

卵子形成にかかわる細胞分裂の仕組みを解明

ー 卵子形成の減数分裂に癌抑制タンパク質が関与するメカニズムを明らかにー

熊本大学発生医学研究所の石黒啓一郎教授及び島田龍輝助教のグループは、卵子の形成に必要な減数分裂をコントロールする仕組み、癌抑制タンパク質の働きを解除することが必須であることを発見しました。これまで、卵子が作られる際の減数分裂を引き起こすメカニズムの詳細は明らかになっていなかったため、今後の不妊治療などの生殖医療の進展につながる可能性があります。

本研究成果は、日本時間 2023 年 10 月 25 日（水）18 時（ロンドン時間 10 月 25 日 10 時）に、Springer Nature 社が刊行する科学学術誌「Nature communications」のオンライン版に掲載されます。本研究は文部科学省 科学研究費助成事業 新学術領域研究、日本医療研究開発機構（AMED）の支援を受けて、熊本大学生命資源研究・支援センター、国立遺伝学研究所との共同で実施したものです。

【ポイント】

- 男性と女性（オスとメス）とで減数分裂の開始の際に異なる調節の仕組みがあることを明らかにしました。
- 卵子が作られる際の女性（メス）の減数分裂の開始のプロセスで、癌抑制タンパク質（レチノブラストーマタンパク質）の関与を明らかにしました。
- 癌抑制タンパク質（レチノブラストーマタンパク質）はゲノム倍加のDNA合成のプロセスを通常は抑制することが知られています。女性（メス）の減数分裂の開始の時に、一時的にこの抑制が解除されることが、卵子形成のための減数分裂の活性化に必須であることを明らかにしました。
- 癌抑制タンパク質（レチノブラストーマタンパク質）の抑制を解除できないと、ゲノム倍加のDNA合成のプロセスを通過できず、減数分裂の開始に遅延が生じます。その結果、卵子が早期に枯渇してしまい、卵巣の中で卵子の貯蔵ができなくなることを突き止めました。

本研究成果について、説明動画を YouTube に公開しております。

(YouTube 動画 URL) <https://youtu.be/9Xa19PGItz8> <https://youtu.be/31271TduFDo>

【研究の内容】

全身の組織・器官では、通常「体細胞分裂」と呼ばれる細胞分裂によって細胞の増殖が行われます。一方、卵巣や精巣では「減数分裂」と呼ばれる特殊な細胞分裂が行われて、染色体の数が元の半分になることにより卵子や精子が作り出されます(図1)。男性の場合、精巣では思春期以降になるとほぼ生涯にわたって減数分裂が繰り返されて精子が産生されます。それに対して、女性の場合は胎児の時期(妊娠中の母体の中)の、ごく限られた一時期に卵巣の中で減数分裂が開始されます。胎児の時期に減数分裂に入った卵子は、排卵が起こるまでいったん長期の休眠状態に入ります(図2)。したがって、男性とは違って、女性の場合、生殖細胞が減数分裂に入って卵子になるチャンスは、生まれるずっと前、この胎児期の時期しかありません。女性の卵巣では胎児期の限定された時期に減数分裂に入ることができた生殖細胞によって、生涯にわたって必要とされる生殖可能な卵子の数が決まることとなります。しかしながら、胎児のある一時期に限って減数分裂に入る女性に特有のメカニズムは全く分かっていませんでした。今回、減数分裂の開始の仕組みには、男性(精巣)と女性(卵巣)との間で異なる調節があること、そして卵巣に特化した減数分裂の開始の様式に癌抑制タンパク質の働きが関与していることを見つけました。

(背景)

石黒教授らの研究グループは、これまでの研究で減数分裂のスイッチを入れる遺伝子MEIOSINを発見し、それによって数百種類におよぶ精子・卵子の形成に関わる遺伝子が一斉に働くことや、MEIOSINの働きによって体細胞分裂から減数分裂に切り替わるメカニズムを明らかにしました(Ishiguro et al., Dev Cell 2020)。

