

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2020～2022
課題番号：20H03265
研究課題名（和文）減数第一分裂における細胞周期制御機構の解明

研究課題名（英文）Study on cell cycle regulation in meiosis I

研究代表者

石黒 啓一郎 (Ishiguro, Kei-ichiro)

熊本大学・発生医学研究所・教授

研究者番号：30508114

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、減数第一分裂の細胞周期制御機構の解明を目的として実施された。減数分裂開始因子MEIOSINの標的遺伝子の解析から、新規の減数分裂の制御因子を同定した。また減数分裂の開始の制御には雌雄性差があることや、レチノブラストーマRbとSTRA8との相互作用が調節に働くことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で見いだされた新規の減数分裂関連遺伝子の発見は、不妊の原因解明に資することが期待される。また、減数分裂の開始の制御には雌雄性差があることや、特にメスの減数分裂の開始には癌抑制遺伝子レチノブラストーマによる制御があることが判明して、卵子発生におけるメカニズムの理解が進んだ。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to elucidate the cell cycle regulatory mechanisms of meiotic first division. Based on analysis of the target genes of the meiosis initiation factor MEIOSIN, we identified novel regulators of meiosis. We also found that there are sexual differences in the regulation of meiosis initiation and that the interaction between retinoblastoma Rb and STRA8 acts in the regulation in females .

研究分野：発生生物学

キーワード：減数分裂 体細胞分裂 生殖細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

減数第一分裂は通常の体細胞と同様の細胞周期の機構を巧みに転用しながらも、減数分裂仕様にプログラムされている。体細胞分裂から減数分裂への切替えが何によって制御されているのかという問題は、生物種を問わず長年の懸案とされていた。申請者らは、体細胞分裂から減数分裂の切替えに決定的な役割を担う新規のマスター転写因子 MEIOSIN を同定した。MEIOSIN は STRA8 と複合体を形成して、減数第一分裂に関連する遺伝子の転写活性化因子として働く。MEIOSIN の標的遺伝子には、機能未解明のものが多く含まれており、減数分裂に働く新規の因子が含まれる可能性が考えられた。また STRA8 会合因子の MS 解析から、STAR8 の相互作用因子として Rb/p107 が結合することが判明した。STRA8 には Rb ファミリーの結合コンセンサスモチーフ LxCxE 配列がある。これ以外にも STRA8 は HLH ドメインや Glu リピートを持つが、その生物学的意義は不明とされていた。さらに、減数第一分裂の開始には雌雄で性差があり、メカニズムに違いがあると推定されるが、本質的な機構は不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、減数第一分裂の細胞周期制御機構の解明を目的として①MEIOSIN の標的遺伝子の中より減数第一分裂前期に関わる新規因子のスクリーニングと表現型解析、②STRA8-Rb 相互作用の減数第一分裂の開始における役割の解明、減数第一分裂前期の雌雄性差の解析について、3 つ角度から検討を行った。

3. 研究の方法

①MEIOSIN の標的遺伝子 *Zfp541* と *Fbxo47* について、ノックアウトマウスを作成して減数第一分裂に対する影響について検討を行った。②STAR8 タンパク質中の LxCxE 配列、HLH ドメインや Glu リピートに変異を導入した変異型 *Stra8* 発現マウスを作製して表現型の解析を行った。LxCxE 変異型 *Stra8* 発現マウス *Stra8* KO マウスを用いて、減数分裂開始時期における雄と雌の生殖細胞の遺伝子発現パターンについて scRNA-seq で比較解析を行った。

