

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18768

研究課題名(和文) EGFRシグナル伝達系の活性化増強機構の解明によるウシ卵子の発生能向上

研究課題名(英文) Improvement of oocyte competence by enhancing EGFR signaling in cattle

研究代表者

杉村 智史 (Sugimura, Satoshi)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：00728454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：EGF受容体(EGFR)シグナリング伝達系の活性化増強は卵子の発生能獲得において重要であるが、その機序については詳細になっていない。本研究で経膈採卵に先駆けたFSH投与が卵子の発生能を向上させること、これには、EGFRシグナリングの活性増強が関与していることをRNA-seqにより明らかにした。体外でFSH投与を模倣するため、FSHのセカンドメッセンジャーであるcAMPモジュレーターで卵丘細胞卵子複合体を前培養したところ、EGFRシグナリングの増強と、卵子の発生能向上が認められた。以上、EGFRシグナル伝達系の活性化増強にはcAMPが関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Enhancement of EGF receptor (EGFR) signaling is milestone for acquisition of oocyte developmental competence. However, there are limited information in the mechanism. In preset study, we observed that FSH administration prior to ovum pick up improved oocyte competence. RNA-seq showed that cumulus cells receiving FSH-priming were enhanced EGFR signaling. To mimic the FSH administration in vitro, cumulus-oocyte complexes (COCs) were treated with cAMP modulator, also known as the second messengers of FSH, before in vitro maturation (pre-IVM). The pre-IVM improved oocyte competence and enhanced EGFR signaling. Hence, cAMP may enhance EGFR signaling in bovine COCs.

研究分野：動物生殖学

キーワード：EGFR cAMP 卵子分泌因子 卵丘細胞卵子複合体 ウシ

1. 研究開始当初の背景

体外生産(IVP)胚の作出は乳および肉牛生産において、効率的な産子の生産、種雄牛選抜および交雑育種に大きく貢献している。近年では経膈生体卵子吸引(OPU)技術の世界的普及により、IVP 胚の移植数は年々増加しており、更なる IVP 胚の生産技術改良が求められている。しかしながら、体外成熟培養(IVM)によって得られたウシ卵子は体内成熟卵子に比べ発生能が劣る。したがって、卵子の発生能獲得機構を明らかにすることで、IVM 卵子の発生能向上が期待できる。卵子の発生能は卵胞発育過程で徐々に獲得されることが知られているが、申請者はこれまでの研究で卵胞発育過程での EGF 受容体(EGFR)シグナル伝達系の構築・活性化増強が卵子の発生能獲得に重要であることを明らかにした。しかしながら、その機序については詳細になっていない。

2. 研究の目的

本研究では卵丘細胞における上皮成長因子受容体(EGFR)シグナル伝達系の活性化増強メカニズムを明らかにすることで、ウシ卵子の品質向上を目指す。

3. 研究の方法

FSH のセカンドメッセンジャーである cAMP モジューレーターおよび卵子分泌因子である GDF9/BMP15 が EGFR シグナル伝達系の活性化増強に及ぼす影響を明らかにする。すなわち、成熟培地中への cAMP モジューレーターや卵子分泌因子の添加がウシ卵丘細胞の分子生物学的変化および卵子の発生能に及ぼす影響を解析する。

4. 研究成果

(1) OPU による COCs 採取に先駆けた FSH の漸減投与が卵丘細胞の EGFR シグナリングを増強させ、結果、卵子の発生能を向上させることを明らかにした。

(2) この高発生能卵子を取り囲む卵丘細胞の分子生物学的特徴を RNA-seq により解析した結果、EGFR シグナリングの増強、細胞遊走・移動の抑制、抗炎症作用の亢進、卵丘細胞-卵子コミュニケーションの亢進が認められた。

(3) cAMP モジューレーターである dbcAMP と IBMX の COCs への前処理が EGFR シグナリングを増強させ、結果、発生能を向上させることを明らかにした。すなわち、FSH もしくは EGF 様ペプチド(amphiregulin)刺激後の卵丘膨化関連遺伝子の発現増加が認められた。さらに、cAMP モジューレーター処理による卵子の発生能向上効果は EGFR チロシンキナーゼ阻害剤によって打ち消された。

(4) リコンビナントヒト GDF9/BMP15 のヘテロダイマー(cumulin)が EGF 様ペプチド(amphiregulin)誘導による卵子の発生能獲得を促進させることを明らかにした。

以上、EGFR シグナル伝達系の活性化増強には cAMP および卵子分泌因子が関与して

いることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

1) Sugimura S*, Yamanouchi T, Palmerini MG, Hashiyada Y, Imai K, Gilchrist RB. Effect of pre-in vitro maturation with cAMP modulators on the acquisition of oocyte developmental competence in cattle. *Journal of Reproduction and Development*. in press, 2018.