とくに女性の場合、生殖細胞の体細胞分裂から減数分裂への分裂様式の切り替えは出生前の母胎の中にいる間のごく限られた時期で起こる現象であるため、そのメカニズムの詳細は不明であり、研究が進んでいない背景がありました。また女性の減数分裂のコントロールは、原発性卵巣不全(早発性閉経)など不妊症などの生殖医療の問題とも直結する重要な問題でありながら、世界的にも長年解明されない課題でした。

【成果】

石黒教授らの研究グループは、卵子を作り出す過程で減数分裂がどのタイミングでどのように起きているのかを詳細に調べるために遺伝子改変マウスを作製して、卵巣内に含まれるタンパク質の解析や様々な遺伝子の働きを調べる研究を行いました。質量分析法^{*1}を駆使した解析により、STRA8とよばれるタンパク質が、癌抑制タンパク質・レチノブラストーマタンパク質(RB)^{*2}と結合していることを見つけました。本来、このレチノブラストーマタンパク質(RB)は、細胞増殖が暴走し過ぎないように適度にDNA合成を抑えるように働く、いわば増殖のブレーキのような役割があることが既に知られていました。また、同グループの以前の研究で、STRA8タンパク質が減数分裂の“スイッチ”として働く「MEIOSIN」(マイオーシン)と結合していることが分かっていたのですが、なぜRBと結合しているのかは謎でした。

そこで、ゲノム編集^{*3}によりマウスのSTRA8遺伝子に人為的に変異を導入して、STRA8とRBとの結合を解消させると、早期に卵子が枯渇して不妊となることが判明しました(図3)。さらに、シングルセルRNA-seq法という少数の細胞の遺伝子発現を検出する解析手法を用いて、様々な遺伝子の挙動を調べたところ、メスの卵巣において減数分裂が胎児期の起こるべきタイミングの適切な時期に起こらなくなることが分かりました。本来、減数分裂を引き起こすには、前もってDNA合成のプロセスを経てゲノム倍加をさせておく必要があります。しかし、このSTRA8タンパク質がRBと

の結合できなくなると、マウスのメス生殖細胞内では RB が強く働きつづけるため、然るべきタイミングでゲノム倍加の DNA 合成のプロセスが正常に機能していないこと、それに伴ってさらに MEIOSIN の活性化がうまくいかなくなることが分かりました。その結果、予定通りの適切なタイミングで減数分裂が開始されなくなります（図 4）。

ほとんどの卵子が出生前後の早期に自滅(アポトーシス)遺伝子が誘導されて死滅してしまい、卵巣の中で卵子の貯蔵がうまくいかなくなること突き止めました(図 5)。これら一連の研究から、胎児期の卵巣で、減数分裂を発動させるには、STRA8 タンパク質が RB の働きを一過的に緩めて、DNA 合成を促進させてやるのが、卵子の形成に関わる重要なメカニズムであることを解明しました。

【展開】

今回の成果はマウスを用いて検証されたものですが、この仕組みはヒトを含むすべての哺乳類に存在することが示唆されます。ヒトに見られる不妊症は原因が不明とされる症例が多いことが知られています。今回の発見は、原発性卵巣不全や早発性閉経など卵子の形成不全や早期枯渇を示す不妊症の病態の解明に資することが期待されます。

また、女性の場合、妊娠中の母親の母体内で胎児の時期に、減数分裂が開始された生殖細胞の数によって、将来大人になったときの卵子の貯蔵数が決定されます。すなわち、女性は生まれる前には、減数分裂が開始されて生涯にわたる卵子が準備されていることとなります。妊娠期に癌抑制タンパク質 RB に影響を与える可能性のある投薬や、創薬での指針となる可能性があります。

今回研究を進める中で、さらに STRA8 タンパク質を介した RB の解除によって機能が十分解析されていない遺伝子が調節されていることが判明しました。今後は卵子の形成過程におけるこれらの遺伝子の働きを解明することにより、生殖医療に大いに貢献することが期待されます。

