総説

受精卵における細胞内リモデリングのメカニズム

佐藤 美由紀

群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野

要旨：卵子は受精によってすべての細胞に分化しうる胚へと変化する。モデル生物である線虫 *C.elegans* を用いた解析から、この時期には発生と連動して分泌・エンドサイトーシス・オートファジーといった細胞内輸送系が制御され、細胞内外成分の再編成が起きることが明らかとなってきた。また受精卵において、オートファジーは精子から持ち込まれた父性ミトコンドリアとそのゲノムの分解を担うことを見出した。多くの動植物においてミトコンドリアゲノム (mt ゲノム) が母系からのみ子孫に受け継がれる母性遺伝という現象が知られているが、そのメカニズムはよくわかっていなかった。われわれの結果から、オートファジーによる父性ミトコンドリア分解が mt ゲノムの母性遺伝を成立させるために必須なメカニズムであることが明らかとなった。

キーワード：受精, 分解, 分泌, エンドサイトーシス, オートファジー, ミトコンドリア

はじめに

受精は生命が誕生する瞬間であり、それにより高度に分化した生殖細胞である卵母細胞は受精卵 (胚) へと変化する (oocyte-to-zygote transition)。また卵母細胞は受精によってすべての種類の細胞へと変化する全能性を獲得する。この時期には染色体の構造や遺伝子の発現様式の転換が重要であるのはもちろんであるが、細胞質成分の再編成が起きることも知られている。例えば受精卵における卵母細胞由来 mRNA の大規模な分解や、減数分裂期特異的なタンパク質のプロテアソームによる選択的分解である (図 1) (Stitzel and Seydoux, 2007)。これら分解を介した再編成は、正常な胚発生に必須である。しかし、受精卵において細胞を形作る膜成分やオルガネラの変化についてはこれまでほとんど知見がなかった。筆者らは優れたモデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* の生殖腺を用い、分子遺伝学と細胞生物学を組み合わせた解析を行うことで、この受精卵の内部の構造変化を明らかにしようと試みた。その結果、受精後には細胞内の物質輸送を担うメンブレントラフィック経路のダイナミッ

クな制御を通じて、オルガネラの形態や構成因子が大きく変化することが明らかとなってきた。さらに

図 1 受精後に起きる細胞内・細胞外成分の再編成

通常動物においては、卵母細胞は減数分裂の途中（線虫の場合は第一減数分裂前期）で休止し、受精後に減数分裂を再開・完了する。その後、雌雄の前核融合、体細胞分裂（卵割）の開始へと発生が進行する。この発生のプログラムとリンクして、細胞外や細胞内の成分の再編成が起きる。

Correspondence: Miyuki Sato, m-sato@gunma-u.ac.jp

佐藤 美由紀：〒 371-8512 群馬県前橋市昭和町 3-39-15
群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野

掲載受理日：2012 年 11 月 18 日

この過程にはリソソームによる分解経路が積極的な役割を担っていることが明らかとなった (図1・2)。

1. 表層顆粒の分泌による細胞外環境の変化

筆者らは受精卵のオルガネラなど膜成分の挙動を生きた個体で観察するため、さまざまなタンパク質に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を融合し生殖腺で発現させた。その中で、カベオリンの線虫ホモログである CAV-1 と GFP の融合タンパク質 (CAV-1-GFP) は卵母細胞において直径 1-2 μm の大きな顆粒に局在し、この顆粒は受精直後に同調的に細胞膜へと融合することを見出した (Sato et al. 2006)。その後の解析から、CAV-1-GFP が局在するこの顆粒はこれまで未同定であった線虫における表層顆粒であることが明らかとなった (Sato et al. 2008)。表層顆粒の分泌は一般に複数の精子の侵入 (多精) の防止の役割を持つと考えられてきたが、線虫の場合は表層顆粒の分泌を阻害しても多精にはならなかった。しかし、表層顆粒の分泌阻害は受精後の細胞質分裂に異常を示し、正常な卵割が起きないことが明らかとなった (Sato et al. 2008)。線虫の表層顆粒の成分としては、コンドロイチンプロテオグリカン (CPG) やムチン様タンパク質などの細胞外マトリックスが同定されている。このうち CPG の

合成酵素の阻害は胚において細胞質分裂の異常を示すことが報告されており (Mizuguchi et al. 2003)、表層顆粒の分泌阻害の表現型とよく一致する。これらの結果から、表層顆粒の時期特異的分泌によって受精後に細胞外マトリックスが変換され、細胞外環境が変化することが、正常な胚発生に必須であると考えられた (図1)。

