



## 脊椎動物未受精卵の分裂停止の分子機構を解明 -不妊の新しい診断・治療法の足がかり-

### 概要

九州大学大学院理学研究院の佐方功幸教授、磯田道孝研究員、迫洗佑大学院生らのグループは、脊椎動物未受精卵の分裂停止の仕組みを分子レベルで初めて解明しました。本研究の結果は、不妊の新しい診断や治療法の開発につながるものと期待されます。

本研究成果は、2011年9月12日（米国東部時間）に米国の科学雑誌「*Developmental Cell*」(Cell Press 発刊)に掲載されます。また、8月25日付でオンライン版に掲載されました。

### ■背景

人間をはじめとする脊椎動物の未受精卵（成熟卵）は、排卵後に第二減数分裂の中期（Meta-II）<sup>(注1)</sup>で分裂を停止して、受精を待ちます。Meta-IIでの分裂停止（Meta-II停止）は未受精卵の単為発生<sup>(注2)</sup>（精子なしの発生）を防ぐために不可欠であり、マウスの実験では、この停止がないと卵巣奇形腫<sup>(注3)</sup>などが生じます。1971年に、増井禎夫（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）」と呼びました。そして、1989年に、佐方功幸（本研究グループ代表）らによって、「Mos」と呼ばれるたんぱく質がCSFの主要な成分であることが示されました。

その後、佐方教授らのグループの研究により、「Emi2」と呼ばれるたんぱく質もCSFの重要な成分であり、Mosが「Mos-MAPK経路」<sup>(注4)</sup>と呼ばれる分子経路を介してEmi2を安定化・活性化させ、Meta-II停止を引き起こすことが示されました（図1）。さらに、Emi2は「Cdk1」と呼ばれるたんぱく質によって不安定化・不活性化され、Mos-MAPK経路はこれに対して拮抗的に働くことで、Emi2を安定化・活性化させることが示されました。しかし、Cdk1によるEmi2の不安定化・不活性化、およびMos-MAPK経路によるEmi2の安定化・活性化の分子機構は大きな謎として残っていました。

### ■内容

佐方教授らのグループは、アフリカツメガエル卵を用いて、まずCdk1によるEmi2の不安定化・不活性化の機構を解析しました。Cdk1はMosと同様にたんぱく質リン酸化酵素（キナーゼ）<sup>(注5)</sup>の一種です。そこで、Cdk1によってリン酸化<sup>(注6)</sup>を受けるEmi2の部位（アミノ酸残基）を複数決定し、これらをリン酸化されないアミノ酸残基に置換しました。そうすると、このEmi2変異体は未受精卵内で代謝的に非常に安定であり、かつ未受精卵の分裂後期促進因子（APC/C）<sup>(注7)</sup>を強く阻害し、未受精卵をMeta-IIで停止させる活性をもつことが分かりました。このことから、Cdk1による特定部位のリン酸化でEmi2が不安定化・不活性化することが示されました。また、Cdk1によるEmi2のリン酸化部位にCdk1自身および他のキナーゼ（Plk1）が結合していることを発見しました。

そこで、Emi2に結合したCdk1やPlk1がいかにしてEmi2を不安定化・不活性化させるかを解析しました。その結果、まず、結合したPlk1がEmi2の他の部位をさらにリン酸化し、この部位にたんぱく質分解関連酵素の一種（SCFユビキチンリガーゼ）が結合し、Emi2を不安定化させることが分かりました。一方、Emi2に結合したCdk1はEmi2の末端部位（RL尾部と呼ばれ、APC/Cとの結合に必要な部分）をさらにリン酸化し、Emi2を不活性化させることが判明しました。加えて、Cdk1やPlk1の結合部位には他のキナーゼ（CK1）も結合し、Cdk1と同様にRL尾部をリン酸化し、Emi2を不活性化させることが分かりました。まとめると、Cdk1によるリン酸化部位にCdk1自身、Plk1およびCK1が結合し、さらに他の部位をリン酸化することでEmi2を不安定化・不活性化させることが示されました（図2）。

次に、Mos-MAPK経路によるEmi2の安定化・活性化の機構を解析しました。その結果、まず、Mos-MAPK経路によってEmi2がリン酸化され、このリン酸化部位にたんぱく質脱リン酸化酵素の一種（PP2A-B56）が結合することが分かりました。そして、このPP2A-B56が、上記のCdk1、Plk1、CK1によるリン酸化部位を脱リン酸化することでEmi2を安定化・活性化させることが明らかになりました。

(図2)。すなわち、アフリカツメガエル未受精卵内では、Emi2に結合したキナーゼ群によるリン酸化がEmi2に結合したPP2A-B56によって微細に調節されることでEmi2が安定化・活性化され、Meta-II停止が起こることが明らかになりました。今回の結果から、脊椎動物未受精卵の分裂停止の詳細かつ新奇な分子機構が初めて解明されたこととなります。

