

---

## 精巣由来の多機能性ペプチド「リラキシン」を用いた ブタ夏季不妊の改善

静岡大学大学院農学領域・教授 高坂 哲也

---

### ■ 目的

雄豚では、暑熱ストレスにより、受胎率の低下を招く夏季不妊が多発し、豚肉の安定供給を脅かす深刻な問題となっている。夏季不妊の発症のメカニズムは明らかでないが、強烈な酸化ストレスにより活性酸素種(ROS)が過剰産生され、その標的分子で精子細胞膜全脂質の60-70%を占める多価飽和脂肪酸が脂質過酸化を受け、精子機能障害が起こり、夏季不妊に至るのではないかと考えた。

本研究では、精巣由来の多機能性ペプチド「リラキシン(RLN)」の抗酸化作用に注目し、その活用によるブタ夏季不妊の改善を目指すため、1)ブタ精子でRLNの受容体RXFP1の発現、局在およびシグナリングを明らかにし、2)蛍光センサー分子C11-BODIPY581/591を適応して夏季不妊を模倣した精子酸化ストレス障害モデルの構築を行い、3)精子におけるRLNの抗酸化作用を究明すると共に、4)その作用機序について検討した。

### ■ 方法

精子は精巣上体尾部より採取した成熟精子を用いた。生物活性を有するDTBTA-Eu標識RLNを調製し、リガンド-受容体相互作用解析によりブタ精子におけるRLN受容体RXFP1の発現、局在およびシグナリングを解析した。次に、酸化ストレス障害を誘導するクメンヒドロペルオキシド(CHP)とそれを助長する硫酸鉄(II)(Fe)とアスコルビン酸(VC)を組み合わせ、夏季不妊を模倣した精子酸化ストレス障害モデルの構築を行い、その精子モデルで脂質過酸化およびRLNの抗酸化効果を調べた。評価には、CASAによる精子運動能解析、脂質過酸化のモニタリング、アポトーシス検出、ROS測定、脂質過酸化分解物の測定などを駆使した。さらに、RLNの作用機序を検討するために、顕微画像解析による脂質酸化およびRLNの抗酸化効果部位の同定を行った。

### ■ 結果および考察

ブタ精子において、RLNの作用発現の要となる受容体RXFP1が約85kDaのタンパク質として先体や中片部に存在し、nMオーダーのRLNでcAMP産生が刺激され、RLNの細胞内シグナル伝達機構が機能することを始めて明らかにした。興味深いことに、cAMPシグナルが3.125nMとおそらく100nMRLNをピークとする2相性であることを示した。この結果は、精子において親和性の異なる2つの受容体RXFP1分子の存在を示唆する。少なくとも、ブタ精子の先体と中片部に受容体の分布を見出したことから、これらのどちらか、あるいは両方の部位に親和性の異なる受容体が存在するものと考えられる。

次に、酸化ストレス障害をCHPで誘導し、FeとVCで助長することにより夏季不妊を模倣した精子酸化ストレス障害モデルの構築に成功した。その精子モデルにおいてRLNには脂質過酸化レベルを約24%(レシオメトリック測定)または約35%(緑色蛍光の増減比)低下させる抗酸化能と運動能改善効果のあることがわかり、その効果が抗酸化物質との併用で著しく高まることを見出し、ブタ夏季不妊の改善に有用であることが示唆された。

さらに、精子における脂質酸化およびRLNの抗酸化効果部位を究明し、それが主に精子中片部であることを同定した。この部位には、RLNの機能的受容体が発現していることを考え合わせると、RLNは受容体シグナリングを介してROS生成の阻害またはROSの中和化により抗酸化能を発揮した可能性が考えられる。

### ■ 結語

以上のことから、RLNは精子の主に中片部に存在する受容体シグナリングを介し、ROS生成の阻害またはROSの中和化を促すことにより抗酸化能を発揮し、ブタ夏季不妊の改善に有用であることが示唆された。