卵胞発育処理の体外模倣技術による高発生能ウシ卵子の大量生産

東京農工大学大学院農学研究院生物生産科学部門・准教授　杉村　智史

■　目　的

近年，和牛素牛の生産性拡大を目的とした体外受精卵移植が注目されている．一般的に食肉処理場由来卵巣あるいは生体内卵子吸引法により小胞状卵胞から採取した卵丘細胞 - 卵子複合体(COCs)を体外で成熟培養させることで体外受精胚用の卵子が生産されている．しかしながら小胞状卵胞より採取した卵子の体外成熟後の発生能は極めて低い．これまでに申請者は供卵牛への卵胞刺激ホルモン(FSH)投与による卵胞発育処理が卵子の体外成熟培養(IVM)後の発生能を劇的に向上させることを明らかにした．さらに，RNA-seq による卵丘細胞の網羅的遺伝子発現解析の結果から，FSH 投与区の卵丘細胞は cAMP シグナリングが増強されていること，MEK シグナリング抑制されていることを明らかにした．本研究では，卵胞発育処理の体外模倣技術の開発を目的として，卵成熟に先駆けた cAMP シグナルの増強および MEK シグナルの抑制が卵子の発生能に及ぼす影響を解析した．

■　方　法

食肉処理場由来卵巣から COCs を採取した．通常の 22 時間の IVM を行った Standard IVM 区および IVM に先駆け 2 時間の前培養を行った Pre-IVM 区を設け，Pre-IVM 区はさらに，None(cAMPs および U0126 無添加)，cAMPs(1mM dbcAMP および 500μM IBMX 添加区)，U0126(5μM U0126：MEK 阻害剤)，cAMPs+U0126 区(dbcAMP，IBMX および U0126 添加区)にそれぞれ分けた．22 時間の成熟培養後，体外受精を行い，6 時間後，体外発生培養に供し，培養後 2 日の卵割率，7 日の胚盤胞形成率を算出した．

■　結果および考察

卵割率および >4 細胞率に有意差は認められなかった．胚盤胞形成率および拡張胚盤胞形成率は，cAMPs 区で最も高く(37.9％および 20.6％)，U0126 区で最も低かった(16.7％および 6.2％)．Standard IVM 区は 32.7％と 14.7％であった．また，U0126 区の有害効果は，cAMPs の添加により打ち消された(33.5％と 14.7％)．これらは，cAMPs は卵子の発生能向上に関与するものの，U0126 はむしろ卵子の発生能を低下させること示している．すなわち，卵成熟に先駆けた cAMP シグナルの増強は卵子の発生能に関与するが，MEK シグナルの抑制はそれに関与しないことが明らかになった．

■　結　語

ウシ卵子の発生能を改善する卵胞発育処理の体外模倣技術として，MEK シグナルの抑制ではなく，cAMP シグナルを増強させる cAMP モジュレーターによる pre-IVM が有効であることが示された．