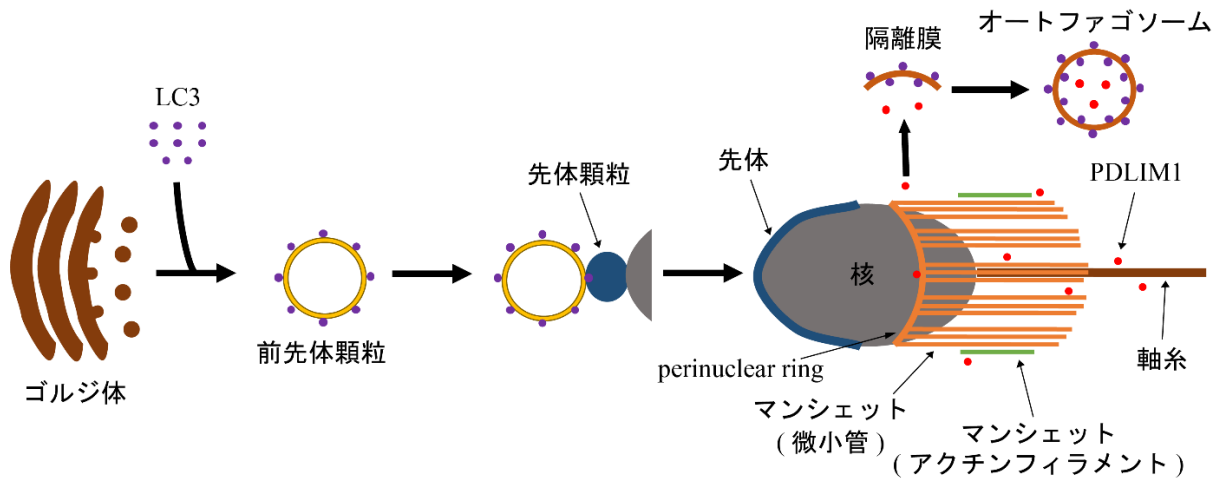


図 2. マウスの精子変態過程におけるオートファジーの機能

マウスの精子変態過程において、オートファジーは先体形成と細胞骨格の制御に関わると考えられている。先体形成においては、前先体顆粒が融合し先体を形成する過程でオートリソソームが重要なはたらきを担うと考えられる (Wang et al., 2014)。一方オートファジーは細胞骨格を負に制御する PDLIM1 を分解することにより、細胞骨格の配向を正に制御していると考えられる (Shang et al., 2016)。図は (Shang et al., 2016; Wang et al., 2014) を基に作成。

### 3. コケ植物の精子変態過程におけるオートファジーの機能

被子植物や多くの裸子植物において雄性配偶子は非運動性であり、花粉管を介して雌性配偶子のもとへ運ばれる。一方、シヤジクモ類、コケ植物、シダ植物および一部の裸子植物 (イチョウやソテツなど) においては鞭毛を持つ運動性の雄性配偶子 (精子) を形成する (イチョウやソテツの精子の発見は JPR の前身である植物学雑誌で報告された。 <http://bsj.or.jp/jpn/JPR/digital/> を参照。) (図 3)。動物の精子と比較して、ストレプト植物の精子は鞭毛が複数存在するのが特徴である。細胞体の形態や鞭毛の数、細胞内構造の構成はシヤジクモ類、コケ植物、シダ植物、裸子植物で非常に多様であり、シヤジクモ類やコケ植物の精子は 2 本の、イチョウの精子は 1000 本近い数の鞭毛を持つ (Renzaglia & Garbary, 2001) (図 3)。本稿ではコケ植物の精子変態過程における細胞内構造の変化に特に焦点を絞り、これまで得られている知見を紹介する。

