

植物由来の水結晶抑制物質を利用した精子および卵子の未凍結保存

東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野・助教 星野 由美

■ 目的

生殖細胞の長期保存には、凍結保存法(ガラス化法、緩慢凍結法)が広く用いられており、液体窒素中で半永久的な保存が可能になっている。しかしながら、凍結により生じる細胞膜へのダメージや、保存液に含まれる凍害保護物質による細胞毒性は、現行の凍結保存法では避けることができない。精子や卵子がこのようなダメージを受けると、細胞の生存やその後の受精・発生に大きく影響する。これらの問題を回避するために、研究代表者らは未凍結保存の可能性を検討した。関西大学の河原秀久教授らは、複数の植物や食品廃棄物から水結晶抑制物質を発見し、その抽出に成功している。この植物由来の抽出物を保存液に加えると、低温条件下でも氷核形成が抑制されるため、過冷却状態(未凍結)を維持させることができる。そこで本研究では、植物由来の水結晶抑制物質を用いて、生殖細胞の未凍結保存(過冷却保存)の可能性を検証する。

■ 方法

植物由来の水結晶抑制物質としては、抗氷核活性が最も高く、過冷却促進効果のあるコーヒー粕由来の抽出物を使用した。ICR マウスにPMSG投与後46時間に卵巣を摘出し、未成熟卵子を採取した。卵子および卵巣の保存には、コーヒー粕由来の抽出物(0、0.5、1mg/ml)を含む臓器保存液(UW液)を用いた。過冷却保存には、超低温アルミブロック恒温槽を使用し、卵子および卵巣は-6~-12°Cの保存液中で24時間保持した。37°Cで10分間の回復処理後、核および核膜の正常性と成熟率から卵子の正常性を評価した。

■ 結果および考察

卵子および卵巣の過冷却保存において、UW液が保存液として有効であることを確認した。コーヒー粕由来の抽出物添加区では、卵子の核や核膜構造を保護する効果が認められた。この抽出物の主成分はカフェインとポリフェノール(クロロゲン酸)であることが明らかになっており、これらによる抗酸化作用の効果もあったと考えられる。卵子の正常性を維持できる保存条件を検討したところ、卵子では-8°Cでの保存が最適であった。一方卵巣では、-12°Cでも卵巣内卵子の形態が維持されており、卵子単独よりも低温での保存が可能であった。以上の結果から、1)卵子および卵巣において過冷却保存が可能であること、2)コーヒー粕由来の抽出物が、卵子および卵巣の過冷却保存に有効であることが示された。

■ 結語

2014年7月にハーバード大学の研究チームによって、ラット肝臓の過冷却保存の成功事例が報告された。このことは、凍結しなくとも過冷却状態で臓器を保存できる可能性を示している。本研究課題の遂行により、植物由来の水結晶抑制物質(過冷却促進物質)を用いて、卵子と卵巣の過冷却保存の有効性を示した。植物由来の抽出物を利用して細胞の過冷却保存に取り組んだ報告はこれまでにない。今後は、長期間にわたる安定した保存法の実現を目指して、保存条件(保存液量や温度のプログラム制御など)の検討を重ねていく必要がある。また、実用化に繋げるためには、効果の高い水結晶抑制物質を安価で、かつ容易に入手できることも重要な要素となる。本研究の成果を基に、将来的には、ウシやブタを含めた大動物の卵子や卵巣、精子、精液の過冷却保存の実現が期待される。