

減数分裂プログラムの制御における雌雄性差

熊本大学・発生医学研究所・染色体制御分野
石黒啓一郎

1. 生殖細胞の発生過程と減数分裂

生殖細胞では、減数分裂と呼ばれる2回の連続した染色体分配と細胞分裂の過程を経てゲノムが半数化され、精子・卵子が形成される。減数第一分裂前期と呼ばれる時期は細胞周期のG2期に相当するが、この時期には相同染色体どうしの対合と減数分裂組換えによる二価染色体の形成など、体細胞では見られない染色体の変化が観察される¹⁾。このように減数分裂の分子機構は、本質的には細胞周期に減数分裂仕様の染色体制御のプログラムが上乗せされたものと見なすことができる。

減数分裂は生殖巣における生殖細胞の発生のコンテキストから理解することが求められる。さらに減数分裂進行の制御には雌雄性差があることが知られている(図1)²⁾。精巣では思春期以降ほぼ生涯にわたって減数分裂が起きて精子産生が繰り返されるのに対して、卵巣では胎児期に減数分裂が開始される。はじめ始原生殖細胞は、XX型、XY型の性染色体構成にかかわらず多能性幹細胞関連遺伝子を発現する細胞として生殖巣に出現するが、この時点で雌雄の性差を区別する性質は現れていない³⁾。

その後、生殖細胞をとりまく生殖巣内の体細胞が性決定を受けると、生殖細胞自身に雌雄性差が現れる。XX型生殖細胞はそれを取りまく体細胞からWntシグナル⁴⁾やBMPシグナル^{5,6)}を受けて、減数分裂にコンピテントな状態になることが知られている。やがて中腎から分泌されるレチノイン酸に応答してXX型生殖細胞は減数分裂に移行する。その後、XX型生殖細胞は減数第一分裂前期の途中で、いったん停止の状態に入る。この卵子の休眠状態は一種の細胞周期のG2期での長期停止状態と見ることができ、その後の排卵によって減数第一分裂を再開するまでの期間はヒトの場合は40年以上にも及ぶ。これにより、メスの生殖細胞は胎児期の時期に減数分裂に入ったプールによって、生殖可能ライフスパンを支える卵子数が決定される。胎児期精巣では体細胞で高発現するCyp26B1によってレチノイン酸が代謝されるため、XY型生殖細胞はこのシグナルに応答せずこの時点で減数第一分裂に進行することはない。XY型生殖細胞はやがてG0静止期に入り分裂を止めるが、思春期以降になると精子幹細胞から精母細胞への分化が持続的に供給されて減数分裂が開始される。このように、生殖細胞の発生過

