

研究種目：特定領域研究
研究期間：2007～2011
課題番号：19057003
研究課題名（和文） 卵細胞における細胞周期の開始機構

研究課題名（英文） Cell Cycle Start in Eggs

研究代表者

岸本 健雄 (KISHIMOTO TAKEO)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
研究者番号：00124222

研究代表者の専門分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞周期、卵細胞、受精、細胞死、Mos-MAPK-Rsk、サイクリン-CDK、カスパーゼ

1. 研究計画の概要

有性生殖を行う多細胞生物にあっては、卵細胞は精子が侵入することによって胚発生を開始する。こうした受精による胚発生の開始は、S期の開始とその後のM期への移行に続く細胞周期の進行、およびそれらと並行しておこる雌雄両前核の融合——総じて、初期胚細胞周期の開始——として見られる。この受精による初期胚細胞周期開始の分子機構については、細胞周期制御の基本原則が確立したにもかかわらず、依然として不明である。この生物学上の古典的命題に対して解答を見出すことが、本研究計画の目的である。一方、受精しない場合は卵細胞は細胞死に至る。この経路もあわせて究明し、受精による卵細胞の起死回生の全容を判明させて、胚発生の開始機構を解明する突破口としたい。

2. 研究の進捗状況

(1) ヒトデ成熟未受精卵はG1期に停止して受精を待つ。この停止は、Mos-MAPKの直下での「dual lock」——Rsk (p90 ribosomal S6 kinase) を介した経路によるS期への移行抑制と、Rskを介さない経路によるM期への移行抑制——によって実現されることを見出した。これは、DNA複製チェックポイントが非機能的な系におけるG1期制御システムを初めて明らかにするものである。

(2) 上記(1)について、S期抑制は、RskがCdc45 (DNA polymerase α の積載因子)の染色体積

載を抑制することによる；M期抑制は、MAPKがcyclin Aとcyclin Bのタンパク合成を、poly (A)鎖の伸長非依存的に抑制することによると判明した。

(3) カエル成熟未受精卵は減数第2分裂中期に停止して受精を待つ。この停止の解除には、従来いわれていたCaMKIIだけでなく、カルシニューリン (CaN) も必要であることを明らかにした。これは、CaNの新規機能の発見でもある。

(4) ヒトデ受精卵においては、G1期からS期の中に、雌雄両前核の接近と融合がおこる。こうした核融合は、細胞周期の進行を必要としないが、間期に起こるにもかかわらずM期に機能するサイクリンB-Cdk1の低レベルの活性を必要とし、それは精子星状体の形成のためであることを見出した。これは核融合の制御について全く新たな視点を切り開くとともに、M期Cdkの間期における役割を初めて明らかにするものである。

(5) ヒトデ成熟卵は、受精が起こらない場合、減数分裂完了後8時間で同調的なアポトーシスを起こして死滅する。このヒトデ未受精卵アポトーシスの実行因子であるカスパーゼは、哺乳類カスパーゼ3と9の両方の特性を持つことを見出し、カスパーゼ3/9と名付けた。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

未受精卵における細胞周期の停止、受精による細胞周期の再開、受精時の雌雄両前核の融合、および受精しなかった場合の細胞死について、ヒトデ卵の特性を生かして先導的知見を生み出し、新規の概念を提唱するに及んでおり、きわめて順調といえる。しかも、これらの項目のほとんどについて、それぞれの成果を原著論文として国際的にきわめて評価の高い雑誌に既に公表するに至っている。

4. 今後の研究の推進方策

ヒトデ卵の特性を活用して、未受精卵の細胞周期停止と受精によるその解除、受精時の雌雄両前核の融合、受精しなかった際の細胞死の各点について分子機構をさらに解明していく。特に焦点となるのは、以下の諸項目である。

- (1) 未受精卵のG 1 期停止のうちのS期抑制については、Rsk が Cdc45 の染色体への積載を抑制する機構であり、Rsk の直接の標的、および、それと Cdc45 との関係の解明である。
- (2) 未受精卵のG 1 期停止のうちのM期抑制については、MAPK が poly (A) 鎖の伸長非依存的にM期 cyclins のタンパク合成を抑制する際の、直接の標的の解明である。
- (3) 受精によるG 1 期停止の解除については、MAPK-Rsk 経路の最上流に位置する Mos の、受精によるタンパク分解の誘起機構の解明である。
- (4) 受精時の雌雄両前核の融合については、精子星状体の形成とその中心体の分離に、低レベル活性の cyclin B-Cdk1 にかに寄与するかの解明である。
- (5) 受精しなかった場合の細胞死については、減数分裂完了後 8 時間に特異的に起こる MAPK 不活性化が、カスパーゼ 3/9 活性化のためのプロカスパーゼ 3/9 の切断をいかにしてもたらずのかの解明である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件、全て査読有り)

- ① Tachibana, K., Mori, M., Matsuhira, T., Karino, T., Inagaki, T., Nagayama, A., Nishiyama, A., Hara, M., and Kishimoto, T. (2010). Initiation of DNA replication after fertilization is regulated by p90Rsk at pre-RC/pre-IC transition in starfish eggs.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 5006-5011.

- ② Hara, M., Mori, M., Wada, T., Tachibana, K., and Kishimoto, T. (2009). Start of the embryonic cell cycle is dually locked in unfertilized starfish eggs. *Development* 136, 1687-1696.

- ③ Tachibana, K., Hara, M., Hattori, Y., and Kishimoto, T. (2008). Cyclin B-Cdk1 controls pronuclear union in interphase. *Curr. Biol.* 18, 1308-1313.

- ④ Hirohashi, N., Harada, K., and Chiba, K. (2008). Hormone-induced cortical maturation ensures the slow block to polyspermy and does not couple with meiotic maturation in starfish. *Dev. Biol.* 318, 194-202.

- ⑤ Nishiyama, T., Ohsumi, K., and Kishimoto, T. (2007). XErp1 phosphorylation by p90Rsk is required for cytostatic factor arrest in *Xenopus* eggs. *Nature* 446, 1096-1099.

[学会発表] (計 49 件)

- ① Kishimoto, T. Dual lock for cell cycle arrest in unfertilized mature starfish eggs. Les Treilles Conference "Meiotic Division in Oocytes", 2009 / 6 / 22-27, Les Treilles, France.

- ② Kishimoto, T. Revisit to MPF. Jacques Monod Conference "The cell cycle and genomic instability", 2008 / 4 / 26-30, Roscoff, France.

- ③ Kishimoto, T. Cell cycle start after fertilization. EMBO Workshop "Molecular Mechanisms of Cell Cycle Control in Normal and Malignant Cells": XIV European Cell Cycle Conference, 2007 / 10 / 5-8, Spetses, Greece.

[図書] (計 4 件)

- ① Nishiyama, T., Tachibana, K., and Kishimoto, T. Wiley-Blackwell, UK, Cytostatic arrest: Post-ovulation arrest until fertilization in metazoan oocytes. In "Oogenesis: The Universal Process" (ed. Verlhac, M.H.) (2010), Chapter 14, pp.357-384.

- ② 岸本健雄 (監修). 秀潤社、細胞工学 (1 月号) 特集「細胞周期研究の新たなステージ」(2009)、pp. 1-58.

[その他]

特定領域「細胞増殖制御」ホームページ

<http://www.cellprolif.bio.titech.ac.jp/>
東工大・岸本研究室ホームページ

<http://www.cell-dev.bio.titech.ac.jp/>