コケ植物の精子形成過程および成熟した精子の模式図を図 1B に示す。コケ植物の成熟した精子には鞭毛が頭部に 2 本存在し、これらは他の生物の鞭毛と同様に 2 本の中心対微小管とその周囲を取り囲むように配置された 9 本の周辺微小管からなる「9+2 構造」の軸糸をもつ。鞭毛の基部には基底小体が存在し、これは精母細胞から精細胞が形成される過程で新規に出現した中心小体から形成される。細胞体は哺乳類の精子同様大部分の細胞質が除去された細長い形態をとるが、螺旋構造を取る点で哺乳類の精子と異なっている。核は細胞体内の大部分を占め、精子変態過程で細長く変形する。核の内部ではヒストンがプロタミン様タンパク質に置換され、クロマチンの凝集が起こる。スプラインと呼ばれる微小管構造が核に沿って存在し、これが細胞体の螺旋構造の骨格となっていると考えられている。またミトコンドリアが頭部と尾部に 1 つずつ存在し、色素体は尾部に 1 つ存在する。色素体では精子形成過程でチラコイド膜が崩壊し、デンプン粒が蓄積する。このデンプン粒を含む色素体はシヤジクモ類、コケ植物、シダ植物の精子に広く見られるが、裸子植物の精子では見られない。デンプン粒を含む色素体は精子が運動をする際の balan

サーとしてはたらくと考えられているが、詳細な機能は未解明である。小胞体やゴルジ体などのオルガネラは精子では観察されない (Renzaglia & Garbary, 2001; Shimamura, 2016) (図 1B)。

これらの形態学的な知見は古くから電子顕微鏡観察により得られていたが、精子形成の分子機構に関する知見は長らくほとんど皆無であった。しかし近年になり、コケ植物タイ類に属するゼニゴケの分子遺伝学的解析ツールが整備され (Bowman et al., 2017), それに伴って精子形成過程のライブイメージング解析が可能となった (Minamino et al., 2017)。その結果ゼニゴケの精子変態の過程でゴルジ体やエンドソームが液胞へ運ばれて分解される様子が観察され、さらに液胞も精子の細胞体から最終的に除去されることが明らかとなった。これらのことから、精子変態過程では細胞質やオルガネラは液胞へ運ばれて分解され、最終的に液胞を何らかの仕組みにより取り除くことで、細胞質基質や不要なオルガネラが除去されることが明らかとなった (Minamino et al., 2017)。興味深いことに、ゼニゴケの精子変態過程では細胞質中に多数のオートファゴソーム様構造が観察される。このことから、余剰な細胞質やオルガネラをオートファジーによって液胞へ運んでいることが示唆される (Minamino et al., 2017)。この仮説と合致するように、ゼニゴケの *atg* 変異体では余剰な細胞質を残した精子が観察される (法月, 未発表)。

またセン類に属するヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) においてもオートファジーが精子変態過程で重要なはたらきをもつことが報告されている (Sanchez-Vera et al., 2017)。*PpATG8e* は精原細胞の分裂が見られるステージ 4 あたりで発現し始め、精細胞が形成されるステージ 6 で強く発現する。ステージ 7, 8 と精子変態が進むにつれて次第に発現量は減少し、ステージ 8 から 9 の精子が完全に成熟するあたりでは *PpATG8e* の発現が確認できなくなる。このことから精子変態の過程で一過的にオートファジーが活発に起こることが示唆される。オートファジーの機能が欠損した *Ppatg5* 変異体や *Ppatg7* 変異体の精子は不稔になり、余剰な細胞質が観察され、核の形態も異常となる。電子顕微鏡による *Ppatg5* 変異体の精子形成過程の観察から、精子変態が始まる以前の精細胞は大きな異常が観察されない一方で、精子変態期の精細胞においては、ミトコンドリアや色素体の数やサイズ、鞭毛の軸糸構造にも異常が観察される (Sanchez-Vera et al., 2017)。このことからヒメツリガネゴケの精子変態過程における様々な細胞内構造のリモデリングに、オートファジーが寄与していると考えられる。