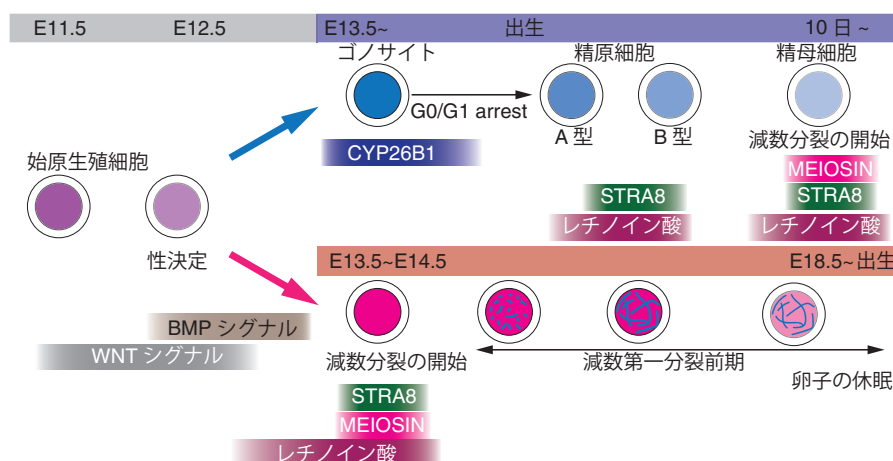


図1 減数分裂のタイミングの性差

受精12日後頃、マウス始原生殖細胞は性決定を受ける。それと同時にメス生殖細胞は胎児期の卵巣でWntやBMPシグナルを受けて、減数分裂にコンピテントな状態になる。受精13-14日後には、レチノイン酸に反応してメス生殖細胞は減数分裂に移行する。マウスでは出生前後の頃、卵子は減数第一分裂前期の途中で休眠状態に入る。胎児期精巣では、オス生殖細胞は細胞分裂を止めてゴノサイトと呼ばれる。この時点では、Cyp26B1によってレチノイン酸が代謝され、オス生殖細胞は減数分裂に進行することはない。

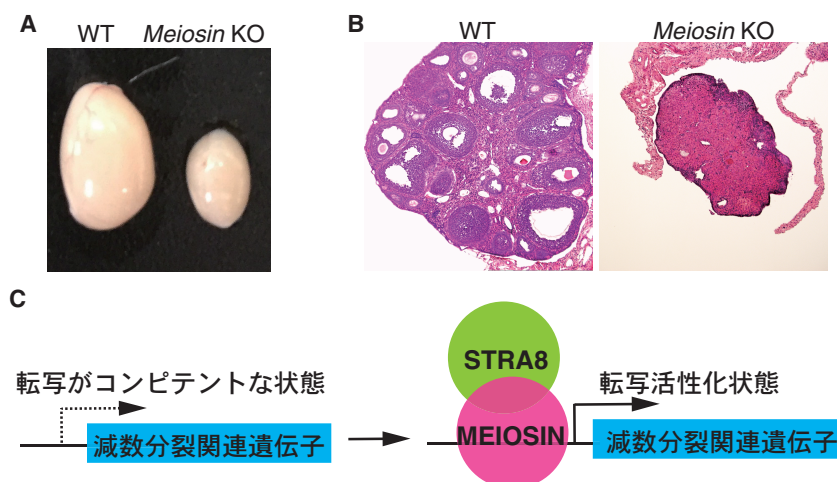


図2 MEIOSINは減数分裂関連遺伝子の転写活性化に働く

- (A) *Meiosin* 欠損マウスの精巣は萎縮している。この精巣では減数分裂への進行が見られず、精子が形成されていない。
- (B) *Meiosin* 欠損マウスにおける卵巢は萎縮が見られ、卵子は早期に枯渇する。
- (C) 減数分裂関連遺伝子はレチノイン酸や BMP, WNT などのシグナルを受けたり、ポリコーム抑制複合体から解除されて、減数分裂に進行する直前には弱いながら転写がコンピテントな状態に置かれている。MEIOSIN は STRa8 と複合体を形成して減数分裂関連遺伝子のプロモーターに結合して転写活性化に働く。

程では雌雄で異なる分泌性シグナルの応答が減数分裂開始のタイミングを制御することが知られている。

2. 減数分裂の開始に働く転写活性化因子

生殖細胞において体細胞分裂から減数分裂への切り替えが何によって制御されているのかという問題は、長年の謎とされていた。雌雄ともに生殖細胞は生殖巣内でレチノイン酸に応答して減数分裂に進行することが知られていた⁷⁻⁹⁾。ヒトやマウスではレチノイン酸に応答した生殖細胞において、STRa8と呼ばれるタンパク質が一過的に発現誘導されることが知られていた¹⁰⁻¹³⁾。この STRa8 の発現誘導は、メスでは中腎からのレチノイン酸分泌を受けて始原生殖細胞が減数分裂に移行する胎児期 E13.5-14.5日頃の卵巢内で見られる(図1)。オスにおいては、STRa8の発現誘導はセルトリ細胞からのレチノイン酸分泌を受けてA型精原細胞のB型への分化のタイミングと精原細胞が精母細胞に分化するタイミングの2度見られる(図1)⁹⁾。しかしながら、STRa8タンパク質には明確な機能ドメインやモチーフが見当たらず、その分子機能は長らく謎とされていた。最近われわれは、STRa8と相互作用する新規の生殖細胞特異的タンパクを同定した¹⁴⁾。われわれが MEIOSIS initiator (MEIOSIN) と名付けたタンパク質は、HMG-like ドメインと HLH ドメ

