

胚性ゲノム活性化依存的レチノイン酸合成・分解による 受精胚発生制御機構の解明

広島大学大学院統合生命科学研究科・助教 川合 智子

■ 目的

レチノイン酸(RA)は、ADH と ALDH family によりビタミン A から合成される。我々は、卵胞発育期の卵巣内において、RA 合成が LH 受容体発現をエピジェネティックに制御することを明らかにした。さらに、ビタミン A 欠乏マウスは、顆粒膜細胞の LH 受容体発現異常だけでなく、成熟卵の卵割不全が観察された。したがって、RA 合成は排卵を担保するだけでなく、卵の発生能をも制御する可能性が示唆された。哺乳動物では、体外での受精後の初期胚で卵割不全がおこる。この卵割不全はグルコース添加量を減少させることで解除可能であるなどの報告があるが、体内では卵割不全が起こらない仕組みは不明である。本研究では、受精後の初期胚における RA 合成機構と卵割不全との関係を検討した。

■ 方法

1. 3 週齢未成熟メスマウスに過剰排卵処理を行い、卵管から成熟卵を回収した。
2. 1 の雌マウスを雄マウスと交配し、卵管・子宮から回収した胚盤胞期胚に至る各発生段階の胚は RA 合成酵素の発現解析に用いた。
3. 1 で回収した成熟卵を用いて体外受精を行い、得られた受精卵を RA 合成酵素の抑制剤、RNA polymerase 抑制剤、卵管内濃度のグルコース or 脂肪酸 +/-RA を添加した KSOM 培養液で培養し、卵割への影響、ATP 量、細胞内 pH、活性酸素量を調べた。

■ 結果および考察

A, 受精直後の初期胚における RA 合成機構

RA 合成酵素は 2 細胞期胚で急激に増加し、受精卵を RNA polymerase2 抑制剤で処理すると有意に抑制された。受精卵を RA 合成酵素の抑制剤で処理すると受精後の卵割が阻害された。この結果から、受精後の初期胚では、卵に蓄積されたビタミン A が合成酵素群により RA に変換され、受精直後の卵割を誘起すると考えられた。

B, 受精直後の初期胚における卵割異常

卵管環境と比較してグルコースなどの栄養基質の添加量が著しく少ない培養液で停止が起こらないことに着目し、初期胚発生に用いる培養液への栄養基質の添加量、ATP 産生、それらに付随する細胞毒性と卵割不全との関係を検討した。

- a) 卵管内濃度のグルコース添加 KSOM 培養液で培養した受精卵は、ATP 含有量が高く、活性化ミトコンドリアの局在が異質、細胞質 pH 濃度が低値、活性酸素量が多い、受精直後の発生停止により 4 細胞期胚への発生率が有意に低いことが示された。この結果から、グルコースが解糖系によりピルビン酸を介してアセチル CoA へと変化し、それによってミトコンドリアで ATP 産生が一過的に上昇するが、酸化ストレスにより低下してピルビン酸が蓄積し、それが乳酸へと変換することで pH が低下し、2 細胞期胚で発生が停止したと考えられた。
- b) pH 低下を引き起こさないでミトコンドリア代謝を活性化させる脂肪酸添加の影響を検討した結果、活性酸素量の増加と 2 細胞期胚での発生停止が観察された。

C, 受精直後の卵割異常における RA の作用

B の実験で明らかになったグルコースあるいは脂肪酸による発生停止、ATP 含有量、活性化ミトコンドリアの局在、活性酸素量の増加は RA の添加により解除された。

■ 結語

受精直後の初期胚は、周囲の栄養環境に合わせた ATP 産生を起こしてしまうが、付随する活性酸素の産生が引き起こす酸化ストレスにより 2 細胞期胚停止が起こると考えられた。体内では、この酸化ストレスが低減される仕組みを備えていると仮説立て、その一つが RA である可能性を見出した。RA の合成機構と生理的作用を詳細に調べることで、より質の高い胚盤胞期胚が産生できる培養液開発につながると考えている。