2) Sugimura S*, Kobayashi N, Okae H, Yamanouchi T, Matsuda H, Kojima T, Yajima A, Hashiyada Y, Kaneda M, Sato K, Imai K, Tanemura K, Arima T, Gilchrist RB. Transcriptomic signature of the follicular somatic compartment surrounding an oocyte with high developmental competence. *Scientific Reports*. 7. 6815. 2017. (*責任著者)

3) Sugimura S*, Akai T, Imai K. Selection of viable in vitro-fertilized bovine embryos using time-lapse monitoring in microwell culture dishes. *Journal of Reproduction and Development*. 63. 353-357. 2017. (*責任著者)

4) Gilchrist RB, Luciano AM, Richani D, Zeng HT, Wang X, Vos MD, Sugimura S, Smits J, Richard FJ, Thompson JG. Oocyte maturation and quality: role of cyclic nucleotides. *Reproduction*. 152. 143-57. 2016.

5) Li HJ, Sutton-McDowall ML, Wang X, Sugimura S, Thompson JG, Gilchrist RB. Extending prematuration with cAMP modulators enhances the cumulus contribution to oocyte antioxidant defence and oocyte quality via gap junctions. *Human Reproduction*. 31. 810-821. 2016.

6) Mottershead DG, Sugimura S, Al-Musawi SL, Li JJ, Richani D, White MA, Martin GA, Trotta AP, Ritter LJ, Shi J, Mueller TD,

Harrison CA, Gilchrist RB. Cumulin, an oocyte-secreted heterodimer of the transforming growth factor- β family, is a potent activator of granulosa cells and improves oocyte quality. *Journal of Biological Chemistry*. 290. 24007-24020. 2015.

7) Sugimura S, Ritter LJ, Rose RD, Thompson JG, Smitz J, Mottershead DG, Gilchrist RB. Promotion of EGF receptor signaling improves the quality of low developmental competence oocytes. *Developmental Biology*. 403. 139-149. 2015.

8) Ritter LJ, Sugimura S, Gilchrist RB. Oocyte induction of EGF responsiveness in somatic cells is associated with the acquisition of porcine oocyte developmental competence. *Endocrinology*. 156. 2299-2312. 2015.

9) Li JJ, Sugimura S, Mueller TD, White MA, Martin GA, Ritter LJ, Liang XY, Gilchrist RB, Mottershead DG. Modifications of human growth differentiation factor 9 to improve the generation of embryos from low competence oocytes. *Molecular Endocrinology*. 29. 40-52. 2015.

〔学会発表〕(計 7 件)

1) Sugimura S, Kobayashi N, Okae H, Yamanouchi T, Matsuda H, Kojima T, Yajima A, Hashiyada Y, Kaneda M, Sato K, Imai K, Tanemura K, Arima T, Gilchrist RB. Transcriptomic signature of the follicular somatic compartment surrounding an oocyte with high developmental competence. 4th World Congress of Reproductive Biology, 2017, 沖縄.

2) Sugimura S. Morphokinetics of preimplantation embryo and the viability. XXV International symposium on Morphological Sciences, Xi'an, 2017. (招待講演)

3) 杉村智史, 小林記緒, 岡江寛明, 山之内忠幸, 兒島匠, 金田正弘, 今井敬, 佐藤幹,

橋谷豊, 有馬隆博, 種村健太郎, Robert B Gilchrist. ウシ卵胞内卵子の発生能を制御する卵丘細胞シグナルネットワーク. 第 109 回日本繁殖生物学会, 相模原, 2016.

4) Sugimura S. Selection of healthy bovine IVP embryo for ET. Symposium of the Thai Society for Animal Reproduction, Bangkok, 2016. (招待講演)

5) 杉村智史. ウシ着床前胚の生育成否予測. 第 61 回日本生殖医学会, 横浜, 2016. (招待講演)

6) 杉村智史. ウシ体外受精胚の生育成否予測. 第 57 回日本卵子学会. 新潟, 2016. (招待講演).

7) 杉村智史, Lesley J Ritter LJ, Rose RD, Thompson JG, Smith J, Mottershead DG, Gilchrist RB. EGF シグナリングの活性化増強は低発育卵子の発生能を改善する. 第 56 回日本卵子学会, 新潟, 2015.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
該当なし

6. 研究組織
(1)研究代表者

杉村 智史(Sugimura Satoshi)
東京農工大学・大学院農学研究院・
特任准教授
研究者番号：00728454

(2)研究分担者
該当なし

研究者番号：

(3)連携研究者
該当なし

研究者番号：

(4)研究協力者
Robert B Gilchrist
ニューサウスウェルズ大学(オーストラリア)・
特任准教授