
優良家畜卵子の選抜指標としての 卵胞顆粒層細胞アポトーシス阻害因子の有用性

東京大学大学院農学生命科学研究科・教授 眞鍋 昇

■ 目的

家畜卵巣における卵胞とそれに内包される卵子の選抜機構に焦点を絞って研究を継続してきた結果、卵子の死滅は卵胞の中で卵子を適切に発育・成熟させる役割をになう保育担当卵胞である顆粒層細胞がアポトーシスによって死滅し、その結果卵胞が閉鎖して消滅してしまい、卵子も死滅することがわかってきた。卵胞顆粒層細胞には複数の細胞死リガンド・細胞死受容体が発現しているが、これらは二次卵胞以降では常に発現しており、いつでも死滅できる準備がととのっている。健常に発育してやがて排卵にいたる卵胞の顆粒層細胞にはアポトーシス阻害因子が発現して、細胞死を阻害しており、これらが消滅すると顆粒層細胞でアポトーシスが実行される。本研究では「卵胞顆粒層細胞におけるアポトーシス・シグナル阻害因子の発現を指標にすれば、卵胞とそれに内包されている卵子の健全性を見極めることができる」という仮説をたて、この仮説の適否を実証レベルで確認するとともに、卵子品質評価のために技術開発を進める。

■ 方法

「顆粒層細胞におけるアポトーシス・シグナル阻害因子の発現を指標にすれば卵子の健全性を見極めることができる」との仮説の確認のため(1)末梢血中の性腺刺激ホルモンと性ステロイドホルモンの濃度測定と卵巣の超音波画像診断にて卵胞発育ステージを精密に把握した卵胞の調製、(2)回収した卵子とそれを用いて体外受精させた初期胚の正常性の検証、(3)個々の卵胞における顆粒層細胞におけるアポトーシス・シグナル阻害因子発現の測定、(4)顆粒層細胞における性腺刺激ホルモン受容体等の発現の測定、(5)卵胞液中ホルモン等の測定を行った。併せて簡便かつ高感度に検出できる卵子品質判定法(濾紙クロマトグラフィー・ルシフェラーゼ発光法)の開発をすすめた。

■ 結果および考察

家畜卵巣に潜在する数十万の原始卵胞の1%以下が排卵に至り、残りが選択的に閉鎖することの分子制御機構に基づいて卵子の品質を評価する手法の開発を進めた。卵胞の選択的閉鎖には卵子を保育している顆粒層細胞のアポトーシスが支配的に関わっているが、二次卵胞以降の顆粒層細胞には細胞死リガンドと受容体が常に発現していつでも死滅できる状態にある。細胞死リガンドと受容体の結合を阻害する膜受容体3や可溶性受容体、細胞内のアポトーシス・シグナル伝達経路を阻害するcFLIPやXIAPなどが発現してアポトーシスの進行を阻止していることが分かった。これら何重にも配置されて顆粒層細胞の死滅を防いでいる阻害因子は、卵子の品質を評価する指標として有用であることも分かってきたので、実用化を目指して卵胞液中の可溶性受容体を測定する濾紙クロマトグラフィー・ルシフェラーゼ発光法の開発を進めた。

■ 結語

前世紀末から様々な先端的繁殖技術が開発され、体細胞核移植家畜や遺伝子改変家畜などが次々と実現してきたが未だ成功率は低い。その原因として供される卵子の品質が低いことが考えられる。家畜の卵子は発育・成熟の過程で99%以上が死滅し、選ばれたごくわずかだけが排卵にいたる。本研究で卵子品質を評価する技術の開発が進んだ。この技術は、高齢出産する人間における卵子品質の見極めにも応用できる。このように本研究は、農学領域のみならず医学領域等の広い領域を介して社会に貢献する意義が高いものである。