2. エンドサイトーシス経路による母性膜タンパク質の選択的分解

リソソームは内部に消化酵素を豊富に含むオルガネラであり、プロテアソーム系とならび細胞内成分の主要な分解系の一つである。タンパク質などの分解を受ける基質をリソソーム内部に運ぶためには膜の変形や融合を介した輸送システムが必要であり、主にエンドサイトーシスとオートファジーの経路が知られている (図2)。エンドサイトーシスは細胞膜上のタンパク質や細胞外の成分を膜で囲まれた小胞を介して内部に取り込むシステムである。取り込まれた基質はエンドソームを介してリソソームへと運ばれる。筆者らは線虫受精卵においてエンドサイトーシスの活性を可視化することにより、受精直後の1細胞期においてエンドサイトーシスが強く活性化されることを見出した (Sato et al. 2006)。このエンドサイトーシスにより、卵母細胞

図2 リソソームへの輸送経路

リソソームは細胞内成分の主要な分解系の一つである。エンドサイトーシス経路においては、細胞膜タンパク質や細胞外成分が小胞によって細胞内部へ取り込まれ、エンドソームを経てリソソーム内部へ運ばれる。オートファジー経路では、細胞質の一部（タンパク質やオルガネラを含む）がオートファゴソーム膜によって囲い込まれ、さらにリソソームと融合することで内容物を分解するシステムである。

の細胞膜に存在していた一群の膜タンパク質が細胞内へ取り込まれ、第一分裂が始まるまでの短時間の間にリソソームへと輸送され分解されていた (Sato et al. 2006, Audhya et al. 2007)。このエンドサイトシスによる分解には基質選択性があり、コントロールされた選択的分解であると考えられた。細胞膜は細胞間シグナルを受容する場所であり、様々なシグナリング関連因子が存在している。胚発生の開始期にはこれら細胞膜成分を卵子型から胚型に置換する必要があるのではないかと考えられる。

3. オートファジー経路による父性オルガネラの分解とミトコンドリアゲノムの母性遺伝

また、リソソームへ向かうもう一つの経路であるオートファジーとは、細胞が自分自身の一部（タンパク質や細胞内小器官）をオートファゴソームという膜で包みこみ、リソソームと融合させることで内容を分解するシステムである (図2) (Nakatogawa et al. 2009)。オートファジーの活性をモニターすると、こちらでも1細胞期において一過的な誘導が観察された (Sato and Sato 2011)。おもしろいことに、オートファゴソーム膜は受精卵の非常に限られた場所にのみ現れ、受精によって侵入した精子前核のごく近傍に多数のオートファゴソームが形成されていた。このオートファゴソームに取り込まれる標的を探索したところ、受精によって精子から持ち込まれるミトコンドリアや Membranous organelles (MOs) といった父方由来のオルガネラが選択的に取り込まれていることが判明した。ミトコンドリアは真核細胞においてエネルギー生産を担う重要な細胞内小器官である。また、ミトコンドリアは細菌の共生を起源とするオルガネラであり、核ゲノムとは別の独自のゲノム DNA (mtDNA) を持っている。

mtDNA の変異は、骨格筋・脳などに異常を生じるミトコンドリア病の原因となることが知られているほか、糖尿病の発症やガン細胞の悪性度にも深く関与している (Wallace 1999, Maassen et al. 2004, Ishikawa et al. 2008)。興味深いことに、性を持つ多くの動植物において mtDNA は必ず片親から、多くの場合母方のみから遺伝する“母性遺伝”の様式をとることが広く知られている。ところが、mtDNA が母性遺伝する具体的なメカニズムについては実ははっきりとわかっていなかった。そこで、オートファジー経路が阻害されるような変異体の mtDNA を調べてみたところ、通常は発生初期に分解されてしまう父方 mtDNA が次世代の個体にも検出された。このように線虫においては、父方ミトコンドリアとそこに含まれる mtDNA がオートファジーで分解されることにより mtDNA の母性遺伝が成立していることが明らかとなり、mtDNA 母性遺伝の謎の一部を解明することができた (図3) (Al Rawi et al. 2011, Sato and Sato 2011)。また、MOs は線虫精子に特異的な膜構造であり、精子が受精能を獲得するのに必須であるが、具体的な機能はよくわかっていない (L'Hernault 2006)。この MOs も受精に伴い卵母細胞内に持ち込まれるが、父性ミトコンドリアと同時期にオートファジーによって分解されることから、筆者らはこの受精直後に誘導されるオートファジーを“Allophagy” (allogeneic organelle autophagy ; 非自己オルガネラのオートファジー) と呼ぶことを提唱している (Sato and Sato 2012)。

