

PRESS RELEASE (2007/03/30)

九州大学記者クラブ会員 各 位

**脊椎動物未受精卵の分裂停止の仕組みを解明
(不妊の新しい診断・治療法開発に足がかり)**

標題の件につきまして下記のとおり説明会を開催しますのでお知らせします

記

日 時：平成19年4月3日(火) 11時00分から

場 所：九州大学箱崎キャンパス システム生命科学府棟 1階 セミナー室
(福岡市東区箱崎6-10-1)

説 明 者：佐方 功幸(さがた のりゆき)九州大学 理学研究院教授

研究概要：

JST(理事長 沖村憲樹)と国立大学法人九州大学(総長 梶山千里、以下「九州大学」という)は、脊椎動物未受精卵の分裂停止に関する分子メカニズムを発見しました。

人間をはじめとする脊椎動物の未受精卵では、受精に至るまでの過程の中でMeta-IIと呼ばれる時期に分裂を停止し、受精を待つ『Meta-II 停止』と言われる現象がみられます。しかし、この現象が発見された後も、その詳細なメカニズムは長く不明のままでした。今回、本研究チームは、アフリカツメガエルの卵を用いて、たんぱく質の一種である Erp1 が Mos-MAPK 経路により、リン酸化と呼ばれる化学修飾を受けることで、安定化および活性化し、この『Meta-II 停止』を引き起こすことを発見しました。脊椎動物の未受精卵の分裂停止の全経路を明らかにした今回の成果は、今後の医学生物学の基礎研究の発展に寄与するとともに、不妊の原因解明や治療法の開発などにつながるものと期待されます。

本研究は、JST戦略的創造研究推進事業チーム型研究(CREST)「たんぱく質の構造・機能と発現メカニズム」研究領域(研究総括：大島泰郎)の研究テーマ「細胞周期/チェックポイント制御たんぱく質の構造と機能の解析」(研究代表者・佐方功幸 九州大学大学院理学研究院教授)の研究の一環として、CREST 研究員・井上大悟、九州大学システム生命科学府大学院生・大江宗理らの参加により得られたものです。今回の研究成果は、2007年4月4日(英国時間)発行の英国科学雑誌「Nature」オンライン版に一般公開されます。

**解禁日時：2007年4月5日(木)午前2時(日本時間)
(ロンドン時間 2007年4月4日 18時)**

佐方 功幸(さがた のりゆき)九州大学 理学研究院 生物科学部門教授
TEL/FAX: 092-642-2617 E-mail: nsagascb@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

平成 19 年 4 月 3 日

科学技術振興機構 (J S T)
電話(03)5214-8404(広報・ポータル部広報室)

国立大学法人 九州大学
電話(092)642-2106 (広報室)

脊椎動物未受精卵の分裂停止の仕組みを解明 (不妊の新しい診断・治療法開発に足がかり)

J S T (理事長 沖村憲樹) と国立大学法人九州大学 (総長 梶山千里、以下「九州大学」という) は、脊椎動物未受精卵の分裂停止に関する分子メカニズムを発見しました。

人間をはじめとする脊椎動物の未受精卵では、受精に至るまでの過程の中で Meta-II^(注1) と呼ばれる時期に分裂を停止し、受精を待つ『Meta-II停止』と言われる現象がみられます。しかし、この現象が発見された後も、その詳細なメカニズムは長く不明のままでした。今回、本研究チームは、アフリカツメガエルの卵を用いて、たんぱく質の一種である Erp1^(注2) が Mos-MAPK 経路^(注3) により、リン酸化^(注4) と呼ばれる化学修飾を受けることで、安定化および活性化し、この『Meta-II停止』を引き起こすことを発見しました。脊椎動物の未受精卵の分裂停止の全経路を明らかにした今回の成果は、今後の医学生物学の基礎研究の発展に寄与するとともに、不妊の原因解明や治療法の開発などにつながるものと期待されます。