前節に述べた通り、マウスの *atg7* 変異体では微小管やアクチンフィラメントの構造が異常となり、その結果二次的に細胞質の除去に異常が生じると考えられている (Shang et al., 2016)。同様にヒメツリガネゴケやゼニゴケにおいても細胞骨格などの制御因子の分解を介して、オートファジーが精子変態過程における細胞内構造のリモデリングを制御している可能性が考えられる (図 4)。また別の可能性として、それぞれのオルガネラの分解を直接オートファジーが制御している可能性も考えられる (図 4)。この仮説と合致するように、ゼニゴケの精子変態過程においてゴルジ体が液胞内部で観察される (Minamino et al., 2017)。核やミトコンドリア、色素体 (葉緑体) など、様々なオルガネラがオートファジーにより選択的に分解されることが様々な生物で報告されている (Fukuda & Kanki, 2018; Izumi & Nakamura, 2018; Peng & Lavker, 2016)。ゼニゴケやヒメツリガネゴケの精子変態過程においても同様にオルガネラがオートファジーによって分解されているのかどうか、今後の解析が待たれる。



	運動性の鞭毛を持つ 精子を形成するか	鞭毛の本数	細胞質の除去
被子植物	×	-	-
裸子植物	△	イチヨウの精子は約 1000 本、 ソテツの精子では 2500 ~ 50000 本	ほとんど除去されない
シダ植物	○	小葉シダ類の多くは 2 本だが、 大葉シダ類では 36 ~ 150 本	多くの小葉シダでは大部分が除去されるが、 大葉シダではコケ植物ほど除去されない
コケ植物	○	2 本	大部分が除去される
シャジクモ類	○	2 本	大部分が除去される

図 3. ストレプト植物の雄性配偶子の特徴

被子植物は運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子を形成しない。一方シャジクモ類、コケ植物、シダ植物および一部の裸子植物は、運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子を形成する。鞭毛の数や精子変態過程における細胞質の除去の程度は、植物間で大きく多様化している。○: 運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子を形成する, △: 一部の種で運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子を形成する, ×: 運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子を形成しない。(Renzaglia & Garbary, 2001) を基に作成。