インをもつ DNA 結合因子と推測された。この MEIOSIN と STRa8は精巣および卵巢内で生殖細胞が減数分裂へと移行する時期に一過的に核内に出現する。実際に *Meiosin* 遺伝子を欠損させると、雄雌ともに精巣・卵巢の萎縮を伴って不妊となることが判明した(図2A, B)。 *Meiosin* を欠損させた生殖細胞では減数分裂に特徴的な染色体動態は全く見られず、体細胞様の特徴を示す細胞が蓄積していた。このことは、*Meiosin* を欠損させた生殖細胞が体細胞分裂から減数分裂への転換ができずに、依然として体細胞分裂様の細胞周期の制御下に置かれていることを示唆している。これら一連の解析から、MEIOSIN は STRa8と複合体を形成して体細胞分裂から減数分裂へのスイッチとして働く役割があることが示唆された。

MEIOSIN タンパク質には HMG-like ドメインと呼ばれる DNA 結合ドメインが見られる。事実、MEIOSIN は STRa8と複合体を形成して減数分裂に関連する遺伝子のプロモーターに結合することが ChIP-seq を用いたゲノム結合部位の解析から明らかとなった(図2C)。実際に MEIOSIN の標的遺伝子の多くは、*Meiosin* ノックアウトマウスの精母細胞集団で大幅な発現低下が見られ、減数分裂に進行できなくなる表現型とよく符号する。これらの結果を合わせて、MEIOSIN-STRa8複合体は減

数分裂関連遺伝子を活性化するスイッチの役割を果たしていると考えられる。なお、ChIP-seq 解析データの詳細な検討から、MEIOSIN の結合部位は遺伝子のエンハンサー領域やプロモーター上流領域ではなく転写開始点とよく一致することは注目される。これらの遺伝子は減数分裂に進行する直前には、ポリコームによる抑制からの解除やレンチノイン酸や BMP などのシグナルを受けて、弱いながら転写がコンピテントな状態に置かれている^{6,15)}。MEIOSIN-STR A8 複合体はポリメラーゼ II 或いは基本転写調節因子などに直接作用して、短期間で急速に転写発火の効果を発揮していることが示唆される。

MEIOSIN 標的遺伝子の機能解明

先述のように MEIOSIN は STR A8 と複合体を形成して減数分裂関連遺伝子のプロモーターに結合してこれらを活性化する。減数分裂の開始因子の発見により、MEIOSIN の標的遺伝子には未解析遺伝子が多く含まれることが判明した。これらの未解析遺伝子は軒並み機能を推定できるドメインがないため機能不明とされるが、減数分裂で何らかの役割を担う可能性がある。実際に、MEIOSIN の標的となる未解析遺伝子について機能解析を進めたところ、減数分裂に必須の役割を果たす新規の遺伝子が複数同定された。このうち最近の成果 3 例について紹介する。

4930432K21rik (*Brme1*) および 4932437G14Rik (*Hsf2bp*) は MEIOSIN-STR A8 複合体によって直接制御される標的遺伝子であるが、これらは二量体として複合体を形成して減数分裂組換えにおいて BRCA2-RAD51 リコンビナーゼをリクルートする新規の DNA 修復因子であることが判明した¹⁶⁾。*Brme1* と *Hsf2bp* はメス第一分裂前期の卵母細胞でも弱く発現するが、欠損マウスはオス特異的に強い表現型を示す。欠損マウスでは、減数第一分裂前期のパキテン期で大部分の精母細胞が停止してしまい、自然交配ではほぼ不妊となる。また同時期に 4932437G14Rik (*Hsf2bp*) は、他のグループによってもヒト原発性卵巣不全患者の原因遺伝子の候補として報告された¹⁷⁾。