## ■効果

Mos-MAPK 経路および Emi2 は脊椎動物未受精卵の Meta-II 停止に必須であり、マウス卵ではこの停止がないと卵巣奇形腫が起こります。従って、人の不妊や卵巣奇形腫の原因の一つとして Mos-MAPK 経路の不全や Emi2 の変異などの可能性が考えられ、本研究成果は、それらの予防・診断や治療法開発の足がかりを提供するものと思われます。

## ■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詳細な分子機構が初めて明らかにされ、今後、受精・再生医学などへの広がりが大いに期待されます。

## 【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) 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3) 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4) Mos-MAPK 経路

Mos, MEK, MAPK, RSK(それぞれキナーゼ)から成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5) 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。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あります。

(注6) 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なえることであり、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しています。

(注7) 分裂後期促進因子(APC/C)

通常の細胞分裂において分裂中期から後期への進行を引き起こすたんぱく質複合体です。未受精卵ではこの因子の活性がEmi2による結合で阻害され、Meta-IIでの停止が起こります。

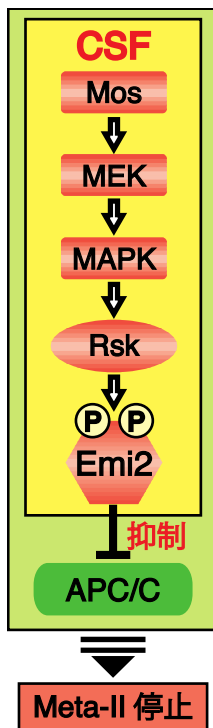


図1. 未受精卵の Meta-II 停止を引き起こす分子経路

Mos-MAPK 経路 (Mos→MEK→MAPK→RSK) は Emi2 をリン酸化し、それを安定化・活性化させます。安定化・活性化された Emi2 は APC/C (分裂後期促進因子) に結合し、その活性を抑制することで未受精卵を Meta-II で停止させます。図中、Ⓟ はリン酸化を示します。

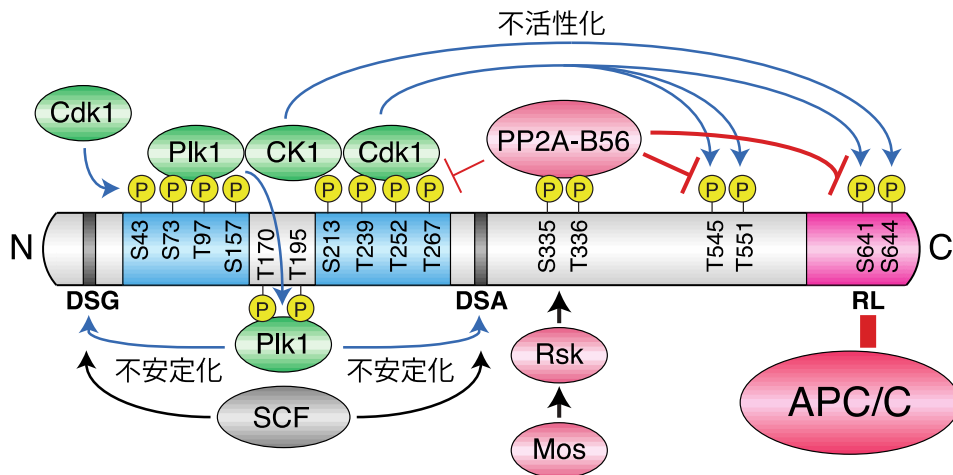


図2. Mos-MAPK 経路による Emi2 の安定化・活性化の分子機構

最初に Cdk1 は Emi2 の複数のセリン (S)、トレオニン (T) 残基をリン酸化し、これらのリン酸化部位に Cdk1 自身、Plk1、CK1 が結合します。結合した Plk1 は他の部位 (DSG と DSA) をリン酸化し、SCF ユビキチンリガーゼの結合を介して Emi2 を不安定化させます。一方、Cdk1 と CK1 は Emi2 の RL 尾部をリン酸化し、Emi2 と APC/C の結合を阻害します (Emi2 の不活性化)。これらに対し、Mos-MAPK 経路は Emi2 を他の部位でリン酸化し、この部位に PP2A-B56 を結合させます。結合した PP2A-B56 は Plk1、Cdk1、CK1 によってリン酸化された部位を脱リン酸化し、Emi2 を安定化・活性化させます。この結果、Emi2 は APC/C と強く結合し、その活性を抑制することで Meta-II 停止を引き起こします。

【お問い合わせ】

大学院理学研究院教授 佐方 功幸  
 電話：092-642-2617  
 FAX：092-642-2617  
 Mail：nsagascb@kyushu-u.org