【用語解説】

*** 1 : 質量分析法:** 未知のタンパク質の種類を解析する解析手法。株式会社島津製作所の田中耕一氏がこの技術の開発でノーベル化学賞を受賞したことで知られる。

*** 2 癌抑制タンパク質・レチノブラストーマタンパク質(RB):**通常我々ヒトのすべての組織内の細胞で細胞増殖の調節に働いている重要なタンパク質で、適切なタイミングで細胞内の DNA 合成を活性化するようにブレーキ役あるいは通行整理を担う役割がある。癌抑制タンパク質が欠損した場合は、ブレーキがきかずに DNA 合成の暴走を招いて、細胞の異常増殖を引き起こして癌化してしまうことが知られることから、この役割を担うタンパク質にこの一般名称がついている。レチノブラストーマタンパク質(RB)は、癌抑制タンパク質の一種で細胞周期の S 期と呼ばれるゲノム倍加の DNA 合成のプロセスを一時的に抑制する働きがある。

*** 3 : ゲノム編集:**遺伝子の DNA 配列を人為的に書き換えることのできる新手法。遺伝子を自在に編集できるため、マウス受精卵にこの操作を行うと、生まれてくる子世代で特定の遺伝子の働きを調べることができる。

【論文情報】

論文名 : STRA8–RB interaction is required for timely entry of meiosis in mouse female germ cells

著者 : Ryuki Shimada, Yuzuru Kato, Naoki Takeda, Sayoko Fujimura, Kei-ichiro Yasunaga, Shingo Usuki, Hitoshi Niwa, Kimi Araki, and Kei-ichiro Ishiguro

掲載誌 : **Nature Communications** DOI : 10.1038/s41467-023-42259-6

また、本研究は以下の支援を受けて行われました。

日本医療研究開発機構（AMED）

- ・革新的先端研究開発支援事業（PRIME）「健康・医療の向上に向けた早期ライフステージにおける生命現象の解明」研究開発領域「疾患モデル動物を用いた生殖可能ライフスパンに関する研究開発」（JP21m6310021）

日本学術振興会（JSPS）・文部科学省科学研究費

- ・新学術領域研究 19H05743「減数分裂における高次クロマチン構造の確立機構の解明」
- ・基盤研究（A）23H00379 「減数分裂と体細胞分裂との本質的な違いを決定するメカニズムの解明」
- ・挑戦的研究(萌芽) 22K19315「メス生殖細胞に特異的な減数分裂制御機構の解明」