本研究は、J S T 戦略的創造研究推進事業チーム型研究 (CREST) 「たんぱく質の構造・機能と発現メカニズム」研究領域 (研究総括：大島泰郎) の研究テーマ「細胞周期/チェックポイント制御たんぱく質の構造と機能の解析」(研究代表者・佐方功幸 九州大学大学院理学研究院教授) の研究の一環として、CREST 研究員・井上大悟、九州大学システム生命科学府大学院生・大江宗理らの参加により得られたものです。今回の研究成果は、2007 年 4 月 4 日 (英国時間) 発行の英国科学雑誌「Nature」オンライン版に一般公開されます。

< 研究の背景 >

『Meta-II停止』は、未受精卵の単為発生^(注5)(精子なしの発生)を防ぐために重要で、マウスでの実験では、この停止がないと卵巣奇形腫^(注6)などが生じます。『Meta-II停止』に関連して1971年、増井禎夫(現トロント大学名誉教授、米国医学界ラスカー賞受賞者)らは、「カエル未受精卵内に『Meta-II停止』を引き起こす何らかの物質があること」を発見し、これを細胞分裂抑制因子(CSF)^(注7)と呼びました。更に、1989年佐方功幸(本研究チーム代表者)らによって、「Mosたんぱく質がCSFの主要な成分であること」が示され、その後、「Mosの下流に順にMEK、MAPK、p90^{rsk}という3つのたんぱく質リン酸化酵素(キナーゼ)^{注8}が存在し、CSFがMos-MAPK経路と称するたんぱく質のリン酸化経路から成ること」が示されました。しかし、『Meta-II停止』に至る最終標的たんぱく質は不明のままでした。また2005年海外で、Erp1(別称Emi2)と呼ばれるたんぱく質が、新たにCSFの重要な成分であることが示されましたが、CSFおよび『Meta-II停止』におけるMos-MAPK経路の役割は大きな謎のままでした。

< 本研究の成果 >

本研究チームは、今回の研究に先んじて、Erp1がアフリカツメガエルの卵成熟^(注9)の過程で合成され始め、『Meta-II停止』に関わることを明らかにしています。(図1)。これをもとに、Mos-MAPK経路とErp1の関係性を調べるために、卵成熟過程でMos-MAPK経路の働きを特異的に阻害してみました。すると、このような卵ではErp1が正常に合成されているにもかかわらず、卵は『Meta-II停止』を起こせないことが分かりました。また、本来、『Meta-II停止』が起こらないはずの受精後の卵に強制的にMosを発現させるとMeta-II同様の分裂停止を起こしますが、この分裂停止には内在性のErp1が必要であることが示されました(図2)。このような結果から、まず、Erp1がCSFとして働くためにはMos-MAPK経路が必須であることが示されました。

次に、Mos-MAPK経路の最下流に位置するキナーゼであるp90^{rsk}(図3)がErp1を直接リン酸化するか否かを調べてみました。その結果、まず試験管内でp90^{rsk}がErp1の少なくとも2つのアミノ酸残基(335番目のセリンと336番目のトレオニン)をリン酸化することができることが示されました。また、卵内でもp90^{rsk}がErp1を同部位でリン酸化できることが示されました。すなわち、Erp1がMos-MAPKキナーゼ経路の基質標的であることが初めて示されたのです。

さらに、p90^{rsk}によるリン酸化がErp1にどのような影響を持つかを調べました。まず、p90^{rsk}によってリン酸化を受けないErp1変異体が卵成熟過程において代謝的に非

常に不安定化していることが分かりました。また、同変異体はCSF活性が非常に低くなっており、成熟卵に発現させても『Meta-II停止』を維持できないことが確認されました。すなわち、Mos-MAPK経路によるリン酸化によってErp1の安定性や活性が上昇することが判明しました。これらの結果から、CSFがMos → MEK → MAPK → p90^{rsk} → Erp1 という経路から成っていることが初めて示されました(図3)。Erp1は『Meta-II停止』を直接的に維持しているCdc2/サイクリンB複合体(注10)の安定化に関わっていることが知られており、今回の結果から、脊椎動物未受精卵の分裂停止の全経路が分かったこととなります(図1, 3)。