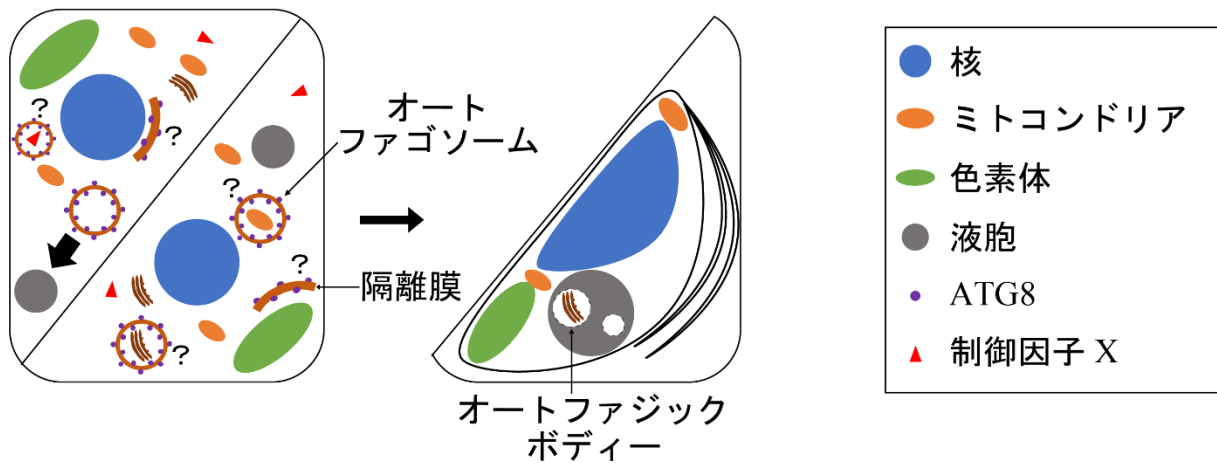


図 4. コケ植物の精子変態過程におけるオートファジーを介した細胞内構造のリモデリング

Sanchez-Vera らや著者らによってヒメツリガネゴケやゼニゴケでオートファジーが精子変態過程における細胞内構造のリモデリングに寄与することが明らかになった (Sanchez-Vera et al., 2017; 法月, 未発表)。オートファジーの基質はいまだ不明であるが、液胞内部にオートファジックボディーやゴルジ体が観察される (Minamino et al., 2017) ことから、オートファジーはゴルジ体やほかのオルガネラを液胞へと輸送することで、細胞内構造のリモデリングに寄与していると考えられる。

#### 4. 今後の展望

植物の精子は古くから電子顕微鏡を用いて観察され、その形態や発生過程について詳細に記述されてきた。一方でその分子機構の研究は、近年に至るまでほとんど行なわれてこなかった。そ

の原因として、植物の分子生物学的・細胞生物学的研究の多くが精子を形成しないシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) で行なわれ、ゼニゴケやヒメツリガネゴケを含む基部陸上植物を用いた研究が非常に少なかったことがあげられる。オートファジーがコケ植物の精子変態過程で必要であることは前節で述べたが、オートファジーの解析はシロイヌナズナにおいてもいまだ酵母や動物のオートファジー研究の域には及んでおらず、コケ植物を用いたオートファジーの研究はようやく黎明を迎えたばかりである (Mukae et al., 2015; Sanchez-Vera et al., 2017)。今後精子変態におけるオートファジーの機能をより詳細に明らかにするためには、変異体や可視化マーカー等の解析ツールを充実させるとともに、シロイヌナズナを含む植物におけるオートファジーの知見の拡充が必要である。著者らはゼニゴケを用いたオートファジーの研究を展開することで、これらの問題点の克服を目指しつつ、精子変態過程におけるオートファジーの機能を明らかにしようと研究を行なっている。

精子変態における余剰な細胞質の除去は動植物において広く見られるが、その機構は多様である。哺乳類においては隣接するセルトリ細胞の貪食作用によって精細胞の細胞質が除去される (O'Donnell et al., 2011) (図 1A)。キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) においては、investment cone と呼ばれるアクチンフィラメントを含む構造が精子の頭部から尾部に向かって移動する過程で、細胞質や不要なオルガネラが cystic bulge と呼ばれる構造内に取り込まれ、最終的に waste bag として精子から取り除かれる (Fabian & Brill, 2012)。またヒメツリガネゴケにおいては、オートファジーによって細胞自律的に細胞質が除去される (Sanchez-Vera et al., 2017)。運動性の鞭毛を持つ雄性配偶子は動物と植物で独立に獲得され進化してきたと考えられており、その形成機構が生物の系統間で異なっても不思議はない。しかしながら、哺乳動物とコケ植物の精子には細胞質を極限まで除去した形態や鞭毛による運動性などの共通点も存在し、さらに動物や植物のそれぞれの系統内でも精子形態が多様化している。さまざまな生物の精子変態機構を明らかにすることで、精子にこれらの共通性と多様性がもたらされた仕組みと意義が明らかになっていくであろう。

コケ植物の精子における興味深いオルガネラの特徴として、ミトコンドリアの数があげられる。体細胞の多くには多数のミトコンドリアが存在するが、精子変態の過程ではミトコンドリアが 2 つにまで減少する (Renzaglia & Garbary, 2001; Shimamura, 2016) (図 1B)。一方同じストレプト植物に属するシャジクモ類や多くのシダ植物の精子には、多数のミトコンドリアが存在することが知られている (Renzaglia & Garbary, 2001)。動物の精子においても、多様なミトコンドリアの特徴が観察されている。哺乳類では鞘状のミトコンドリアが精子の中片部に存在する (Ho & Wey, 2007)。キイロショウジョウバエの精子ではミトコンドリアが軸糸や核に沿う形で 1 つのみ存在する (Fabian & Brill, 2012)。また Urodasys 属においてミトコンドリアを含まない精子をもつ種も確認されている (Balsamo et al., 2007)。以上のように生物種によってミトコンドリアの数や形態に違いが見られるが、この違いがなぜ生じたのかは不明である。前節で述べた通り、ヒメツリガネゴケの精子変態過程では、ミトコンドリアの数がオートファジーにより制御されることが報告されている (Sanchez-Vera et al., 2017)。しかし分子機構はいまだ不明である。仮にオートファジーがミトコンドリアを直接分解しているとしたら、どのようにして分解するミトコンドリアと分解しないミトコンドリアを識別しているのだろうか。近年オートファジーはバルクの分解に加え、選択的



