

一般講演 5

ブタ卵母細胞中のミトコンドリア細胞内分布の変化

葛原大貴、若井拓哉、舟橋弘晃

岡山大学大学院環境生命科学研究科

【目的】哺乳動物胚の体外生産には、主に直径 3-6 mm の中卵胞 (MF) 由来卵丘細胞-卵母細胞複合体 (COCs) が用いられる。しかし卵巣中には、直径 3 mm 未満の小卵胞 (SF) がより多く存在するものの、それら由来 COCs 中の卵母細胞の体外成熟 (IVM) 能は、MF 由来のそれらより低いことが知られている。哺乳動物の健全な卵成熟には、卵核胞期 (GV 期) から第二減数分裂中期 (MII 期) への減数分裂の進行 (核成熟) と、それに同調して起こる細胞質の変化 (細胞質成熟) が必要である。しかし、それらは独立した事象であることが示されており、核成熟が完了しても、細胞質成熟が不完全な場合、十分な発生能が得られないことが知られている。細胞質成熟は、細胞小器官の局在・機能変化を伴い、特にエネルギー生産に関わるミトコンドリアの変化は重要であると考えられる。本研究では、細胞質成熟との関連から、異なる直径の卵胞に由来する卵母細胞中のミトコンドリアが IVM 前後でその局在をどのように変化させるかを観察した。

【材料および方法】屠場由来ブタ卵巣表層の MF および SF から採取した COCs を実験に使用した。GV 期卵母細胞は採卵直後のものを、MII 期卵母細胞は 44 時間の IVM 培養後に第 1 極体の放出を確認したものを実験に供した。卵母細胞周囲の卵丘細胞と透明帯を除去し、卵母細胞のミトコンドリア及び DNA をそれぞれ MitoTracker Green-FM と Hoechst 33342 で染色後、共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡下で観察した。

【結果】卵母細胞質のミトコンドリアの局在は、4 つのパターンに分類できた (I ; 細胞膜直下のみに分布、II ; 細胞膜周辺に分布、III ; 細胞膜周辺に偏在、IV ; 細胞質全体に分布)。COCs 採取直後の SF 由来 GV 期卵母細胞では、パターン I に分類される割合 ($31.6 \pm 12.8\%$) が MF 由来卵母細胞のそれ ($56.7 \pm 23.3\%$) に比べ有意に低かった ($P < 0.05$)。また、パターン III に分類された SF 由来卵母細胞の割合 ($34.6 \pm 3.1\%$) が MF 由来のそれら ($15.0 \pm 7.9\%$) より有意に高かった ($P < 0.05$)。この時期には、パターン IV のミトコンドリア局在を示す卵は観察されなかった。IVM 培養後の MII 期卵母細胞では、パターン I、II、IV で、MF 及び SF 由来卵間に有意差は認められなかったが、パターン III に分類された SF 由来成熟卵母細胞の割合 ($28.3 \pm 8.2\%$) が MF 由来卵のそれ ($40.0 \pm 10.5\%$) よりも有意に低かった ($P < 0.05$)。MF 由来成熟卵母細胞の多く ($43.7 \pm 8.7\%$) は、パターン II に局在していた。

以上の結果から、MF 由来卵母細胞と SF 由来卵母細胞のミトコンドリア細胞内局在には大きな隔たりのあることが明らかになった。また、MF 由来卵母細胞が SF 由来卵母細胞より高い成熟能及び受精後の初期発生能を示すことから、GV 期卵母細胞では、細胞膜直下にミトコンドリアが局在し、MII 期には細胞膜周辺に局在することが重要と考えられる。今後、卵細胞質内ミトコンドリアの局在を指標にした IVM 培養系の改良が、卵母細胞の細胞質成熟を更に促進し、体外受精卵由来の産仔生産効率を高めることが期待される。