

機関番号：11501
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20591905
 研究課題名(和文)卵の若返りに関する研究「新しい不妊治療のストラテジー確立を目指して」
 研究課題名(英文) Study of rejuvenation of aged oocyte “ Aim at the establishment of the strategy of a new fertility treatment ”
 研究代表者
 五十嵐 秀樹 (IGARASHI HIDEKI)
 山形大学・医学部・助教
 研究者番号：80333970

研究成果の概要(和文): マウス加齢卵の若返りの目的に肝細胞から抽出したミトコンドリアの卵細胞質への移植を行った。しかし、ミトコンドリア移植加齢卵の受精率、胚発育は改善しなかった。そこで、卵加齢の新たなメカニズムとして小胞体ストレスを検討した。マウス卵では排卵後の加齢により、小胞体ストレスマーカーの増加が確認された。小胞体ストレス誘導物質、thapsigargin、tunicamycin は新鮮卵の体外受精の受精率を低下させ、胚発育を悪化させた。以上の結果は卵の加齢に小胞体ストレスが関与し、小胞体ストレスの克服が卵の若返りに重要であることを示唆する。

研究成果の概要(英文): Mitochondria (Mt) extracted from the hepatocyte to the purpose of the rejuvenation of the aged mouse were transplanted to ooplasm. However, neither the fertilization rate nor the embryonic development of the Mt transplant aged oocytes have been improved. The endoplasmic reticulum (ER) stress was examined as a new mechanism of aging of oocytes. An increase of the ER stress marker was confirmed in the aged mouse oocytes. The ER stress inducement material, thapsigargin, and tunicamycin decreased the fertilization rate after the *in vitro* fertilization of fresh mouse oocytes, and worsened the embryonic development. As for the above-mentioned result, the ER stress takes part in the aging of the oocyte, and overcoming the ER stress suggests that it be important in the rejuvenation of the aged oocyte.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：生殖医学

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年の生殖補助医療技術(ART)の進歩はめざましいが、高齢女性のART成績は不良である。これは卵の質の低下に依ると考えられ、ミトコンドリア機能の低下が大きく関

与すると推測されている。

(2) この難治性不妊に対する治療はドナー卵からの卵細胞質移植が試みられていたが、mitochondrial (Mt) heteroplasmy という問

題のため禁止に至った。よって、新たな治療法の開発が急務である。

2. 研究の目的

(1) 自家体細胞からの Mt 抽出を行い、これを加齢卵に移植する。これにより Mt heteroplasmy の問題は解決される。Mt 移植により加齢卵にみられる受精率の低下、胚発育の悪化が改善されるかを検討する。

(2) 糖尿病、Alzheimer 病など神経変性疾患への小胞体 (ER) ストレスの関与を明らかとなっている。卵の加齢にも ER ストレスが関与しているかを調べる。

3. 研究の方法

(1) マウス肝細胞から Mt を抽出し、マイクロマニピュレーションシステムを用いて、マウス加齢卵へ移植する。Mt 移植後に体外受精を行い、受精率、胚発育を検討する。

(2) マウス加齢卵の ER ストレスマーカーである BiP の発現を検討する。また、新鮮卵に ER ストレス誘導物質である thapsigargin (Tg) tuniomycin (Tu) を暴露させ、体外受精後の受精率、胚発育を検討する。

4. 研究成果

(1) Mt 移植加齢卵の体外受精後の受精率・胚発育を以下の群と比較して検討した。

- マウス新鮮卵 (Fresh)
- 加齢卵 (Aged)
- vehicle 注入加齢卵 (V-Aged)
- Mt 移植加齢卵 (Mt-Aged)