興味深いことに、本来は精巣でしか発現しないはずの遺伝子がある種の癌化細胞で異所性に発現する場合があります。このような遺伝子がコードするタンパク質は testis cancer antigen と呼ばれる。in silico 解析により 4930432K21rik (*Brme1*) および 4932437G14Rik (*Hsf2bp*) 遺伝

子は、複数の腫瘍や癌化細胞株で高発現していることが明らかとなった。減数分裂組換え過程では、これらは BRCA2-RAD51 リコンビナーゼを適切に導いて相同染色体を鋳型として組換えを達成させる働きがある。これに対して、体細胞で *Brme1* および *Hsf2bp* 遺伝子が異所性に発現してしまうと、BRCA2-RAD51 リコンビナーゼに作用して通常なら姉妹染色分体を鋳型とする相同組換えの経路を干渉してしまい DNA 損傷の蓄積をもたらすことが示唆される。

また Zinc finger ドメインタンパク質をコードする *Zfp541* も MEIOSIN 標的遺伝子の 1 つとして同定された遺伝子である¹⁸⁾。ZFP541 タンパク質はその zinc finger ドメインを介して DNA に直接結合して転写抑制複合体を形成する^{18,19)}。精巣では減数分裂が完了すると引き続きヒストンの脱離とプロタミンへの置き換えや核が高度に凝縮されるなど精子形成に特徴的な発生プログラムが進行する。とりわけ精母細胞では減数第一分裂の終盤になると、ヒストン修飾変化、ヒストンバリエーションの置換を伴ってそれまで恒常的に活性化されていた多くの遺伝子の発現が不活性化されることが知られている。ChIP-seq を用いたゲノム結合部位の解析から、減数第一分裂において ZFP541 はクロマチン結合因子やヒストン修飾など転写制御に関連するタンパク質をコードする遺伝子を標的として、これらクロマチン・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ように働いていると考えられる。

Fbxo47 も同様に MEIOSIN 標的遺伝子の 1 つとして同定されたもので、F-box ドメインタンパク質をコードする²⁰⁾。この遺伝子を欠損すると減数第一分裂前期において相同染色体どうしはいったん対合するものの、早期に解離してしまい二価染色体を形成することができなくなる。この場合も、オスの精母細胞は減数第一分裂前期の終盤で死滅するが、メス妊性に影響は見られなかった。一般に F-box ドメインを持つタンパク質は、SCF E3 リガーゼの基質認識サブユニットとして機能することが知られている。FBXO47 が SCF E3 リガーゼの基質認識サブユニットとして取り込まれてタンパク質ユビキチン化に働くかどうかは不明であるが、なんらかの仕組みで FBXO47 は減数第一分裂前期の相同染色体の対合を安定に維持する働きがあることが示唆される。

減数分裂制御の雌雄性差

先述のようにマウスのオス減数分裂で欠陥を現すもののメスでは顕著な表現型を示さない例が散見される。減数第一分裂の素過程では、おおむね共通のメカニズムが働くが、その制御には雌雄差が見られることが知られている。とりわけマウスのメスでは、減数分裂組換えにおいてゲノム上の組換えのポジションに偏りがあることや、それに伴う二価染色体のキアズマの位置の偏りや染色体対あたりの交差数に差があり、オスに比べてその数が若干多いことが知られている。減数分裂組換えは遺伝情報の多様性を生み出すこと以外に、キアズマの形成を介して第一分裂時に相同染色体間に張力を発生して分配エラーを起こさないように働くというもう1つの重要な役割がある。老化に伴って高くなりがちな卵子の第一分裂の染色体分配エラー頻度を補償する仕組みと見る解釈もあるが、その生物学的意義は十分に解明されていない。