に基質を認識し分解する役割を担うこと (選択的オートファジー) が明らかにされている。しかしながら植物における選択的オートファジーの分子機構に関する知見はいまだ限定的である。今後の研究によって、オートファジーがどのようにして精子変態過程における細胞内構造のリモデリングに関与しているのかが明らかになるであろう。また明らかになった分子機構を基にその変異体を作成し、そのような精子にどのような影響が生じるかを調べることで、精子におけるミトコンドリアの数の制御の生物学的意義が解明出来るかもしれない。

植物の精子形成の分子細胞生物学的解析は始まったばかりである。オートファジーに注目した研究を通して植物の精子形成機構に対する理解を深めることで、植物における雄性配偶子の進化と多様化の理解に貢献したい。

## 5. 謝辞

本稿の執筆の機会を提供していただいた明治大学の吉本光希博士，ならびに研究の遂行にあたりお世話になった京都大学の河内孝之博士，西浜竜一博士，基礎生物学研究所の真野昌二博士，金澤建彦博士にこの場を借りて深く感謝する。

## 6. 引用文献

- Balsamo, M., L. Guidi, L. Pierboni, R. Marotta, M.A. Todaro, & M. Ferraguti. 2007. Living without mitochondria: spermatozoa and spermatogenesis in two species of Urodasya (Gastrotricha, Macrotrichida) from dysoxic sediments. *Invertebr Biol.* 126: 1-9.
- Berruti, G. & C. Paiardi. 2011. Acrosome biogenesis: Revisiting old questions to yield new insights. *Spermatogenesis*. 1: 95-98.
- Bowman, J.L., T. Kohchi, K. T. Yamato, J. Jenkins, S. Shu, K. Ishizaki, S. Yamaoka, R. Nishihama, Y. Nakamura, F. Berger, C. Adam, S.S. Aki, F. Althoff, T. Araki, M.A. Arteaga-Vazquez, S. Balasubramanian, K. Barry, D. Bauer, C.R. Boehm, L. Briginshaw, J. Caballero-Perez, B. Catarino, F. Chen, S. Chiyoda, M. Chovatia, K.M. Davies, M. Delmans, T. Demura, T. Dierschke, L. Dolan, A.E. Dorantes-Acosta, D.M. Eklund, S.N. Florent, E. Flores-Sandoval, A. Fujiyama, H. Fukuzawa, B. Galik, D. Grimanelli, J. Grimwood, U. Grossniklaus, T. Hamada, J. Haseloff, A.J. Hetherington, A. Higo, Y. Hirakawa, H.N. Hundley, Y. Ikeda, K. Inoue, S.I. Inoue, S. Ishida, Q. Jia, M. Kakita, T. Kanazawa, Y. Kawai, T. Kawashima, M. Kennedy, K. Kinose, T. Kinoshita, Y. Kohara, E. Koide, K. Komatsu, S. Kopschke, M. Kubo, J. Kyojuka, U. Lagercrantz, S.S. Lin, E. Lindquist, A.M. Lipzen, C.W. Lu, E. De Luna, R.A. Martienssen, N. Minamino, M. Mizutani, M. Mizutani, N. Mochizuki, I. Monte, R. Mosher, H. Nagasaki, H. Nakagami, S. Naramoto, K. Nishitani, M. Ohtani, T. Okamoto, M. Okumura, J. Phillips, B. Pollak, A. Reinders, M. Rovekamp, R. Sano, S. Sawa, M.W. Schmid, M. Shirakawa, R. Solano, A. Spunde, N. Suetsugu, S. Sugano, A. Sugiyama, R. Sun, Y. Suzuki, M. Takenaka, et al. 2017. Insights into Land Plant Evolution Garnered from the *Marchantia polymorpha* Genome. *Cell*. 171: 287-304 e215.
- Cheong, H., J. Wu, L.K. Gonzales, S.H. Guttentag, C.B. Thompson, & T. Lindsten. 2014. Analysis of a lung