<今後の展開>

未受精卵の分裂停止の機構解明は、生殖生物学をはじめとする医学生物学の中で重要な課題の一つであり、大きな謎でした。今回の成果によりその分子基盤・経路が提示され、受精の研究などへの広がりが大いに期待されます。また、社会との関連としては、例えば、人の不妊や卵巣奇形腫の原因の一つとしてMos-MAPK-Erp1経路の不全の可能性が考えられ、本成果は、それらの予防・診断や治療法を考える上で新たな切り口を提供するものと思われます。

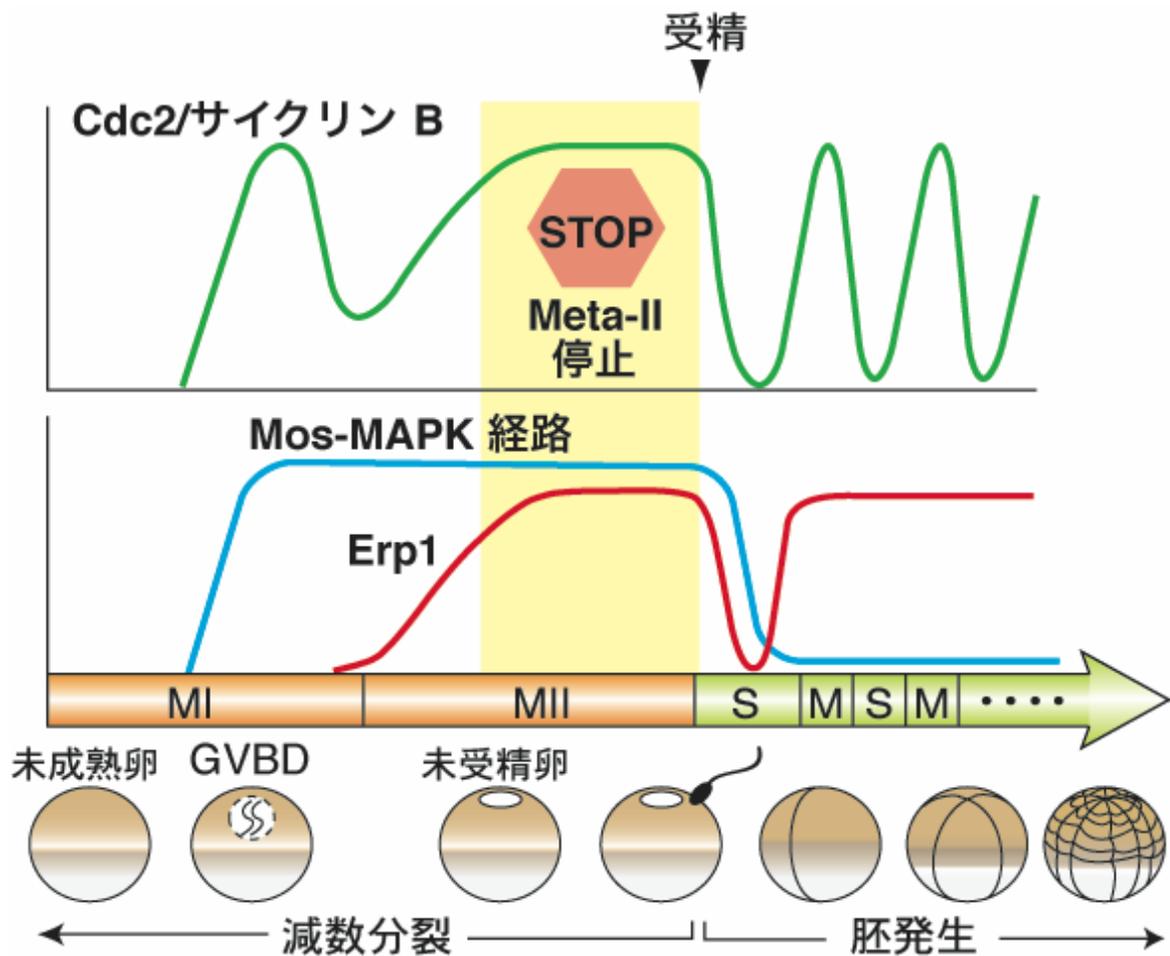


図1 . アフリカツメガエル卵の減数分裂期および受精後における Cdc2/サイクリン B 複合体、Mos-MAPK 経路、Erp1 の発現パターン

Cdc2/サイクリン B たんぱく質複合体は分裂期 (M 期) を引き起こす重要な因子であり、第二減数分裂期 (MII) においては Erp1 によって安定化され、直接的に『Meta-II 停止』を引き起こします。