

# 卵子における染色体分配異常の発生機序の解明と レスキュー法の探索

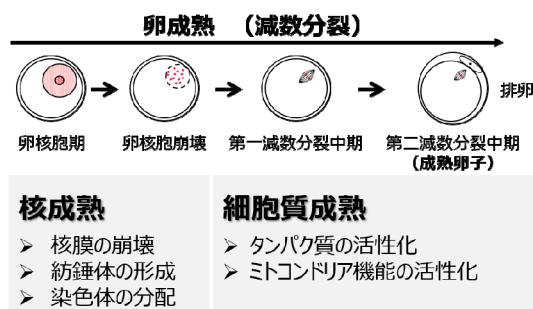
## [1] 組織

代表者：星野 由美  
(日本女子大学理学部)  
対応者：田中 耕三  
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 10 万円

## [2] 研究経過

不妊患者の増加が社会問題となるなか、出生率を向上させるための対策が急務となっている。不妊の原因は複数報告されているが、女性側の要因としては、卵子の染色体異常に起因する割合が7割を占めると報告されている。通常、卵子は減数分裂を経て受精可能な状態（第二減数分裂中期）まで成熟するが（図1）、加齢などの要因により、減数分裂が途中で停止し、受精できない事例が多く報告されている。本研究では、卵子の染色体分配や紡錘体形成に関わる因子に着目し、染色体と微小管の詳細なイメージングに基づき染色体分配異常の発生機序を解明するとともに、そのレスキュー法の探索を目的とした。



受精・発生能力の獲得には、核と細胞質の成熟と同期化が不可欠

図1. 卵成熟（減数分裂）にともなう細胞内変化

以下、研究活動状況の概要を記す。

卵子の減数分裂における染色体分配に関わる新規因子を特定するため、研究代表者によって絞り込まれた候補因子について、免疫組織学的解析やライブ

セルイメージングにより染色体分配異常との関連を解析している。卵子の染色体や微小管の正確なイメージングには適切な設備・環境と厳密な条件検討が必要となることから、加齢医学研究所の田中耕三教授と家村顕自助教の協力を得て、Celldiscoverer 7 によるマウス卵子のタイムラプスイメージング画像の取得を進めている。また、候補因子の機能を明らかにするために、免疫組織学手法および生化学手法により解析を行っている。

本年度はオンラインで田中耕三教授と情報交換や進捗報告を行った。

## [3] 成果

### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず、プロリン異性化酵素（Pin1）に着目して、減数分裂への役割を解析した。これまでの研究で、Pin1 欠損マウス由来の卵子では、高頻度に染色体分配異常が発生することを明らかにしている。減数分裂特異的に Pin1 を阻害するため、卵子の体外成熟培養で Pin1 を阻害したところ、加齢個体由来の卵子で観察される現象に類似した第一減数分裂中期での停止（第一極体放出エラー）が高頻度で観察された。その原因を追究するため、染色体と細胞骨格関連タンパク質の局在を詳細に解析した結果、極体放出に必要なアクチンキャップは細胞皮質で形成されるものの、第一減数分裂中期に形成された紡錘体が表層への移動中に回転することが引き金となって、極体放出エラー（染色体分配異常）が生じることを明らかにした（図2）。Pin1 は卵細胞質で発現し、分裂期では紡錘体周辺に局在化することから、その発現が減数分裂に関与しているものと考えられる。

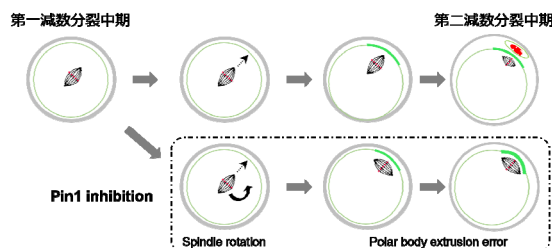


図2. Pin1阻害による減数分裂異常の発生メカニズム

マウス卵巣において、Pin1 は出生直後の卵胞の大部分で発現しているが、Pin1 陽性卵胞数(発現割合)は、出生後時間の経過とともに減少する。このことから、Pin1 が卵子形成や排卵に至る卵成熟の過程において、広く関与しているものと考えられることから、未成熟マウスに Pin1 阻害剤 (DTM) を連続投与して、排卵への影響を解析した。その結果、DTM 投与によって、通常の3倍以上の大きな極体が放出される傾向にあった。大きな極体を放出した卵子は、その後、体外受精を行っても正常に卵割を進めることはできなかった。このことから、適切な細胞分裂(減数分裂)に Pin1 が重要な役割を果たしていると考えられた。

また、未成熟マウスに対する Pin1 阻害で排卵数が増加することを確認した(コントロール:  $16.4 \pm 0.47$  個、DTM 10mM 投与:  $20.8 \pm 1.73$  個、DTM 100mM 投与:  $29.4 \pm 1.18$  個)。Pin1 欠損マウスでは、9 週齢以降で卵巣内の卵子が枯渇し、早期閉経を引き起こす特徴がある(未発表データ)。これらの結果から、Pin1 が減数分裂だけでなく、性成熟後の定期的な排卵調整にも関与していると考えられた。Pin1 はシグナル伝達において下流のタンパク質に作用して機能を果たしていることから、現在、mTOR と Akt に着目して作用機序の解明に取り組んでいる。

次に、卵子の発生能力に影響する要素を追求し、細胞内温度が卵子の健全性を評価するための重要なマーカーになり得ることを明らかにした。すなわち、発生能力と細胞内温度に関連性があるのかを温度プローブを用いてイメージングを行った結果、発生能力の高い(新鮮)卵子では高温領域が多く、加齢や過熟などで発生能力が低下した卵子では、全体的に温度が低い傾向にあった。細胞内温度を人為的に制御できるのかは不明であるが、細胞内を局所的に加熱するなどできれば、染色体分配異常の発生抑制に繋がる可能性がある。

### (3-2) 波及効果と発展性など

卵子の染色体異常は、妊娠した母体と生まれてくる児の健康に大きな影響をもたらすため、早期に検出もしくは回避できることが望ましい。染色体異常の発生機序を明らかにすることは、これまで未解明であった不妊原因の一端を解明することに繋がり、特に生殖医療による出生率の向上に貢献するものと期待される。

本研究の進展により、染色体異常のない健全卵子の分子的・形態的特徴を明らかにできれば、将来的には卵子の健全性診断に繋がる可能性がある。今後、

生殖医療に携わる医師や胚培養士、関連研究者らとのネットワークを発展させ、実用化に向けた展開を図っていく。

### [4] 成果資料

Pin1 に関わる研究成果については、原著論文として投稿中である。また、細胞内温度による卵子の健全性評価の結果については、細胞診断マーカーとして特許出願を予定している。