- defect in autophagy-deficient mouse strains. *Autophagy*. 10: 45-56.
- Fabian, L. & J.A. Brill. 2012. Drosophila spermiogenesis: Big things come from little packages. *Spermatogenesis*. 2: 197-212.
- Fawcett, D.W., W.A. Anderson, & D.M. Phillips. 1971. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Dev Biol*. 26: 220-251.
- Ferrante, M.I., S.A. Feather, A. Bulfone, V. Wright, M. Ghiani, A. Selicorni, L. Gammaro, F. Scolari, A.S. Woolf, O. Sylvie, L.M. Bernard, S. Malcolm, R. Winter, A. Ballabio, G. Giorgio, & B. Franco. 2001. Identification of the Gene for Oral-Facial-Digital Type I Syndrome. *Am J Hum Genet*. 68: 569-576.
- Ferrante, M.I., A. Zullo, A. Barra, S. Bimonte, N. Messaddeq, M. Studer, P. Dolle, & B. Franco. 2006. Oral-facial-digital type I protein is required for primary cilia formation and left-right axis specification. *Nat Genet*. 38: 112-117.
- Fukuda, T. & T. Kanki. 2018. Mechanisms and Physiological Roles of Mitophagy in Yeast. *Mol Cells*. 41: 35-44.
- Hasegawa, T., K. Ohno, S. Funahashi, K. Miyazaki, A. Nagano, & K. Sato. 2010. CLP36 interacts with palladin in dorsal root ganglion neurons. *Neurosci Lett*. 476: 53-57.
- Ho, H.C. & S. Wey. 2007. Three dimensional rendering of the mitochondrial sheath morphogenesis during mouse spermiogenesis. *Microsc Res Tech*. 70: 719-723.
- Huang, R., Y. Xu, W. Wan, X. Shou, J. Qian, Z. You, B. Liu, C. Chang, T. Zhou, J. Lippincott-Schwartz, & W. Liu. 2015. Deacetylation of nuclear LC3 drives autophagy initiation under starvation. *Mol Cell*. 57: 456-466.
- Izumi, M. & S. Nakamura. 2018. Chloroplast Protein Turnover: The Influence of Extraplastidic Processes, Including Autophagy. *Int J Mol Sci*. 19.
- Kierszenbaum, A.L. 2002. Intramanchette transport (IMT): managing the making of the spermatid head, centrosome, and tail. *Mol Reprod Dev*. 63: 1-4.
- Kierszenbaum, A.L., E. Rivkin, & L.L. Tres. 2003. The actin-based motor myosin Va is a component of the acroplaxome, an acrosome-nuclear envelope junctional plate, and of manchette-associated vesicles. *Cytogenet Genome Res*. 103: 337-344.
- Komatsu, M., S. Waguri, T. Ueno, J. Iwata, S. Murata, I. Tanida, J. Ezaki, N. Mizushima, Y. Ohsumi, Y. Uchiyama, E. Kominami, K. Tanaka, & T. Chiba. 2005. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol*. 169: 425-434.
- Kuma, A., M. Hatano, M. Matsui, A. Yamamoto, H. Nakaya, T. Yoshimori, Y. Ohsumi, T. Tokuhisa, & N. Mizushima. 2004. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*. 432: 1032-1036.
- Lee, I.H., L. Cao, R. Mostoslavsky, D.B. Lombard, J. Liu, N.E. Bruns, M. Tsokos, F.W. Alt, & T. Finkel. 2008. A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105: 3374-3379.
- Liu, C., Z. Song, L. Wang, H. Yu, W. Liu, Y. Shang, Z. Xu, H. Zhao, F. Gao, J. Wen, L. Zhao, Y. Gui, J. Jiao, F. Gao, & W. Li. 2017. Sirt1 regulates acrosome biogenesis by modulating autophagic flux during