Erp1 は Mos-MAPK 経路と共存するときだけ CSF として働きます。MI:第一減数分裂, MII:第二減数分裂, GVBD:卵核崩壊, S:DNA 合成期, M:分裂期

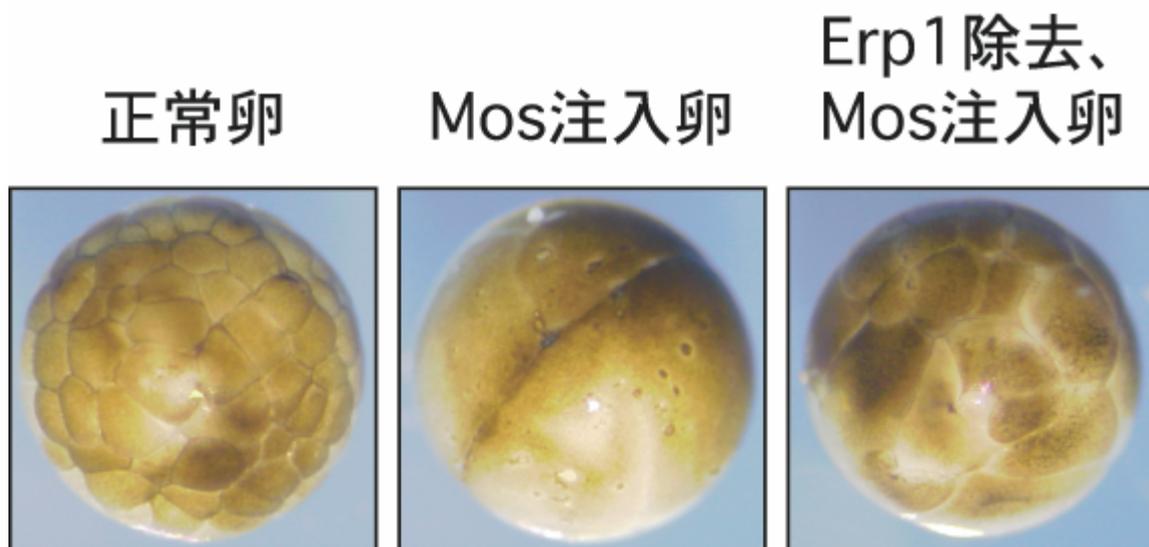


図 2 . Mos の注入による卵の分裂停止とその停止への Erp1 の必要性

Mos は受精後分解してなくなりますが、2 細胞期の卵に外から Mos を注入すると卵は分裂中期で分裂を停止します(中央)。(左は正常卵)しかし、受精後に卵内の Erp1 を人為的に除去しておく、Mos の注入によっても分裂停止は起こりません(右)。このことから、Erp1 が CSF として働くためには Mos-MAPK 経路が必要なことが示されました。

