

ヒト卵母細胞の成熟過程におけるミトコンドリア分布の変化

天羽杏実、橋本周、山中昌哉、矢持隆之、後藤大也、井上正康、中岡義晴、森本義晴  
IVF なんばクリニック

【目的】哺乳類卵母細胞の成熟ではミトコンドリア(mt)を含めた細胞内小器官の機能や局在の変化も必要と考えられており、mt 分布様式と発生能の関連が示唆されている。今回、ヒト卵母細胞内の成熟過程における、mt 分布様式、及びその局在様式を経時的に調べた。

【方法】研究使用の同意が得られた体外受精実施患者の ICSI 時に未成熟であった卵母細胞 157 個(蛍光ライブ染色：21 個、蛍光固定染色：101 個と超微小形態観察：35 個)を実験に用いた。Mitotracker orange (MO) で染色後、インキュベータ内蔵型共焦点レーザー顕微鏡により 5% CO<sub>2</sub>、5% O<sub>2</sub>、37°C の環境下で、15 分間隔で蛍光像を撮影した。卵母細胞の赤道面面積あたりの mt 占有面積を計測し、GVBD ならびに極体放出前後 60 分間のその変化を調べた。また、超微小形態レベル(TEM)で卵母細胞を観察し、細胞周期依存的な mt の局在変化を調べた。次に、MO 染色後固定した卵母細胞における局在様式を細胞周期別に解析し、TEM でも同様に解析した。

【結果】GVBD 前は卵母細胞膜下に mt の局在が認められなかったが(GVBD 60 分前の mt 占有面積比: 77.6%)、GVBD 後、卵母細胞膜下への mt の急激な移動が観察された(60 分後の mt 占有面積比:86.4 %、P<0.05)。極体放出前後で差は見られなかった。超微小形態レベルの観察結果より、GV 期では 80%(11/14)の卵母細胞で細胞膜下に mt が存在しなかったが、GVBD 以降では mt は卵母細胞質内に均一に分布していた(100%: 21/21)。GVBD 前は mt の局在様式はクラスター化していたが(94%: 40/48)、GVBD 後は 77% (41/53)が均一となり、非クラスター化していた。

【結論】GVBD 前の卵母細胞では mt が細胞膜下に存在しないが、GVBD 時に細胞膜下に急激に移動し、GVBD 後は均一に存在することが示された。また、mt の局在様式も GVBD 前後でクラスター化から非クラスター化へと劇的に変化することが明らかになった。