4. 研究成果

①MEIOSIN の標的遺伝子 *Zfp541* と *Fbxo47* のノックアウトマウスについて検討を行ったところ、いずれも雄性不妊の表現型を示した。*Fbxo47* ノックアウトマウスでは、精母細胞における減数分裂の過程で、いったんは見かけ上相同染色体の対合が起きるものの、その対合状態が安定に維持できなくなることが判明した。その結果、FBXO47 遺伝子を欠損した精母細胞は減数分裂組換えがうまく起こらなくなるため減数分裂のプロセスを完了できずにやがて死滅してしまうことや、精子形成ができなくなり不妊となることが判明した。したがって、減数分裂の過程で FBXO47 は「相同染色体の対合」状態を安定に維持するメカニズムに必須の役割を果たしていることが示唆された。また ChIP-seq 解析および *Zfp541* 欠損マウス精母細胞の RNA-seq 解析から、ZFP541 は転写抑制複合体としてクロマチン・エピジェネティクスの制御に関連する遺伝子群の発現を抑制することにより、減数第一分裂前期のプログラムを終結させるように働いていると結論された。

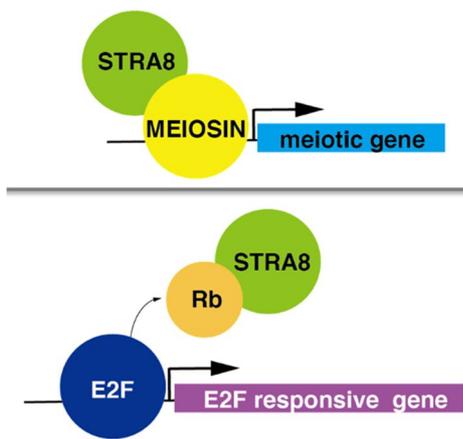
②STRA8 の HLH ドメインや Glu リピート領域を欠失させた変異型 *Stra8* 発現マウス、HLH ドメインを欠失させた変異型 *Meiosin* 発現マウスの表現型解析を行った。これらの変異体マウスでは、*Stra8* KO や *Meiosin* KO とは異なる表現型が見られるため、トランスクリプトームの比較解析によって、違いについての考察を詰める必要がある。

STRA8 タンパク質中の LxCxE 配列に変異を導入した変異型 *Stra8* 遺伝子をノックインさせたマウス(*Stra8* delLxCxE)を作製した。この変異型 *Stra8* 発現マウスは内在性 *Stra8*

プロモーターから発現する際に、GFP も発現するように設計されている。また *Stra8*-null で GFP が発現するコントロールマウスも作成して、比較検討を行った。この変異型 *Stra8* 発現マウスでは、STRA8 は MEIOSIN への結合はできるものの Rb/p107 に結合できなくなることを確認した。さらに、LxCxE モチーフ変異型 *Stra8* マウスの解析から、homozygous メスでは早期に卵子が枯渇することを確認した。この *Stra8* delLxCxE メス卵巣で見られる早期卵子枯渇は *Stra8*-null のメスと酷似するが、オスでは顕著な表現型はみられないため、STRA8-RB 相互作用はメス減数分裂に必須の役割があることが示唆された。

♀の減数分裂の開始期における STRA8-Rb 相互作用の生理的意義について scRNA-seq で STRA8 発現細胞の遺伝子発現パターンについて詳細な検討を行った。LxCxE 変異型 *Stra8* 発現マウスの胎生期 14, 15 日卵巣より、GFP 陽性細胞を分離して scRNA-seq で STRA8 発現細胞の遺伝子発現パターンの検討を行ったところ、G1/S への遷移が遅延していることや減数分裂関連遺伝子の発現の低下が見られた。*Stra8*-null 生殖細胞では多能性状態から脱出できずに分化が阻害されているため、*Stra8* delLxCxE メスマウスの表現型は STRA8 の機能そのものではなく、Rb との相互作用の欠損によるものと考えられた。これらの結果から STRA8 と Rb との相互作用が G1/S への遷移と減数分裂関連遺伝子の活性化とを協調していることが推測された(図)。その結果、LxCxE 変異型 *Stra8* 発現マウスの胎生期 18.5 日の scRNA-seq 解析から、*Stra8* delLxCxE マウスの卵子がドーマント状態を保てずに早期に排除されていることが示唆された。