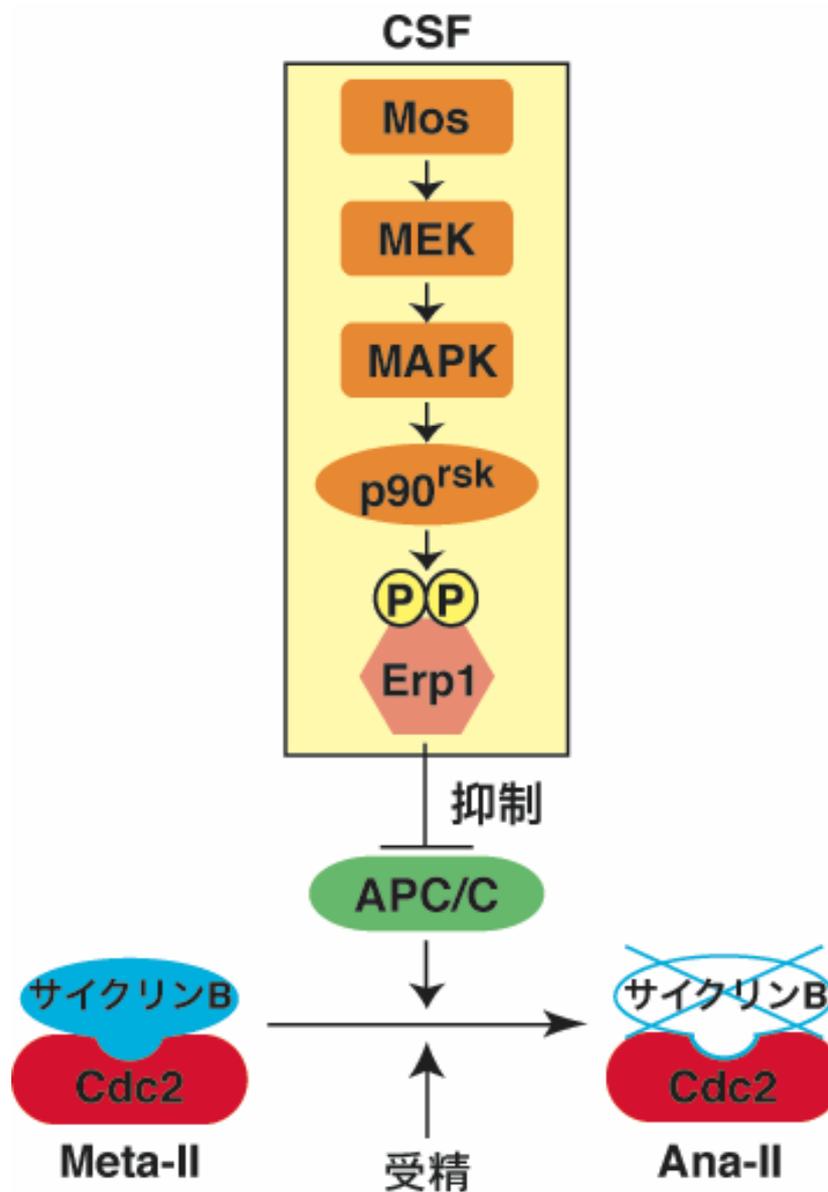


図3 . CSF による『Meta-II 停止』の分子経路

CSFはMos MEK MAPK p90^{rsk} Erp1 という経路で成り立っており、Erp1 は分裂終期促進因子 (APC/C) と呼ばれるたんぱく質複合体の活性を抑制することでサイクリンBの分解を防ぎ、『Meta-II停止』を引き起こします。受精ではMosやErp1 が消失し (図1参照) APC/Cが活性化することでサイクリンBが分解され、『Meta-II停止』からの解除が起こります。Ana-II; 第二減数分裂終期

<用語解説>

(注1) Meta-II (第二減数分裂中期):

生殖細胞(卵と精子)を生ずる減数分裂の過程のある時期を示す用語です。減数分裂は特殊な細胞分裂の様式であり、2回の連続した分裂からなっています。Meta-IIは、2回目の分裂中期を指し、脊椎動物の未受精卵は、この段階でいったん分裂を停止し、受精を待ちます。

(注2) Erp1:

