

侵害受容体の活性制御に基づく家畜受精卵の新規ストレス軽減方法

京都大学大学院農学研究科・助教 池田 俊太郎

■ 目的

家畜生産において、夏季の暑熱が原因と考えられる妊娠の困難が広く問題となっている。暑熱ストレスは卵子や受精卵に直接作用し、その発生能力を阻害する。本研究ではウシ受精卵における各種侵害刺激受容体とその関連受容体(Gq タンパク質共役型受容体：GqPCR)の発現動態を明らかにするとともに、それらの活性の制御により受精卵における新規のストレス軽減方法を確立することを目的とした。

■ 方法

ウシ卵巣から卵母細胞を採取し、体外受精により受精卵を得た。卵母細胞、成熟卵子、1、2、8細胞期胚、桑実胚、胚盤胞について、侵害刺激受容体としてTRPV1、TRPV3、TRPV4、TRPM8の、GqPCRとしてカルシトニン受容体(CLR)のmRNA発現をRT-PCR法により調べた。卵母細胞または1細胞期胚について、侵害刺激受容体としてTRPV3、TRPM7、TRPM8、TRPA1の、GqPCRとしてCLRおよびブラジキニン受容体(B2R)のタンパク質発現をウェスタンブロット解析により調べた。体外受精後20時間(hpi)の1細胞期胚を非暑熱区(38.5℃)あるいは暑熱区(40.5℃、10h)で培養し、72hpiにおける分割率、5-8細胞期胚発生率、192hpiにおける胚盤胞発生率を比較した。一部の胚を蛍光Ca²⁺指示薬Fluo-8 AMで染色し、25hpiで蛍光強度を比較した。また、同様の非暑熱区と暑熱区において、培地へのカルシトニンあるいはブラジキニンの添加(10nM、20～72hpi)が、胚発生率に及ぼす効果を検討した。さらにカルシトニンについては細胞内Ca²⁺濃度に及ぼす影響も合わせて調べた。

■ 結果および考察

ウシの卵子および受精卵における侵害刺激受容体の発現について調べたところ、TRPV3、TRPV4、TRPM8については、受精卵の発生において暑熱に対し特に脆弱な1～2細胞期でもmRNA発現が見られた。しかし、ウェスタンブロット解析の結果からは、これらの受容体のタンパク質発現を確認することが出来なかった。一方、TRPM7のタンパク質発現が確認された。TRPM7を含むいくつかの侵害刺激受容体の活性は、GqPCRの活性化によっても制御される。そこで、GqPCRの内CLRとB2Rのタンパク質発現を解析したところ、ともに発現が確認された。

細胞内Ca²⁺濃度の恒常性の維持は、細胞の正常な機能のために重要であるが、暑熱ストレスが受精卵の細胞内Ca²⁺濃度に及ぼす影響は知られていない。暑熱曝露がウシ受精卵の発生と細胞内Ca²⁺濃度に及ぼす影響を調べたところ、発生を阻害する暑熱条件において、受精卵内のCa²⁺濃度が低下することが明らかとなった。侵害刺激受容体は陽イオンチャネルであり、その活性化により細胞内Ca²⁺濃度を変化させ得る。そこで、種々の侵害刺激受容体を活性化することが知られるGqPCRの活性制御により、暑熱ストレスによる受精卵の発生阻害を軽減できないか検討した。GqPCRのアゴニストとしてブラジキニンおよびカルシトニンについて検討したところ、カルシトニンに、暑熱ストレスによる発生阻害に対する緩解効果が、細胞内Ca²⁺濃度の回復作用とともに観察された。

■ 結語

以上の結果より、ウシの卵子および受精卵における侵害刺激受容体およびGqPCRの発現動態を明らかにするとともに、暑熱ストレスはウシ受精卵において細胞内Ca²⁺濃度の低下を引き起こすこと、細胞内Ca²⁺濃度の低下が胚発生率の低下と関連していること、カルシトニンが暑熱ストレスの軽減に有効であることが示唆された。