減数第一分裂の素過程において何らかの支障が生じると、直接的あるいは間接的な結果として相同染色体の対合がうまく行かなくなる場合が多く知られている。オスでは、パキテンチェックポイントと呼ばれる機構により相同染色体の対合が達成されたかどうか厳密にチェックされ、欠陥を示す精母細胞は積極的に排除される^{21, 22)}。一方、メスの減数分裂ではこのチェックポイント機構が甘く、第一分裂の素過程で生じた不具合に寛容であることが知られている。逆に言い換えれば、メスの卵巣では胎児期に減数分裂に進行した限られた数の卵子リソースを、多少のリスクを払ってでも確保する戦略をとっているものとも解釈される。この見方が妥当であるかは今後の疾患モデル動物を用いた分子メカニズムの検討が期待される。また、ある遺伝子のノックアウトマウスにおいてマウスのオスだけに不妊を示す表現型が、ヒト遺伝子の変異では原発性卵巣不全の原因として報告されている例もある¹⁷⁾。したがって、実験動物で得られる不妊のメカニズムの知見がヒトで顕在化する表現型と必ずしも符合しないケースがあることにも留意する必要があるだろう。このように、減数分裂に関わる遺伝子の役割が雌雄で異なるウェイトを示す現象を考える場合には、一見正常に見える表現型の背後に隠された欠陥がある可能性について検討することが求められる。

先述のようにMEIOSIN 標的遺伝子の中から、減数分裂に必須の役割を果たす新規の遺伝子が発見されてお

り、まだ多くがデータベース上で埋もれている可能性がある。またこれらの遺伝子はヒトにも保存されていることがわかっており、疾患モデル動物を用いた解析は不妊の原因解明に大いに資することが期待される。

引用文献

1. Zickler D, Kleckner N (2015) Recombination, Pairing, and Synapsis of Homologs during Meiosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a016626.
2. Ishiguro K (2021) Mechanism of initiation of meiosis in mouse germ cells. *Current Topics in Developmental Biology*, in press.
3. Saitou M, Yamaji M (2012) Primordial germ cells in mice. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4, a008375.
4. Le Rolle M, Massa F, Siggers P, Turchi L, Loubat A, Koo BK, Clevers H, Greenfield A, Schedl A, Chaboissier MC, Chassot AA (2021) Arrest of WNT/ β -catenin signaling enables the transition from pluripotent to differentiated germ cells in mouse ovaries. *Proc Natl Acad Sci USA* 118, e2023376118. doi: 10.1073/pnas.2023376118.
5. Miyauchi H, Ohta H, Nagaoka S, Nakaki F, Sasaki K, Hayashi K, Yabuta Y, Nakamura T, Yamamoto T, Saitou M (2017) Bone morphogenetic protein and retinoic acid synergistically specify female germ-cell fate in mice. *EMBO J* 36, 3100–3119.
6. Nagaoka SI, Nakaki F, Miyauchi H, Nosaka Y, Ohta H, Yabuta Y, Kurimoto K, Hayashi K, Nakamura T, Yamamoto T, Saitou M (2020) ZGLP1 is a determinant for the oogenic fate in mice. *Science* 367, eaaw4115. doi: 10.1126/science.aaw4115.
7. Koubova J, Menke DB, Zhou Q, Capel B, Griswold MD, Page DC (2006) Retinoic acid regulates sex-specific timing of meiotic initiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 2474–2479.
8. Bowles J, Knight D, Smith C, Wilhelm D, Richman J, Mamiya S, Yashiro K, Chawengsaksophak K, Wilson MJ, Rossant J, Hamada H, Koopman P (2006) Retinoid signaling determines germ cell fate in mice. *Science* 312, 596–600.
9. Endo T, Romer KA, Anderson EL, Baltus AE, de Rooij DG, Page DC (2015) Periodic retinoic acid-STRA8 signaling intersects with periodic germ-cell competencies to regulate spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 112, 2347–2356.
10. Oulad-Abdelghani M, Bouillet P, Décimo D, Gansmuller A, Heyberger S, Dollé P, Bronner S, Lutz Y, Chambon P (1996) Characterization of a premeiotic germ cell-specific cytoplasmic protein encoded by Stra8, a novel retinoic acid-responsive gene. *J Cell Biol* 135, 469–477.
11. Anderson EL, Baltus AE, Roepers-Gajadien HL, Hassold TJ, de Rooij DG, van Pelt AMM, Page DC (2008) Stra8 and its inducer, retinoic acid, regulate meiotic initiation in both spermatogenesis and oogenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 14976–14980.
12. Baltus AE, Menke DB, Hu YC, Goodheart ML, Carpenter

