

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 川上 心也
 学位 博士 (学 術)
 学位記番号 新大院博 (学) 第 211 号
 学位授与の日付 平成 29 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 哺乳動物卵母細胞における核成熟と細胞質成熟との関係

論文審査委員 主査 教授・新村 末雄
 副査 教授・山田 宜永
 副査 教授・高田 良三
 副査 准教授・中野 優
 副査 准教授・杉山 稔恵

博士論文の要旨

近年、各種哺乳動物の卵母細胞を体外で培養すると、核は体内で成熟した卵母細胞と同様の時間経過で第二成熟分裂中期 (MII 期) まで成熟することから、このような体外成熟卵母細胞を媒精後、培養して発生した胚から産子を得ることが色々な分野で実際に行われている。しかし、体外成熟卵母細胞のその後の受精率および受精後の発生率は、体内で成熟した卵母細胞のそれらに比べて低く、その原因として、細胞質成熟が不十分なことが挙げられている。そのため、体外成熟卵母細胞から体外受精に由来する胚や核移植に由来する再構築胚から産子を得る際の障害となっている。従って、体外での効率的な胚生産のために、体外成熟卵母細胞を使用するにあたっては、核の成熟と細胞質の成熟との関係を明らかにしておくことは重要かつ必要なことと考えられる。そこで本研究では、各種哺乳動物の卵母細胞について、ステロイド代謝と細胞質封入体を取り上げ、核の成熟と細胞質でのこれらの変化との関係の有無を検討するとともに、特にマウス卵母細胞については、卵丘細胞の影響を排除するために裸化した状態のものを用い、核成熟と細胞質成熟との関係を詳細に検討した。なお本研究では、多精子受精防御機構 (卵黄遮断および透明帯反応) の強さの異なるウサギ、ハムスターおよびマウスを供試動物として使用した。得られた成績の概要は以下の通りである。

1. マウス卵母細胞では、核の成熟に伴って 20α -ヒドロキシプロゲステロン代謝が出現して高まるが、これ以外のプロゲスチン、エストロゲンおよびアンドロゲンの代謝は変化しないことが確かめられた。また、ハムスター卵母細胞のプロゲスチン、エストロゲンおよびアンドロゲンの代謝は、核の成熟に伴う変化を示さないとともに、ウサギ卵母細胞では、核の成熟に伴って 20β -ヒドロキシプロゲステロンとアンドロゲンの代謝は変化しないが、 20β -ヒドロキシプロゲステロン以外のプロゲスチンとエストロゲンの代謝は低下することが明らかにされた。

また、核の成熟分裂再開を阻止したマウスとウサギの卵母細胞では、細胞質でのステロイド代謝は、対照の卵母細胞と同様に变化したことから、核の成熟分裂の進行に並行して变化するものではないことが推察された。

2. マウス卵母細胞では、グリコゲン含量は核の成熟に伴う変化を示さないものの、脂質小滴は小型化することが確かめられた。また、核の成熟分裂再開を阻止したマウス卵母細胞では、細胞質での脂質小滴の小型化は、対照の卵母細胞と同様に起こったことから、核の成熟分裂の進行に並行して起こるものではないことが推察された。

3. マウス卵母細胞では、培養したすべての時期で自身が発現するアデニル酸シクラーゼによって cAMP を合成しており、cAMP 含量は、培養 4 時間に最多になり、その後減少することが明らかとなった。また、対照の卵母細胞と比べ、オロモウシンで処置して核の成熟分裂再開を阻止しても cAMP の含量は変化しないこと、さらに、IBMX で処置して核の成熟分裂再開を阻止すると cAMP の含量は増加することも確かめられた。

cAMP は 2 次メッセンジャーとして細胞質でのステロイドや脂質などの各種代謝を制御していることが知られているとともに、上述の核の成熟分裂再開を阻止した卵母細胞には多量の cAMP が検出されたので、卵母細胞の細胞質で起こるステロイド代謝の変化と脂質小滴の小型化は、核の成熟の進行に並行して起こるのではなく、cAMP 含量に依存して起こることが推察された。

4. AKR1C1 阻害剤でマウス卵母細胞を処置すると、 20α -HSD 活性が抑制されるとともに、核の成熟分裂再開も阻止されることが確かめられた。また、このような状態で、 20α -HSD が代謝するステロイドであるプロゲステロンおよび 20α -ヒドロキシプロゲステロンを各種濃度培養液に添加して卵母細胞を培養したが、成熟分裂の促進はみられなかった。従って、卵母細胞の核の成熟と細胞質での 20α -HSD 活性とは関係のあることがうかがわれたが、 20α -HSD が代謝するステロイドであるプロゲステロンおよび 20α -ヒドロキシプロゲステロンが核の成熟に関与しているかどうかは確認できなかった。

審査結果の要旨

体外成熟卵母細胞の受精率や受精後の発生率は、体内で成熟した卵母細胞のそれらに比べて低いことが知られており、体外成熟卵母細胞の用いた体外での胚生産の大きな支障となっている。このような体外成熟卵母細胞の受精能と発生能の低さの原因としては、それらの細胞質成熟が不十分なことが挙げられている。

本論文では、各種哺乳動物の卵母細胞について、ステロイド代謝と細胞質封入体を取り上げ、核の成熟と細胞質でのこれらの変化との関係の有無を検討した。その結果、核の成熟に伴ってステロイド代謝および各種大きさの脂質小滴の含量が変化することが確かめられたが、核の成熟を阻止した卵母細胞でもこのような変化はみられたことから、卵母細胞の細胞質で起こる変化は、核の成熟の進行に並行して起こるのではなく、cAMP 含量に依存して起こることを示唆したもので、その内容には新知見が多数含まれていた。また、本論文の主要な成果は、*Journal of Reproduction and Development*、*Journal of Mammalian Ova Research*、*Reproductive Medicine and Development* および北信越畜産学会報に掲載されている。

よって、本論文は博士（学術）の学位論文として十分であると判定した。