pre-meiotic G1/S in oogonia



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Tanno N, Takemoto K, Takada-Horisawa Y, Shimada R., Fujimura S, Tani N., Takeda N., Araki K, Ishiguro K	4. 巻 104008
2. 論文標題 FBX047 is essential for preventing the synaptonemal complex from premature disassembly in mouse male meiosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishiguro K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Sexually dimorphic properties in meiotic chromosome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sexual Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000520682	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishiguro K, Shimada R.	4. 巻 96
2. 論文標題 MEIOSIN directs initiation of meiosis and subsequent meiotic prophase programs during spermatogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes and Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.21-00054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horisawa-Takada Y, Kodera C, Takemoto K, Sakashita A, Horisawa K, Maeda R, Shimada R, Usuki S, Fujimura S, Tani N, Matsuura K, Akiyama T, Suzuki A, Niwa H, Tachibana M, Ohba T, Katabuchi H, Namekawa S, Araki K, Ishiguro K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Meiosis-specific ZFP541 repressor complex promotes developmental progression of meiotic prophase towards completion during mouse spermatogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-23378-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oura S, Koyano T, Kodera C, Takada Y, Matsuyama M, Ishiguro K, Ikawa M.	4. 巻 17
2. 論文標題 KCTD19 makes complex with ZFP541 and HDAC1 and is required for meiosis exit in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009412	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Yasuhiro, Horisawa-Takada Yuki, Inoue Erina, Tani Naoki, Shibuya Hiroki, Fujimura Sayoko, Kariyazono Ryo, Sakata Toyonori, Ohta Kunihiro, Araki Kimi, Okada Yuki, Ishiguro Kei-ichiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Meiotic cohesins mediate initial loading of HORMAD1 to the chromosomes and coordinate SC formation during meiotic prophase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009048
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanno Nobuhiro, Kuninaka Shinji, Fujimura Sayoko, Takemoto Kazumasa, Okamura Kaho, Takeda Naoki, Araki Kimi, Araki Masatake, Saya Hideyuki, Ishiguro Kei-ichiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Phosphorylation of the Anaphase Promoting Complex activator FZR1/CDH1 is required for Meiosis II entry in mouse male germ cell	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-67116-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takemoto Kazumasa, Tani Naoki, Takada-Horisawa Yuki, Fujimura Sayoko, Tanno Nobuhiro, Yamane Mariko, Okamura Kaho, Sugimoto Michihiko, Araki Kimi, Ishiguro Kei-ichiro	4. 巻 31
2. 論文標題 Meiosis-Specific C19orf57/4930432K21Rik/BRME1 Modulates Localization of RAD51 and DMC1 to DSBs in Mouse Meiotic Recombination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107686 ~ 107686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 石黒啓一郎
2. 発表標題 体細胞分裂型から減数分裂型の細胞周期への切り替え機構
3. 学会等名 先端モデル動物支援プラットフォーム令和3年度成果発表会（大津）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 Sexually different mechanisms of meiotic cell cycle in mammalian germ cells
3. 学会等名 44th Annual meeting of Molecular Biology Society of Japan, Symposium (Yokohama) (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuki Shimada, Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 STRA8 plays multiple roles in gonadal development and meiotic cell cycle in mouse female germ cells
3. 学会等名 International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石黒啓一郎
2. 発表標題 減数分裂開始の性差
3. 学会等名 第93回日本遺伝学会大会 ワークショップ「非ゲノム情報複製機構による生命現象の制御」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石黒啓一郎
2. 発表標題 減数分裂の開始機構
3. 学会等名 第39回日本受精着床学会 シンポジウム「遺伝」(神戸)(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田幸, 小寺千聡, 竹本一政, 坂下陽彦, 前田亮, 島田龍輝, 立花 誠, 行川 賢, 荒木喜美, 石黒啓一郎
2. 発表標題 生殖細胞特異的ZFP541複合体は減数分裂前期脱出の転写制御に働く
3. 学会等名 日本エビジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石黒啓一郎
2. 発表標題 生殖細胞における体細胞分裂から減数分裂への切り替え機構と性差
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島田龍輝, 石黒 啓一郎
2. 発表標題 胎児期メス生殖細胞における減数分裂開始と細胞周期G1/S期の同調のメカニズム
3. 学会等名 第 38 回 染色体ワークショップ 第 19 回 核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石黒 啓一郎
2. 発表標題 減数分裂開始に必須の役割を果たすMEIOSINおよび STRA8のタンパク質ドメイン
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石黒 啓一郎
2. 発表標題 MEIOSINによる減数分裂のコントロール
3. 学会等名 第65回日本生殖医学会学術講演会・総会 教育講演 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 SWITCHING FROM MITOSIS TO MEIOSIS IS REGULATED BY SEXUALLY DIFFERENT MECHANISM IN MAMMALIAN GERM CELLS
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting 2020 GERM CELLS (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 MEIOSIN directs the switch from mitosis to meiosis in mammalian germ cells
3. 学会等名 53rd Annual Meeting of JSDB (Online meeting) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小寺千聡, 高田幸, 大場隆, 石黒啓一郎, 片瀨秀隆
2. 発表標題 減数分裂を制御する新規因子KCTD19を欠損した雄マウスは無精子症を呈し不妊となる
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第65回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nobuhiro Tanno, Shinji Kuninaka, Sayoko Fujimura, Kaho Okamura, Kimi Araki, Masatake Araki, Hideyuki Saya, Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 Phosphorylation of the Anaphase Promoting Complex activator Cdh1 regulates transition from Meiosis I to Meiosis II in mouse male germ cell
3. 学会等名 53rd Annual Meeting of JSDB (Online meeting)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丹野 修宏, 竹本 一政, 藤村 幸代子, 荒木 喜美, 石黒 啓一郎
2. 発表標題 FBX047は雄の減数第一分裂前期において相同染色体対合の安定化に働く
3. 学会等名 第 38 回 染色体ワークショップ 第 19 回 核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計13件

