

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2年 7月 15日現在

機関番号：32620  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2019  
課題番号：19H00456  
研究課題名：初期胚/卵管上皮の相互作用：金属イオン動態と受精シグナル候補分子の組織化学的解析

研究代表者  
黒澤 大 (KUROSAWA, Masaru)  
順天堂大学・大学院医学研究科・私大技術員

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000 円

## 研究成果の概要：

哺乳類において卵管は受精の場を提供する重要な器官である。しかし、卵管における初期胚と母体間のシグナル伝達機構は殆ど明らかにされていない。この原因として、これらシグナル分子の発現量が微量であり、尚且つ限られた胚ステージのみでの発現であることが考えられる。本研究では、卵管の胚シグナルに対する応答機構を明らかにするため、包括的微量定量が可能である SWATH 解析を行った。その結果、金属イオン結合能を有する分子等を検出したので、これらの基礎データを集積した。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

現在まで受精後着床前の初期胚シグナルは殆ど同定されていない。その本質を明らかにし、更に母体の応答機構を明確にすることが出来れば、胚シグナルの伝達機構破綻と推定される受精着床不全の新しい病態メカニズムの提示につながる可能性がある。

## 研究分野：生殖生理学

## キーワード：

受精シグナル、卵管、メタロチオネイン

## 1. 研究の目的

哺乳類では卵巣から排卵された成熟卵子は卵管内で受精した後、細胞分裂を繰り返しながら子宮まで移動しそこに着床する。この間、母体は初期胚の存在を着床前に感知し、胚盤胞（初期胚）受容のために子宮内膜の構造を変化させる。従って、受精卵の移動に伴い、胚と母体の間で多様な情報交換が行われていると推定される。しかし、受精後～着床前に、特に卵管内ではどのような経路で初期胚シグナル分子を母体に伝達するかについては殆ど明らかにされていない。

本研究では、この初期胚シグナルの伝達経路を解明するため、ICR マウスを用いて受精卵（2-4細胞期）及び未受精卵の存在下における卵管総タンパク質を、SWATH 解析によって定量的発現解析を行った。その結果、偽妊娠卵管に対する妊娠卵管において、それぞれ 510/734 種のタンパク質の増減が検出された。これらの検出された金属結合タンパク質を含む分子群を手掛かりとし、哺乳類雌性生殖管の胚シグナルに対する応答機構を明確にすることが最終目的である。

## 2. 研究成果

我々は SWATH 解析の結果から、増減がみられた分子の中で特に発現量上昇が著しい金属イオン結合能を有するタンパク質であるメタロチオネイン(MT)-1、MT-2、MT-3、および卵子での発現が報告されている CD81 に着目した。

これら分子の遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法で確認したが、タンパク質レベルの解析と相反して各 mRNA の発現量に大きな変化は認められなかった。ウエスタンブロット法では MT に対する複数の市販の抗体では反応性が悪く良好な実験結果が得られず、また CD81 は大きな発現変化は認められなかった。

今後は MT を含めた受精シグナル候補分子の合成ペプチド等を用いて抗体を作成し、組織化学解析を最終目的とした詳細な定量解析を行う予定である。

### 3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

1. Hara-Yokoyama M, Kurihara H, Ichinose S, Matsuda H, Ichinose S, Kurosawa M, Tada N, Iwahara C, Terasawa K, Podyma-Inoue KA, Furukawa K, Iwabuchi K: KIF11 as a potential marker of spermatogenesis within mouse seminiferous tubule cross-sections. *J Histochem Cytochem.*, 67(11), 813-824, 2019.

〔学会発表〕（計 0 件）

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

### 4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：荒木 慶彦

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。