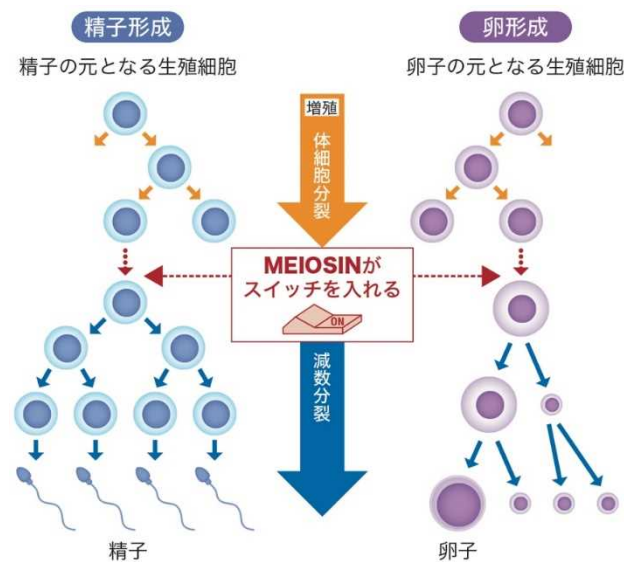


図1 体細胞分裂から減数分裂に切り替わるメカニズム

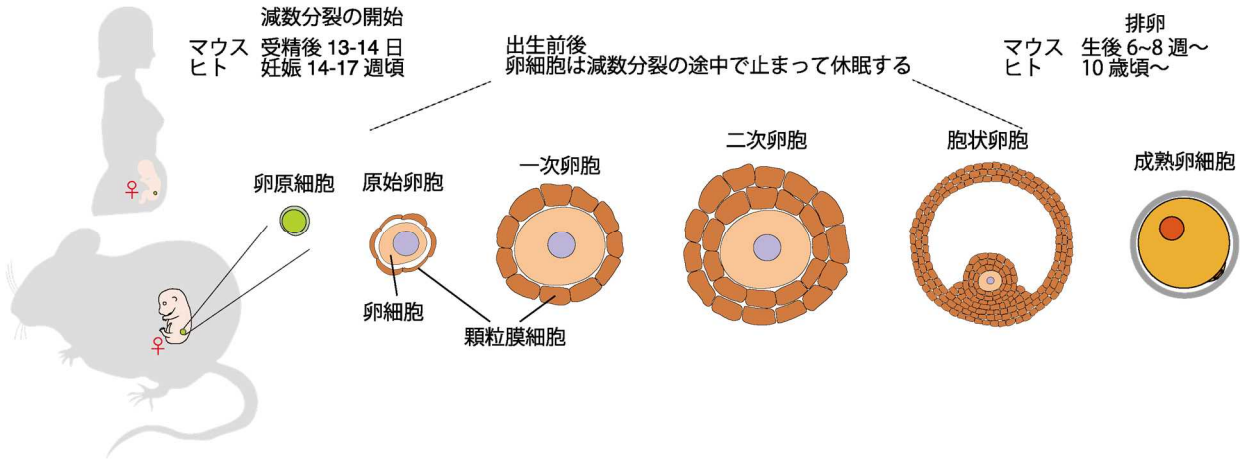


図 2 卵子の減数分裂開始、休眠、成熟過程



STRA8 はMEIOSINと結合して減数分裂に働く遺伝子の活性化をアシストする

STRA8 がRBと結合してどういう機能を果たすかは不明であった
 → STRA8 がRBと結合できないように遺伝子改変マウスを作製した

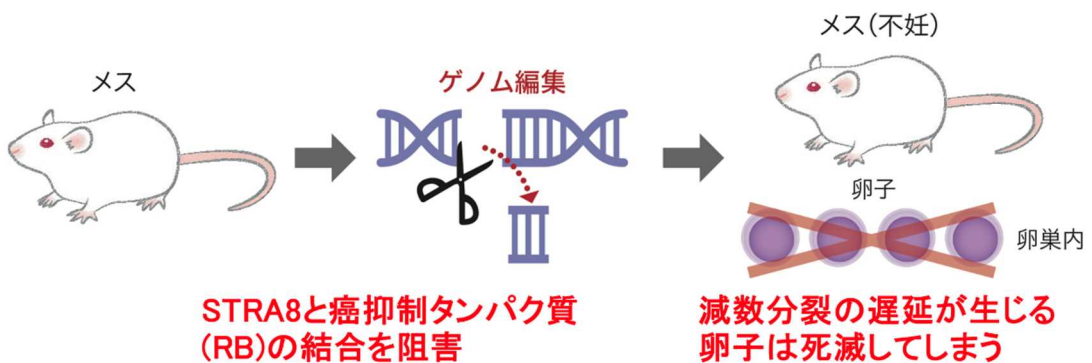


図 3

ゲノム編集により STRA8 と癌抑制タンパク質 (RB) の結合を阻害する実験のイメージ

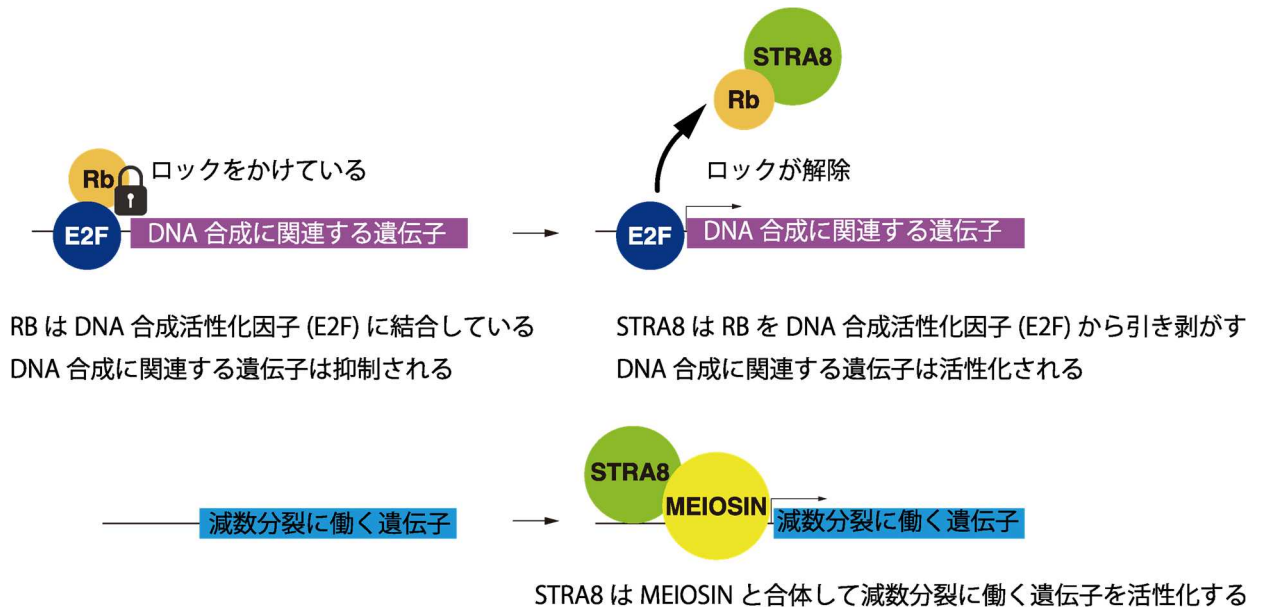


