

加齢による原始卵胞の減少と調節機構の遺伝子解析

[1] 組織

代表者：小林 仁

(宮城大学食産業学部)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 25 万円

[2] 研究経過

(2-1) 本研究の目的・概要

卵巣内の存在する原始卵胞数は胎児期にピークとなり、出生後は加齢や放射線など様々な原因により減少する。原始卵胞が排卵されるまでの卵胞発育のうち、原始卵胞から一次卵胞まではゴナドトロピン非依存的に原始卵胞が活性化される。原始卵胞数の調節は、卵子の細胞周期を停止させ卵胞発育を抑制する *Foxo3* と、原始卵胞の卵胞発育を活性化させる PI3K-Akt シグナル伝達経路によって制御されている。このため、原始卵胞を維持し安定した卵胞発育を促すためには、転写因子である *Foxo3* と PI3K-Akt シグナル伝達経路のバランスが重要となる(図)。生殖年齢後期は卵胞数減少加速期とも呼ばれ、急速に原始卵胞数が減少する。加齢により、転写因子である *Foxo3* と PI3K-Akt シグナル伝達経路の遺伝子発現に不均衡が生じていること可能性が考えられるが詳細は不明である。卵巣は放射線感受性が最も高い臓器の一つで、原始卵胞数の変化やそれを制御する遺伝子の動態を把握することは、低線量長期被曝の影響を調べる重要な手がかりとなり得る。

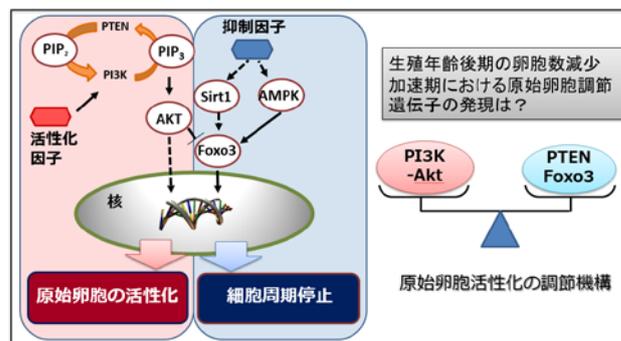
本研究では、老齢マウスの卵巣における原始卵胞数の変化と原始卵胞調節遺伝子発現の関係を明らかにすることを目的として研究を行った。

(2-2) 研究打ち合わせ等の開催状況

福本教授およびその研究室メンバーとは、日頃よりサンプリングをいっしょに行っており連絡を密に取り合っている。また、平成28年3月4、5日に行われた福本教授主催の松島シンポジウムにも参加し、これまでの成果についての議論を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果



本研究では、9週齢の若齢マウスと58週齢の加齢マウスを用いて、以下に示す成果を得た。

卵巣における原始卵胞数制御遺伝子 (*Foxo3*、*PTEN*および*Akt2*) の卵巣における発現において、今回用いた若齢マウスと加齢マウスでは差がないことが明らかとなった。このため、当初予想した *Foxo3*、*PTEN* と PI3K-Akt シグナル伝達経路の不均衡によって、生殖後期の原始卵胞数の急激な減少が誘起されるのではなく、他の因子が関与していることが推察された。

次に、卵胞発育に関与する遺伝子の発現解析を行った。原始卵胞から一次卵胞への発育に関与する *Figla* および *Sohlh1* 遺伝子の発現が加齢マウスでは、若齢マウスに比べ減少していることが明らかとなった。これらの遺伝子は、ともに卵母細胞特異的に発現し、卵形成に関わる重要な転写因子である。さらに、一次卵胞から二次卵胞への発育に関与する *Gdf9* および *Bmp15* 遺伝子の発現も、加齢マウスでは減少が認められた。Gdf9 および Bmp15 タンパク質は、顆粒層細胞の増殖や Smad シグナル経路に関係しており、こちらも卵形成には重要な因子である。これらの遺伝子発現の減少が、生殖後期の原始卵胞の減少や、妊娠率の低下といった生殖能力の減退に直接および間接に関与していると考えられた。

(3-2) 波及効果と発展性など

原始卵胞数の制御機構は、*PTEN* や *Foxo3* 遺伝子ノックアウトマウスを用いた研究により、PI3K-Akt 経路と *PTEN* および *Foxo3* によって調節されていると考えられている。生殖後期の卵巣で発生する原

始卵胞数の急激な減少に対する PI3K-Akt 経路と Foxo3、PTEN の関与について遺伝子解析により検討したところ、PI3K-Akt 経路および Foxo3、PTEN の関与は認められなかった。一方、原始卵胞から一次卵母細胞や二次卵母細胞への発育に関係する遺伝子 (*Figla*、*Sohlh*、*Bmp15* および *Gdf9*) の発現では、加齢による顕著な減少が認められた。今後は卵胞発育に関連するこれらの遺伝子について、卵胞のステージごとに発現量を調べることで、生殖後期の原始卵胞数の低下や卵巣機能低下の分子レベルでの解明につなげていきたい。

最近、閉経後の卵巣を人為的に活性化することで卵胞形成が再開し、体外受精により胎児が出産したことが報告された (Kawamura, 2013)。このことは、閉経後のいったん卵胞発育を停止した卵巣であっても、活性化が可能であることを示している。今回、加齢によって減少が確認された遺伝子のうち、*Figla* および *Sohlh* は、卵胞発育や卵形成に必須な、階層的な遺伝子発現を制御している遺伝子の一つである。これらの遺伝子発現を亢進させることができれば、下流の遺伝子発現を促進させ新たな卵巣の活性化方につながる可能性がある。また、これらの遺伝子の発現を調べることで、新たな卵巣の人為的活性化法を開発するためのモニタリングとしての活用も期待できよう。

また、本共同研究で明らかになった加齢マウスで認められた卵胞発育関連遺伝子の変動は、動物生殖や生殖補助医療の分野だけでなく、現在福島で起きている低線量放射線被曝の線量評価にも結びつき、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) 学会発表

カルニチンは加齢したマウスの卵巣における *Sirt1* および *Sirt2* 遺伝子発現を亢進させる
結城笑香、菅野祥、井上正康、小林仁、第 56 回日本卵子学会、2015 年 5 月 30 日 宇都宮

Genome-wide cDNA microarray screening to correlate gene expression profiles of aged mouse ovary to the size of the reserve of the primordial follicle E Yuki, S Kanno, M Morimoto, M Inoue, J Kobayashi, Society for Reproduction and Fertility 2015 Annual Conference 20th July Oxford.

カルニチンおよび水素分子投与が加齢マウスの原始卵胞数に及ぼす影響 結城笑香、菅野祥、吉田仁秋、井上正康、小林仁、第 108 回日本繁殖生物学会 2015