

酸素消費量、分布様式、および占有面積からみたヒト卵母細胞成熟過程におけるミトコンドリア

Evaluation of mitochondria during oocyte maturation based on their respiration and morphology

山中昌哉¹、橋本周¹、天羽杏実¹、松本寛史²、
福田愛作²、井上正康¹、中岡義晴¹、森本義晴¹

Masaya YAMANAKA¹, Shu HASHIMOTO¹, Ami AMO¹,
Hiroshi MATSUMOTO², Aisaku FUKUDA²,
Masayasu INOUE¹, Yoshiharu NAKAOKA¹ and
Yoshiharu MORIMOTO¹

¹IVF なんばクリニック、²IVF 大阪クリニック

¹IVF Namba Clinic, ²IVF Osaka Clinic

【目的】

発育能力を十分に賦与された成熟卵子を得ることは生殖医療における必要条件である。卵母細胞の成熟では、核の成熟とともに、ミトコンドリア(mt)をはじめとする細胞内小器官の機能や局在の変化も重要と考えられている¹⁾。本研究では、ヒト卵母細胞の成熟段階を3つ(GV, MI, MII)に分類し、酸素消費量、mtの形態、細胞内分布および卵母細胞の細胞質中のmtの面積変化などを経時的に解析した。

【方法】

卵子に関しては、研究に使用することの同意が得られた患者の刺激周期にて採卵された未成熟卵母細胞(GV期、MI期)およびこれらを培養して成熟した卵子(MII期)を用いた。卵細胞の酸素消費量は細胞呼吸活性測定装置(CRAS1.0, Clino)により測定した²⁾。卵細胞のmtの形態および分布パターンは、mitotrackerで染色後、インキュベータ内蔵共焦点レーザー顕微鏡(CV1000, 横河電機)により15分間隔で48時間に渡り経時変化を解析した。更に、透過型電子顕微鏡(TEM, 日本電子)により、超微形態構造を観察した。また、TEMにより得られた超微形態画像をもとに、卵細胞質とmtの面積を画像解析ソフト(Dipp-Image, Ditect)により計測し、細胞質中に占めるmtの面積の割合を算出し、平均±標準偏差で示した。

【結果】

GV期(n=11, 37.6±3.6歳)、MI期(n=14, 38.5±3.5歳)およびMII期(n=11, 38.9±3.3歳)の酸素消費量(f mol/sec)は、2.29±0.27、2.32±0.45および2.62±0.35であり、3群間で差は認められなかった。

GV期では、mtが細胞内でクラスターを形成し、細胞膜直下にmt密度の低い細胞質領域を有する卵細胞が多く見られた(90.9%, 20/22)。MI期では、mtのクラスターが減少し、細胞膜直下にも均一に分布している細胞が多かった(78.3%, 18/23)。MII期もMI期と同様に、mtのクラスターは減少して細胞膜直下まで均一に分布していた(100%, 12/12)。TEM画像より、いずれの成熟段階においても、mtの形態は円形または楕円形でクリステの少ない特色を示すものが大半であることが明らかになった。

GV期(n=3, 35.0±2.0歳)、MI期(n=3, 37.7±2.1歳)およびMII期(n=3, 36.0±5.3歳)におけるmt割面の平均面積(μm^2)は、0.15±0.08、0.13±0.07および0.16±0.08であった。卵細胞質面積に対するmtの占有面積(%)は、3.93±0.22、4.25±0.35および4.12±0.46であり、成熟段階間で差はなかった。

【考察】

本解析結果より、ヒト卵母細胞ではGV期からMII期へと成熟するにつれて、細胞内でmtのクラスター構造が減少して均一に分布するように移動している可能性が明らかになった。胚盤胞の酸素消費量(7.8±0.3)²⁾と比べ、各成熟段階の卵母細胞の酸素消費量は低く、mtの好氣的代謝活性は低いことが示唆された。また、mtの平均面積と細胞質に占める割合には顕著な変化が見られなかったことから、GV期からMII期への成熟過程ではmt機能的変化は少ないことが示唆された。MII期以後のどの段階でどの様なメカニズムによりmtの機能と構造が成熟型へ分化するかが残された重要な課題と思われる。

【文献】

- 1) Yu et al. J Cell Physiol. 224: 672-680, 2010.
- 2) Yamanaka et al. Hum Reprod 26: 3366-3371, 2011.