1. 著者名 石黒啓一郎 - 分担執筆	4. 発行年 2022年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 -
3. 書名 遺伝学の百科事典 継承と多様性の源	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 -
3. 書名 Hormone Frontier in Gynecology 2022年3月号 (Vol.29 No.1) 【特集 受精と胚発生をめぐる話題】	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 日本受精着床学会	5. 総ページ数 -
3. 書名 日本受精着床学会誌	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 -
3. 書名 Precision Medicine7月臨時増刊号 シングルセル解析の新たな可能性	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 -
3. 書名 BIO Clinica 5月号 疾患ゲノム研究の最前線	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 -
3. 書名 マウス・ラットモデル作製・解析プロフェッショナル	

1. 著者名 石黒啓一郎 - 分担執筆	4. 発行年 2021年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 -
3. 書名 ヒトゲノム事典	

1. 著者名 石黒啓一郎 (分担) 先端モデル動物支援プラットフォーム (AdAMS)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 320
3. 書名 マウス・ラットモデル作製・解析プロフェッショナル	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 94
3. 書名 BIO Clinica 2021年 2月号 不妊診療UPDATE 減数分裂開始因子MEIOSINとその標的遺伝子の変異による不妊	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版社	5. 総ページ数 2
3. 書名 週刊医学のあゆみ 275(7)	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 7
3. 書名 「細胞」8月号 特集 非ゲノム情報の複製機構 体細胞分裂から減数分裂へのスイッチ機構	

1. 著者名 石黒啓一郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 7
3. 書名 「細胞」5月増刊号 体細胞分裂と減数分裂における染色体・クロマチン構造の違い	

1. 著者名 石黒 啓一郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 5
3. 書名 実験医学4月号 カレントトピックス 生殖細胞の運命決定 体細胞分裂から減数分裂への細胞周期の切替え	

〔産業財産権〕

〔その他〕

熊本大学発生活医学研究所 染色体制御分野HP
http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/bunya_top/chromosome-biology/ronbun/research_map
<https://researchmap.jp/read0123107/researchmap>
<https://researchmap.jp/read0123107>
熊本大学発生活医学研究所染色体制御分野ホームページ
http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/bunya_top/chromosome-biology/ronbun/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------