- spermiogenesis in mice. *Development*. 144: 441-451.
- Lopes, C.A., S.L. Prosser, L. Romio, R.A. Hirst, C. O'Callaghan, A.S. Woolf, & A.M. Fry. 2011. Centriolar satellites are assembly points for proteins implicated in human ciliopathies, including oral-facial-digital syndrome 1. *J Cell Sci*. 124: 600-612.
- Mauthe, M., I. Orhon, C. Rocchi, X. Zhou, M. Luhr, K.J. Hijlkema, R.P. Coppes, N. Engedal, M. Mari, & F. Reggiori. 2018. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*: 1-21.
- Minamino, N., T. Kanazawa, R. Nishihama, K.T. Yamato, K. Ishizaki, T. Kohchi, A. Nakano, & T. Ueda. 2017. Dynamic reorganization of the endomembrane system during spermatogenesis in *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res*. 130: 433-441.
- Mizushima, N. & M. Komatsu. 2011. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*. 147: 728-741.
- Mizushima, N., T. Yoshimori, & Y. Ohsumi. 2011. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 27: 107-132.
- Mochida, K., L.L. Tres, & A.L. Kierszenbaum. 1998. Isolation of the rat spermatid manchette and its perinuclear ring. *Dev Biol*. 200: 46-56.
- Mochida, K., L.L. Tres, & A.L. Kierszenbaum. 1999. Structural and biochemical features of fractionated spermatid manchettes and sperm axonemes of the *azh/azh* mutant mouse. *Mol Reprod Dev*. 52: 434-444.
- Moreno, R.D. & C.P. Alvarado. 2006. The mammalian acrosome as a secretory lysosome: new and old evidence. *Mol Reprod Dev*. 73: 1430-1434.
- Mukae, K., Y. Inoue, & Y. Moriyasu. 2015. ATG5-knockout mutants of *Physcomitrella* provide a platform for analyzing the involvement of autophagy in senescence processes in plant cells. *Plant Signal Behav*. 10: e1086859.
- O'Donnell, L., P.K. Nicholls, M.K. O'Bryan, R.I. McLachlan, & P.G. Stanton. 2011. Spermiation: The process of sperm release. *Spermatogenesis*. 1: 14-35.
- Ohno, K., H. Kato, S. Funahashi, T. Hasegawa, & K. Sato. 2009. Characterization of CLP36/Elfin/PDLIM1 in the nervous system. *J Neurochem*. 111: 790-800.
- Peng, H. & R.M. Lavker. 2016. Nucleophagy: A New Look at Past Observations. *J Invest Dermatol*. 136: 1316-1318.
- Renzaglia, K.S. & D.J. Garbary. 2001. Motile Gametes of Land Plants: Diversity, Development, and Evolution. *Crit Rev Plant Sci*. 20: 107-213.
- Romio, L., A.M. Fry, P.J. Winyard, S. Malcolm, A.S. Woolf, & S.A. Feather. 2004. OFD1 is a centrosomal/basal body protein expressed during mesenchymal-epithelial transition in human nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol*. 15: 2556-2568.
- Russell, L.D., J.A. Russell, G.R. MacGregor, & M.L. Meistrich. 1991. Linkage of manchette microtubules to the nuclear envelope and observations of the role of the manchette in nuclear shaping during spermiogenesis in rodents. *Am J Anat*. 192: 97-120.
- Saitoh, T., N. Fujita, T. Hayashi, K. Takahara, T. Satoh, H. Lee, K. Matsunaga, S. Kageyama, H. Omori, T. Noda, N. Yamamoto, T. Kawai, K. Ishii, O. Takeuchi, T. Yoshimori, & S. Akira. 2009. Atg9a controls

- dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106: 20842-20846.
- Saitoh, T., N. Fujita, M.H. Jang, S. Uematsu, B.G. Yang, T. Satoh, H. Omori, T. Noda, N. Yamamoto, M. Komatsu, K. Tanaka, T. Kawai, T. Tsujimura, O. Takeuchi, T. Yoshimori, & S. Akira. 2008. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production. *Nature*. 456: 264-268.
- Sanchez-Vera, V., C.S. Kenchappa, K. Landberg, S. Bressendorff, S. Schwarzbach, T. Martin, J. Mundy, M. Petersen, M. Thelander, & E. Sundberg. 2017. Autophagy is required for gamete differentiation in the moss *Physcomitrella patens*. *Autophagy*: 1-13.
- Shang, Y., H. Wang, P. Jia, H. Zhao, C. Liu, W. Liu, Z. Song, Z. Xu, L. Yang, Y. Wang, & W. Li. 2016. Autophagy regulates spermatid differentiation via degradation of PDLIM1. *Autophagy*. 12: 1575-1592.
- Shimamura, M. 2016. *Marchantia polymorpha*: Taxonomy, Phylogeny and Morphology of a Model System. *Plant Cell Physiol*. 57: 230-256.
- Singla, V., M. Romaguera-Ros, J.M. Garcia-Verdugo, & J.F. Reiter. 2010. Ofd1, a human disease gene, regulates the length and distal structure of centrioles. *Dev Cell*. 18: 410-424.
- Sou, Y.S., S. Waguri, J. Iwata, T. Ueno, T. Fujimura, T. Hara, N. Sawada, A. Yamada, N. Mizushima, Y. Uchiyama, E. Kominami, K. Tanaka, & M. Komatsu. 2008. The Atg8 conjugation system is indispensable for proper development of autophagic isolation membranes in mice. *Mol Biol Cell*. 19: 4762-4775.
- Tamura, N., K. Ohno, T. Katayama, N. Kanayama, & K. Sato. 2007. The PDZ-LIM protein CLP36 is required for actin stress fiber formation and focal adhesion assembly in BeWo cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 364: 589-594.
- Tang, Z., M.G. Lin, T.R. Stowe, S. Chen, M. Zhu, T. Stearns, B. Franco, & Q. Zhong. 2013. Autophagy promotes primary ciliogenesis by removing OFD1 from centriolar satellites. *Nature*. 502: 254-257.
- Wang, H., H. Wan, X. Li, W. Liu, Q. Chen, Y. Wang, L. Yang, H. Tang, X. Zhang, E. Duan, X. Zhao, F. Gao, & W. Li. 2014. Atg7 is required for acrosome biogenesis during spermatogenesis in mice. *Cell Res*. 24: 852-869.
- Yang, X. & D.C. Bassham. 2015. New Insight into the Mechanism and Function of Autophagy in Plant Cells. *Int Rev Cell Mol Biol*. 320: 1-40.
- Yoshida, S. 2008. Spermatogenic stem cell system in the mouse testis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 73: 25-32.
- Yoshida, T., S.O. Ioshii, K. Imanaka-Yoshida, & K. Izutsu. 1994. Association of cytoplasmic dynein with manchette microtubules and spermatid nuclear envelope during spermiogenesis in rats. *J Cell Sci*. 107 ( Pt 3): 625-633.
- Zhuo, C., Y. Ji, Z. Chen, K. Kitazato, Y. Xiang, M. Zhong, Q. Wang, Y. Pei, H. Ju, & Y. Wang. 2013. Proteomics analysis of autophagy-deficient Atg7<sup>-/-</sup> MEFs reveals a close relationship between F-actin and autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*. 437: 482-488.