

2017 年度生物科学系合同年次大会（第 40 回日本分子生物学会）

1P-834

兵庫県神戸市 2017. 12. 6-9

G2 期卵母細胞の cAMP 値の上昇によりミトコンドリア機能が亢進する

橋本 周<sup>1</sup>、矢持隆之<sup>1</sup>、山中昌哉<sup>1</sup>、川原玲香<sup>2</sup>、岩田尚孝<sup>3</sup>、中岡義晴<sup>1</sup>、森本義晴<sup>4</sup>

<sup>1</sup>IVF なんばクリニック, <sup>2</sup>東京農業大学生物資源ゲノム解析センター, <sup>3</sup>東京農業大学農学部畜産学科, <sup>4</sup> HORAC グランフロント大阪クリニック

【背景】小卵胞の卵母細胞を培養して成熟卵子を得る方法（IVM）は性腺刺激ホルモンを投与しないこと、より多くの卵母細胞を得られることから、生殖医療や家畜生産の次世代技術として注目を浴びている。しかし、IVM の臨床成績は従来の刺激法に比べ低いことがその普及の妨げとなっている。ヒトと同じ単胎動物であるウシで FSH 刺激の結果生じる卵母細胞内の cAMP 値の上昇を促すことにより、その発育能が向上することが示されたが（Albuz 2010）、その機序は不明である。本研究では、この cAMP 上昇が誘起する遺伝子発現変化を次世代シーケンス法（NGS）により網羅的に解析し、卵母細胞における機能変化を明らかにした。

【方法】ウシ卵母細胞の IVM は既報（Hashimoto, 2003）に従った。forskolin と IBMX を 2 時間感作することにより、卵母細胞内の cAMP 値を上昇させた（cAMP 区）。cAMP 区 458 個、対照区 491 個から mRNA を抽出し、遺伝子発現解析はシングルリード 50 bp で HiSeq2500 により行った。卵母細胞の酸素消費量は走査電気化学顕微鏡により行った。

【結果】網羅的な遺伝子発現解析の結果、ミトコンドリア(mt)機能を司るタンパクをコードする遺伝子 90 個中 60 個の発現が有意に上昇し( $p < 0.05$ )、そのうち 13 個は発現量が 2 倍以上に上昇した。また、解糖系ならびに脂肪酸代謝に関わる酵素の遺伝子発現が上昇し、TCA サイクルの基質となるアセチル CoA は $\beta$ 酸化により供給されることが示唆された。また、cAMP 区で卵母細胞の mt チトクローム c オキシダーゼ活性の上昇が確認され、酸素消費量が有意に増加し( $p < 0.001$ )、卵母細胞内の ATP 値も有意に上昇した ( $p < 0.001$ )。一方で、cAMP 区では forskolin と IBMX 処理 2 時間の間、細胞周期が進行せず、卵核胞崩壊ならびに極体放出に要する時間は対照区と同等であった。

【結論】卵母細胞内の cAMP が上昇した 2 時間では細胞周期は進行せず、電子伝達系を司るタンパクの発現が上昇し、卵母細胞の酸素消費が増加し、細胞内 ATP

値が上昇し、mt 機能が亢進した。FSH 刺激による卵母細胞の発育能向上の機構の一端が明らかにされた。