

ヒト卵母細胞の成熟過程においてミトコンドリアはアクチンフィラメントを介して局在を大きく変化させる

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】雌性生殖細胞である卵母細胞は受精可能な成熟卵子まで細胞周期を進める。その過程でミトコンドリア(Mt)局在変化が観察される。Hela細胞では細胞骨格を介してMtが移動する。しかし、卵母細胞でのMt分布変化が細胞骨格を介しているかは不明である。本研究ではヒト卵母細胞が成熟卵子にまで進行する間のMt動態を明らかにし、アクチンとの関連性を調べた。

【対象と方法】インフォームドコンセントの後、ICSI時に未成熟であった卵母細胞162個を使用した。Mt動態：卵母細胞23個をMitotracker orange染色後15分間隔で40時間撮影し、経時的なMtの局在変化像を得た。その際、卵母細胞の赤道面面積におけるMt占有面積割合をGVBD前後120分で計測した。透過型電子顕微鏡(TEM)を用いてGV：14個、GVBD-Telophase I(TI)：15個、第二減数分裂中期(MII)：6個のMt分布様式を観察した。細胞骨格との関連性：104個(GV：47個、GVBD-TI：51個、MII：6個)で免疫蛍光染色を行い、Mtと微小管、Mtとアクチンの局在を観察した。卵母細胞でのMt分布様式とクラスター形成も観察した。Mtとアクチンの関連性：マウス卵母細胞でMt動態にアクチンが関与している可能性が示された。そこで、本研究では0.1 μ g/mLのサイトカラシンB(CB)を添加してライブイメージングを行い、Mt占有割合変化を算出した。

【結果】Mt動態：GVBD前120分(76.3%)からGVBD後120分で急激にMt占有面積が増加した(89.3%, $p < 0.01$)。また、TEMの観察結果より、80%(11/14)のGV期卵母細胞で細胞膜下にMtが存在しなかったが、GVBD以降では細胞質内に均一に分布していた(100%：21/21)。細胞骨格との関連性：細胞周期の進行に伴い微小管の局在様式が変化した。一方でアクチンは細胞周期に関わらず、細胞膜近傍に局在していた。ヒト卵母細胞では細胞骨格とMtとの共局在は認められなかった。免疫染色でもライブイメージングと同様に、GV期で細胞膜下のMtが少ない領域をもつが(83%：39/47)、GVBD-TIやMIIではこの領域はなくなった(GVBD-TI：16% (8/51), MII：0% (0/6))。また、GV期ではMtのクラスター形成が観察されたが(58%：28/48)、GVBD後MII期へと細胞周期が進むにつれ、少なくなった(GVBD-TI：26% (13/51)、MII：17% (1/6))。Mtとアクチンの関連性：CB添加区では、GVBD前120分(67.2%)からGVBD後120分にかけてMt占有面積の増加は認められなかった(62.0%)。

【考察】GVBD前の卵母細胞では、細胞膜下にMtのない領域が存在し、細胞質中にMtはクラスター構造を形成していた。GVBDに伴い、Mtが細胞膜下に急激に移動し、クラスター化が解消された。一方、アクチンの重合を阻害することにより、GVBD後のMt占有面積の増加が見られなかったことから、卵母細胞の成熟におけるMt分布への関与が示唆された。