おわりに

このように、受精直後には細胞内輸送系の制御によりさまざまな成分がリソソームにおいて分解されることが明らかとなり、この分解を介して細胞

図3 オートファジーによる父方ミトコンドリアの分解

受精卵において局所的にオートファジーが誘導され、父方ミトコンドリアが選択的に取り込まれ分解される。それにより、母方ミトコンドリアとそのゲノムのみが子孫に伝わる。

成分の変換が促進されていると考えられる。また、オートファジーによる父性オルガネラの分解は、長年謎であった mtDNA の母性遺伝のメカニズムの一部であることが判明した。マウス初期胚においても受精直後にオートファジーが誘導されることが知られており (Tsukamoto et al. 2008)、ほ乳類においても類似のメカニズムが存在するのかもしれない。しかし、なぜ父方のミトコンドリアや mtDNA を分解する必要があるのか、またどのように父性ミトコンドリアのみを認識しているのかなど、依然として多くの疑問が残されている。今後、父性ミトコンドリアを認識するメカニズムの解明や、ほ乳類など様々な生物における検証を進めることにより、父性ミトコンドリア分解の生理的意義を明らかにしていきたいと考えている。また同時に、エンドサイトシスを発生の時期特異的に制御する分子メカニズムについても解析を進め、初期胚におけるリソソーム分解の制御機構と胚発生における重要性を明らかにしたいと考えている。

謝辞

この研究は群馬大学・佐藤健教授とともに行ったものであり、教授をはじめ研究室のメンバーの様々な面からのサポートに深く感謝します。また、研究初期にご支援いただいたラトガーズ大学・Barth Grant 博士、群馬大学・原田彰宏教授 (現大阪大学) にも深謝いたします。また、本研究は JSPS 科研費 (23687027) と内藤記念科学振興財団の助成を受けたものです。

文献

Al Rawi S, Louvet-Vallee S, Djeddi A, Sachse M, Culetto E, Hajjar C, Boyd L, Legouis R and Galy V (2011) Postfertilization autophagy of sperm organelles prevents paternal mitochondrial DNA transmission. *Science* 334: 1144-1147.

Audhya A, McLeod IX, Yates JR and Oegema K (2007) MVB-12, a Fourth Subunit of Metazoan ESCRT-I, Functions in Receptor Downregulation. *PLoS ONE* 2: e956.

Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, Nakada K, Honma Y and

Hayashi J (2008) ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science* 320: 661-664.

L'Hernault SW (2006) Spermatogenesis. *WormBook*, ed. The C. elegans Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.85.1, <http://www.wormbook.org>.

Maassen JA, LM TH, Van Essen E, Heine RJ, Nijpels G, Jahangir Tafrechi RS, Raap AK, Janssen GM and Lemkes HH (2004) Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes* 53 Suppl 1: S103-109.

Mizuguchi S, Uyama T, Kitagawa H, Nomura KH, Dejima K, Gengyo-Ando K, Mitani S, Sugahara K and Nomura K (2003) Chondroitin proteoglycans are involved in cell division of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 423: 443-448.

Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y and Ohsumi Y (2009) Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10: 458-67.

Sato K, Sato M, Audhya A, Oegema K, Schweinsberg P and Grant BD (2006) Dynamic regulation of caveolin-1 trafficking in the germ line and embryo of *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* 17: 3085-3094.

Sato M, Grant BD, Harada A and Sato K (2008) Rab11 is required for synchronous secretion of chondroitin proteoglycans after fertilization in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Sci* 121: 3177-3186.

Sato M and Sato K (2011) Degradation of paternal mitochondria by fertilization-triggered autophagy in *C. elegans* embryos. *Science* 334: 1141-1144.

Sato M and Sato K (2012) Maternal inheritance of mitochondrial DNA: Degradation of paternal mitochondria by allogeneic organelle autophagy, allophagy. *Autophagy* 8: 424-425.

Stitzel ML and Seydoux G (2007) Regulation of the oocyte-to-zygote transition. *Science* 316: 407-408.

Tsukamoto S, Kuma A, Murakami M, Kishi C, Yamamoto A and Mizushima N (2008) Autophagy is essential for preimplantation development of mouse embryos. *Science* 321: 117-120.

Wallace DC (1999) Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 283: 1482-1488.

Fertilization Triggers Remodeling of Cellular Components via Lysosomal Degradation

Miyuki Sato

Laboratory of Molecular Traffic, Institute for Molecular and Cellular Regulation,
Gunma University, Maebashi, Gunma 371-8512, JAPAN

Abstract: Fertilization triggers the transition from oocytes to fertilized eggs (zygotes). Using *Caenorhabditis elegans* as a model system, we have shown that membrane trafficking such as exocytosis, endocytosis and autophagy is dynamically regulated during this period to promote remodeling of cellular and extracellular components. Especially, autophagy is induced shortly after fertilization and eliminates sperm-derived paternal mitochondria and their genome selectively in the early embryos. The mitochondrial genome is maternally inherited in many eukaryotes but the mechanism has remained unknown. Our results suggest that the autophagic degradation of paternal mitochondria is the mechanism required for maternal inheritance of mitochondrial genome.

Key words: *fertilization, protein degradation, exocytosis, endocytosis, autophagy, mitochondria*