- AE, de Rooij DG, Page DC (2006) In germ cells of mouse embryonic ovaries, the decision to enter meiosis precedes premeiotic DNA replication. *Nat Genet* 38, 1430–1434.
13. Mark M, Jacobs H, Oulad-Abdelghani M, Dennefeld C, Féret B, Vernet N, et al (2008) STRA8-deficient spermatocytes initiate, but fail to complete, meiosis and undergo premature chromosome condensation. *J Cell Sci* 121, 3233–3242.
14. Ishiguro KI, Matsuura K, Tani N, Takeda N, Usuki S, Yamane M, Sugimoto M, Fujimura S, Hosokawa M, Chuma S, Ko MSH, Araki K, Niwa H (2020) MEIOSIN directs the switch from mitosis to meiosis in mammalian germ cells. *Dev Cell* 52 (4), 429–445.
15. Kojima ML, de Rooij DG, Page DC (2019) Amplification of a broad transcriptional program by a common factor triggers the meiotic cell cycle in mice. *Elife* 8, e43788.
16. Takemoto K, Tani N, Takada-Horisawa Y, Fujimura S, Tanno N, Yamane M, Okamura K, Sugimoto M, Araki K, Ishiguro KI (2020) Meiosis-specific C19orf57/4930432K21Rik / BRME1 modulates localization of RAD51 and DMC1 to DSBs in mouse meiotic recombination. *Cell Reports* 31, 107686.
17. Felipe-Medina N, Caburet S, Sánchez-Sáez F, Condezo YB, de Rooij DG, Gómez-H L, García-Valiente R, Todeschini AL, Duque P, Sánchez-Martin MA, Shalev SA, Llano E, Veitia RA, Pendás AM (2020) A missense in HSF2BP causing primary ovarian insufficiency affects meiotic recombination by its novel interactor C19ORF57/BRME1. *Elife* 9, e56996.
18. 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 SH, Araki K, Ishiguro KI (2021) Meiosis-specific ZFP541 repressor complex promotes developmental progression of meiotic prophase towards completion during mouse spermatogenesis. *Nature Communications* 12, 3184.
19. Oura S, Koyano T, Kodera C, Horisawa-Takada Y, Matsuyama M, Ishiguro KI, Ikawa M (2021) KCTD19 makes complex with ZFP541 and HDAC1 and is required for meiosis exit in male mice. *PLOS Genet* 17 (5), e1009412.
20. Tanno N, Takemoto K, Takada-Horisawa Y, Shimada R, Fujimura S, Tani N, Takeda N, Araki K, Ishiguro KI (2022) FBXO47 is essential for preventing the synaptonemal complex from premature disassembly in mouse male meiosis. *iScience* 25, 104008. doi : 10.1016/j.isci.2022.104008.
21. Ishiguro K (2022) Sexually dimorphic properties in meiotic chromosome. *Sex Dev* doi, 10.1159/000520682.
22. Handel MA, Schimenti JC (2010) Genetics of mammalian meiosis: regulation, dynamics and impact on fertility. *Nat Rev Genet* 11, 124–136.