Emi2ともよばれ、分裂終期促進因子(APC/C)の活性を阻害することで、M期促進因子であるCdc2/サイクリンB複合体の分解を防ぎ、その結果、細胞分裂を中期で停止させるたんぱく質です。最近、Mos-MAPK経路とは無関係にCSFとして働くことが主張されたたんぱく質です。

(注3) Mos-MAPK経路:

Mos, MAPKを主体とするたんぱく質リン酸化経路で、CSF活性をはじめ、動物の卵減数分裂で重要な役割を果たすことが知られています。

(注4) リン酸化:

たんぱく質が受ける修飾反応の一つです。リン酸化の特徴はリン酸の付加と脱離が比較的容易に行えることであり、リン酸化はその特徴を生かして、細胞内のシグナル伝達機構において、中心的な役割を果たすと考えられています。

(注5) 単為発生:

受精/精子なしに卵が発生を始める現象で、下等動物では自然界で普通に起こることがありますが、脊椎動物の場合多くは異常発生につながります。

(注6) 卵巣奇形腫:

卵巣内で卵が自然発生的に成熟かつ賦活化し、奇形腫(テラトーマ)となる病気です。Mosのノックアウトマウスでも同様な病気が起こります。

(注7) 細胞分裂抑制因子(cytostatic factor, CSF):

脊椎動物の未受精卵をMeta-IIで停止させている原因物質とされ、1971年に増井禎夫らによってアメリカヒョウガエル卵の中に見い出されました。

(注8) たんぱく質リン酸化酵素(キナーゼ):

たんぱく質をリン酸化する酵素の総称で、一般的には基質たんぱく質のセリン、トレオニン、チロシン残基などをリン酸化し、そのたんぱく質の生理機能などを調節します。また、Mos-MAPK 経路のように、複数のキナーゼが順に働き、シグナルを伝達することがよくあります。なお、脱リン酸化反応を司る酵素として、たんぱく質フォスファターゼが知られています。

(注9) 卵成熟:

卵の減数分裂の過程で、一般に動物の卵母細胞は第一減数分裂の前期で停止していますが、この停止が解除され、減数分裂が進行し、成熟卵(未受精卵)になる過程を卵成熟と言います。カエルではホルモン(プロゲステロン)が卵成熟の引き金になります。

(注10) Cdc2/サイクリン B 複合体:

M 期促進因子(MPF)とも呼ばれ、細胞の分裂期(M 期)を誘起する重要な因子です。通常、分裂中期→終期のときにサイクリン B が分解され MPF は不活性化されますが、サイクリン B の分解が阻害されると(図3参照)細胞は高い MPF 活性を持ったまま中期で停止します。Erp1 はそのサイクリン B の分解を防ぐたんぱく質として同定されたのですが、今回の成果では、Mos-MAPK 経路が Erp1 の活性や安定性を直接的に制御していることが示されました。

< 論文名 >

「A direct link of the Mos MAPK pathway to Erp1/Emi2 in meiotic arrest of *Xenopus laevis* eggs」

(アフリカツメガエル卵の減数分裂停止における、Mos-MAPK 経路の Erp1/Emi2 への直接的なリンク)

< 研究領域等 >

この研究テーマが含まれる研究領域、研究期間は以下のとおりです。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究 (CREST)

研究領域 : 「たんぱく質の構造・機能と発現メカニズム」

(研究総括: 大島泰郎 共和化工(株)環境微生物学研究所 所長)

研究課題名: 「細胞周期/チェックポイント制御たんぱく質の構造と機能の解析」

研究代表者: 佐方功幸 九州大学大学院理学研究院 教授

研究期間 : 平成15年度~平成20年度

< お問い合わせ先 >

佐方 功幸 (さがた のりゆき)

九州大学大学院 理学研究院 生物科学部門

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

TEL/FAX: 092-642-2617

E-mail: nsagascb@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

瀬谷 元秀 (せや もとひで)

独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造事業本部

研究推進部 研究第一課

〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

TEL: 048-226-5635 FAX: 048-226-1164

E-mail: crest@jst.go.jp