図4 STRA8がRBによるDNA合成の抑制を一時解除する仕組み

卵巣の断面組織

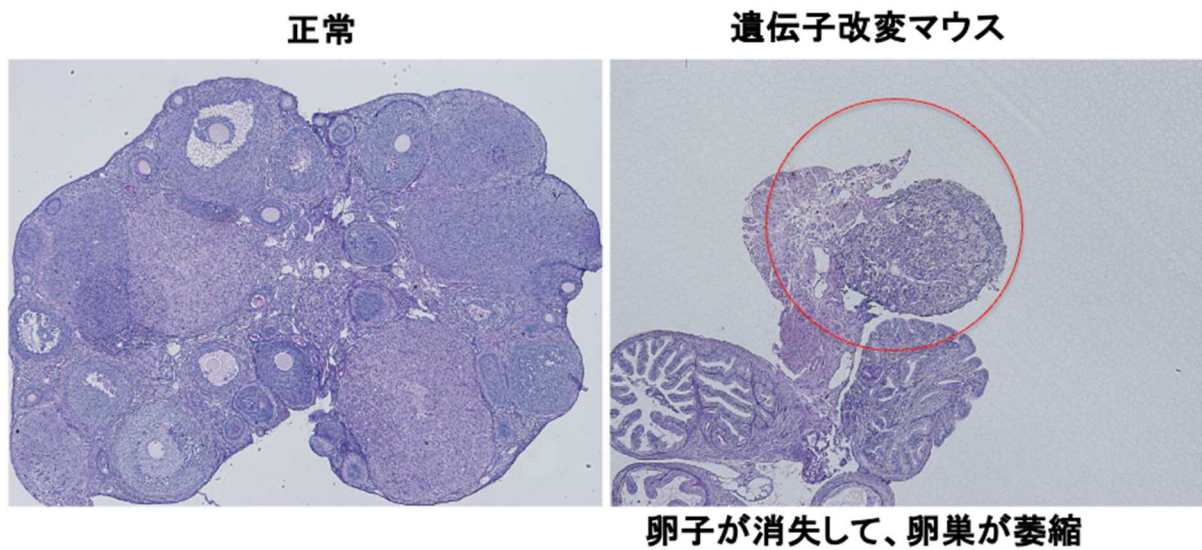


図5 遺伝子改変マウスでは卵子が早期に枯渇する

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

熊本大学 発生医学研究所

担当：石黒啓一郎・福田恵

電話：096-373-6606

e-mail：ishiguro@kumamoto-u.ac.jp

<記者発表に関すること>

熊本大学総務部総務課広報戦略室

担当：三原

電話：096-342-3269

e-mail：sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp