

19. 生殖細胞における減数分裂型細胞周期の制御機構

熊本大学発生医学研究所 教授 石黒 啓一郎

概要

本研究では減数分裂型細胞周期の制御のメカニズム解明を目的とする。生殖細胞における細胞周期の調節は減数分裂仕様に大幅に特殊化されると推定されるが、その実態については生殖細胞発生の理解において極めて重要な問題でありながら未だ不明な点が多い。我々は減数分裂の開始に決定的な役割を担う MEIOSIN を同定した (Ishiguro et al *Dev Cell* 2020)。MEIOSIN は STRA8 と複合体を形成して、pre-meiotic S 期のタイミングで減数分裂の進行に関連する遺伝子発現を活性化する。さらに当グループは MEIOSIN-STRA8 複合体がレチノブラストーマ RB ファミリー (RB, p107) と結合することを見出した。本研究では、減数分裂型細胞周期の pre-meiotic S 期と減数第一分裂前期の制御における RB ファミリーの役割について検討を行った。

背景および目的

本研究では減数分裂型細胞周期の制御のメカニズム解明を目的とする。減数分裂は通常の体細胞型の細胞周期の機構を転用しながらも、減数分裂仕様にプログラムされている。体細胞分裂と比較した場合、減数分裂ではゲノム半数化の染色体分配を実行する“第一分裂”が挿入されている点が両者の相違を与えていると解釈される (図 1)。一方で第二分裂では体細胞分裂と同等の機構が働いていると推測されるため、減数第一分裂の細胞周期制御の様式を明らかにすれば、体細胞分裂との違いを理解することができる。

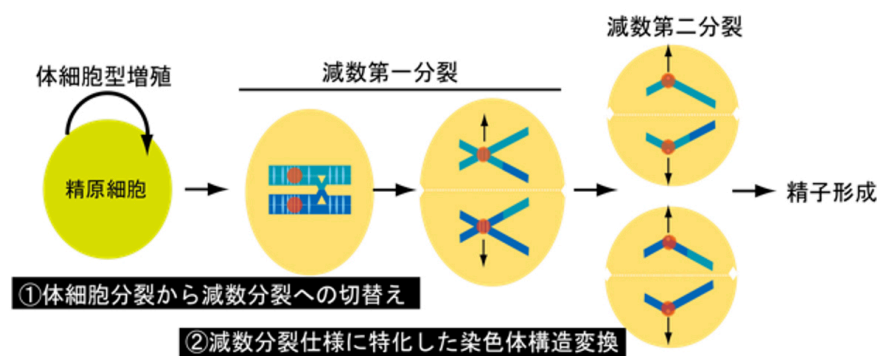


図 1. 減数分裂の素過程

減数分裂はゲノム半数化の染色体分配を実行する第一分裂と、第二分裂の 2 回の分裂過程からなる。減数分裂が開始すると、減数第一分裂では体細胞系譜では見られないユニークな染色体動態が観察される。

“pre-meiotic S 期”とよばれる時期に減数分裂が開始すると、体細胞分裂タイプの染色体構造はいったん解消されて、減数分裂仕様の染色体構造が再構築される。減数第一分裂前期(meiotic prophase I)と呼ばれる時期は、通常の体細胞の細胞周期の G2 期に相当するが、そのタイムスパンが通常の細胞周期 G2 期と比べて際だって長い。とりわけ、この減数第一分裂では姉妹動原体の接着、相同染色体のペアリングと対合による二価染色体の形成、染色体の axis-loop 構造形成、テロメア-核膜複合体を介した染色体運動など、体細胞系譜では見られないユニークな染色体動態が観察される。さらに減数第一分裂前期では雌雄で異なる制御様式があることも知られている。卵巣においては胎児期に開始された減数第一分裂がいったん停止して、成熟卵形成が再開されるまでの長期間にわたって言えば G2 期で休眠状態に置かれる点が特徴である。このように生殖細胞における細胞周期の調節は減数分裂仕様に大幅に特殊化されると同時に体細胞分裂の様式を積極的に抑制するメカニズムがあると推定されるが、その実態については生殖細胞発生の理解において極めて重要な問題でありながら未だ不明な点が多い。

我々は減数分裂の開始に決定的な役割を担う新規の生殖細胞特異的因子 MEIOSIS initiator (MEIOSIN)を同定した(Ishiguro et al Dev Cell 2020)。pre-meiotic S 期のタイミングで一過的に発現される MEIOSIN は STRA8 と複合体を形成して、減数分裂の進行に関連する遺伝子の転写開始点に結合して一斉にこれらの発現を活性化させる。このように体細胞分裂の細胞周期から脱出して減数分裂へと移行する pre-meiotic S 期の時期に、減数第一分裂前期に特有の染色体動態に必要なプログラムがインストールされる。さらに当グループは MEIOSIN-STR A8 複合体は、レチノブラストーマ RB ファミリー(RB, p107)と結合することを見出した。そこで本研究では、減数分裂型細胞周期の pre-meiotic S 期と減数第一分裂前期(meiotic G2 期)の制御における RB ファミリーの役割について検討を行った。

成果

マウス卵巣では E13.5-E14.5 のタイミングに限定して減数分裂が開始され、pre-meiotic S 期と呼ばれる DNA 合成期と符合する。我々は RB およびそのパラログ p107 が STRA8 と結合することを見出した。RB ファミリーは LxCxE アミノ酸配列を持つタンパク質に結合することが知られており、実際 STRA8 も LxCxE motif を持つ。そこで、LxCxE motif に変異を導入して、MEIOSIN との結合はインタクトであるが RB には結合できない STRA8 Δ RB 変異体マウスを作製した。この STRA8 Δ LxCxE マウスではオスは正常な妊性を示す一方、メスは減数分裂に進行できずに早期に卵が枯渇して不妊になることが判明した。減数分裂の開始時期に相当する胎生期 E14.5 卵巣より GFP でラベルされた STRA8 陽性細胞を分離して、scRNA-seq を行った結果、STRA8 を発現する細胞集団には遺伝子発現パターンレベルでヘテロな性質を持つ中間段階があり、STRA8 Δ LxCxE マウスで喪失している亜集団があることが判明した(図 2A)。この亜集団では E2F 下流の S 期進行に関与する遺伝子群と減数分裂関連遺伝子群が発現低下しており、pre-meiotic S 期への進行に遅延が見られることが示唆された(図 2B)。このことから、メス生殖細胞において STRA8 と RB の結合は pre-meiotic S 期への移行と減数分裂関連遺伝子の活性化とを同調させる役割を果たしていることが示唆される。

細胞周期において転写因子 E2F は S 期進行に必須の遺伝子群の活性化に働くことが知られている。RB は E2F と結合することにより S 期への進行を抑制し、E2F から解離することにより S 期への進行が促進される。またウイルス性癌タンパク質(HPV E7, SV40 Large T 抗原, E1A)は E2F から RB を奪うことにより S 期への進行を促進することが知られている。メスの減数分裂の場合、ウイルス性癌タンパク質と同様の機構を利用して、STRA8 が E2F から RB を奪うことにより pre-meiotic S 期への進行を促進している可能性がある(図 2C)。実際に、STRA8 Δ LxCxE 生殖細胞では EdU の取り込みが大幅に低下しており、pre-meiotic S 期への進行が抑制されていることが判明した。メスの減数分裂のエントリーにおいて、STRA8 は RB との相互作用を介して S 期進行と MEIOSIN との相互作用を介しての減数分裂関連遺伝子の活性化を同調していると考えられた(図 2C)。

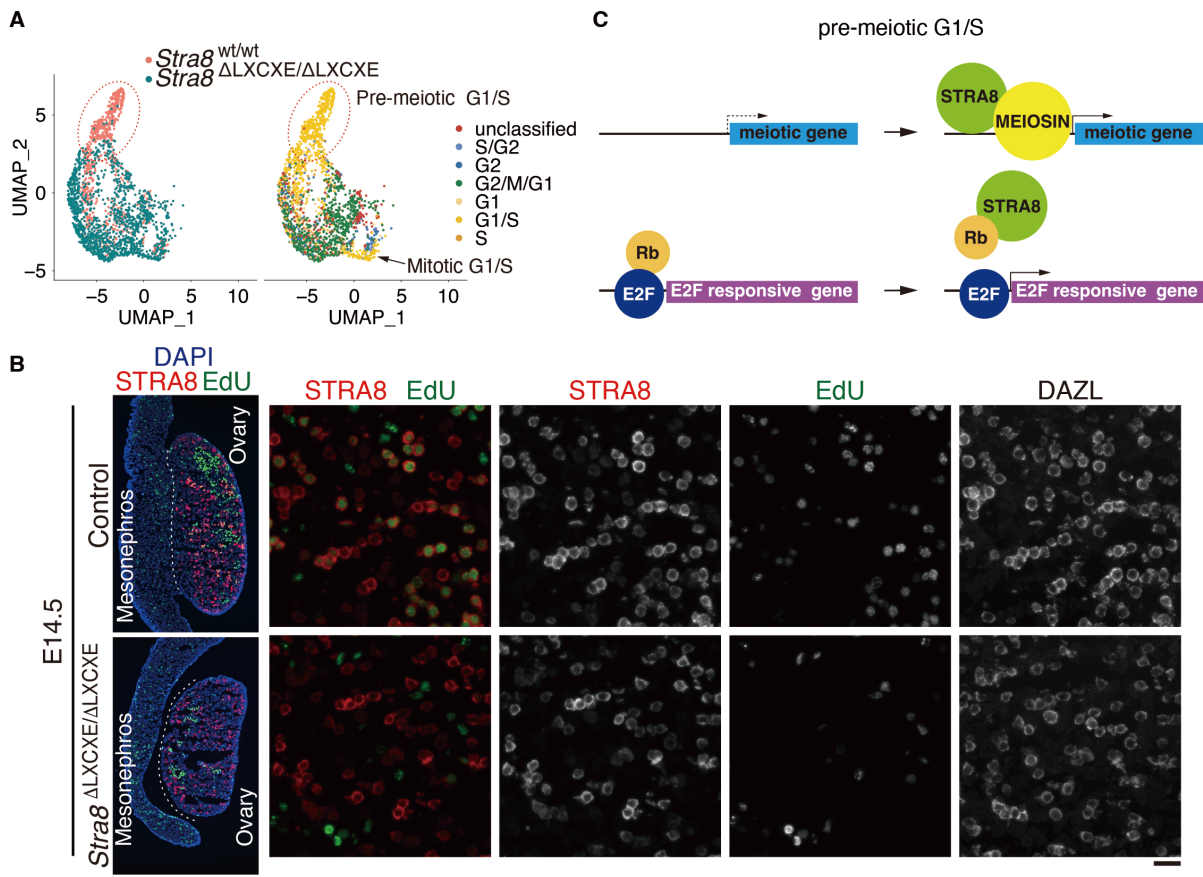


図 2. pre-meiotic S 期移行における STRA8-RB 相互作用の役割

- (A) scRNA-seq 解析から、STRA8 Δ LxCxE マウスで喪失している亜集団があることを示す。
 (B) STRA8 Δ LxCxE 生殖細胞では EdU の取り込みが低下しており、pre-meiotic S 期への進行が抑制される。
 (C) STRA8 は RB との相互作用を介して S 期進行と MEIOSIN との相互作用を介しての減数分裂関連遺伝子の活性化を同調する。

今後の展望および課題

RB は E2F1, E2F2, E2F3 への結合を介してカノニカル E2F 応答遺伝子群(S 期関連遺伝子)の転写抑制に寄与する。一方で p107 は E2F4, E2F5, MuvB を含む DREAM 複合体を構成して E2F 応答遺伝子のみならず、CHR エレメントへの結合を介した G2 期活性化遺伝子群の抑制に働くことが知られている。したがって STRA8 の下流には RB と p107 それぞれを介する独立の 2 つの経路が働いていることが予想される。今後、STRA8 と RB あるいは p107 の相互作用の遺伝学的下流を切り分けて、それぞれで働く下流の遺伝子発現の実態を明らかにすることが望まれる。これにより、(1)メスの減数分裂に特異的な pre-meiotic S 期進行の制御と、(2)減数第一分裂前期の制御に関わる遺伝子発現プログラムの全体像が明らかになることが期待される。

(完)

発表論文

- Yoshimura S, Shimada R, Kikuchi K, Kawagoe S, Abe H, Iisaka S, Fujimura S, Yasunaga K, Usuki S, Tani N, Ohba T, Kondoh E, Saio T, Araki K, *Ishiguro K : **Atypical heat shock transcription factor HSF5 is critical for male meiotic prophase under non-stress conditions.** *Nature Communications* 15, 3330 (2024)

- 2) Shimada R, Kato Y, Takeda N, Fujimura S, Yasunaga K, Usuki S, Niwa H, Araki K, *Ishiguro K : **STRA8–RB interaction is required for timely entry of meiosis in mouse female germ cells.** *Nature Communications* 14, 6443 (2023)
- 3) Shimada R., *Ishiguro K : **Female-specific mechanisms of meiotic initiation and progression in mammalian oocyte development.** *Genes to Cells* 29(10), 797-807 gtc.13152 (2024)
- 4) Ishiguro K: **Mechanisms of meiosis initiation and meiotic prophase progression during spermatogenesis.** *Molecular Aspects of Medicine* 97 101282 (2024)