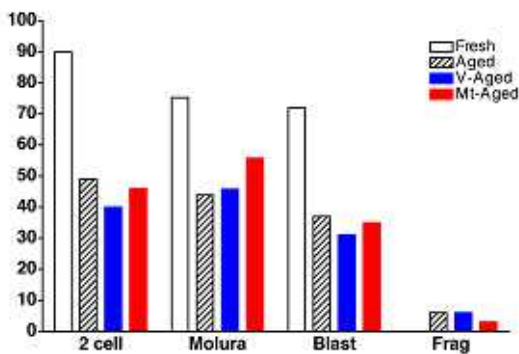


図 1

結果: V-Aged、Mt-Aged で受精率、桑実胚・胚盤胞到着率に有意差を認めなかった。つまり、Mt 移植により受精率、胚発育の改善は認められなかった。

(2) 加齢卵における小胞体ストレスマーカー、BiP の発現を検討した。

- Lane1: 新鮮卵
- Lane2: 5 μ M Tg 暴露新鮮卵 (Positive control)
- Lane3: 加齢卵

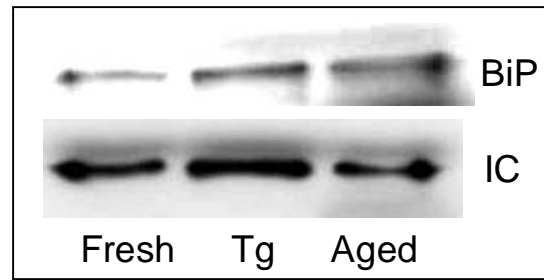


図 2

結果: 加齢卵では新鮮卵に比較して ER ストレスマーカー、BiP の発現が亢進していた。

(3) 小胞体ストレスが受精・胚発育に及ぼす影響を検討した。

加齢の受精・胚発育に及ぼす影響を検討した。

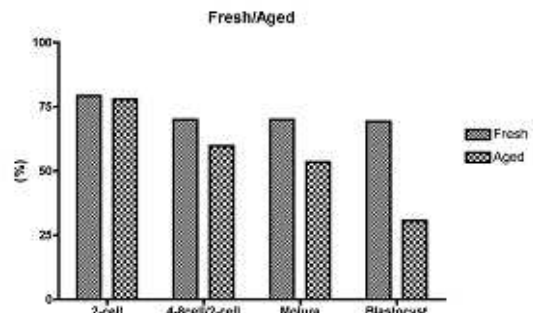


図 3

結果: 加齢卵では受精率は低下しなかったが、受精後の胚発育は悪化した。

ER ストレス誘導物質 Tg(5 μ M) 暴露が受精率・胚発育に及ぼす影響を検討した。

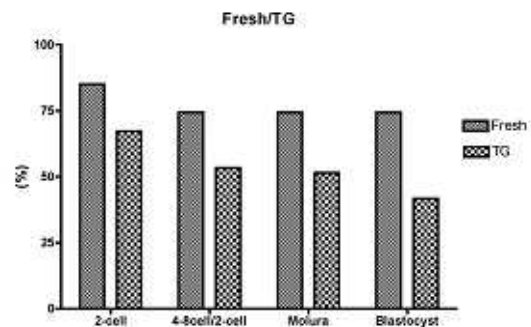


図 4

結果: 新鮮卵への Tg 暴露による ER ストレスにより、受精率が低下し、胚発育が悪化した。

ER ストレス誘導物質 Tu(0.5, 5.0ng/ml) 暴露が受精率・胚発育に及ぼす影響を検討した。

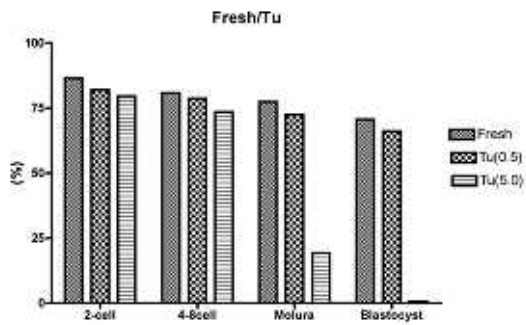


図 5

結果：新鮮卵への Tu 暴露は 0.5, 5.0ng/ml いづれも受精率を低下させなかったが、高濃度 (5.0ng/ml) の Tu 暴露では桑実胚以降の胚発育が極めて悪化した。

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2件)

Takahashi T, Igarashi H, Amita M, Hara S, Kurachi H: Roles of prostaglandins during oocytes maturation: lessons from knockout mice. J Mamm Ova Res 27:11-20, 2010. 査読有り。

Hara S, Takahashi T, Amita M, Igarashi H, Kurachi H: Usefulness of Bezafibrate for Ovulation Induction in Clomiphene Citrate-Resistant Polycystic Ovary Syndrome Patients with Dyslipidemia: A Prospective Pilot study of Seven Cases. Gynecol Obstet Invest. 16:166-172, 2010. 査読有り。

[学会発表](計2件)

五十嵐秀樹、高橋俊文、網田光善、倉智博久: マウス加齢卵におけるミトコンドリア機能の評価とミトコンドリア移植の試み. 第 53 回日本生殖医学会総会・学術講演会 神戸市 2008.10.23.

五十嵐秀樹、高橋俊文、網田光善、倉智博久: マウス加齢卵における卵の質の改善を目的としたミトコンドリア移植の試み. 第 49 回日本哺乳動物卵子学会 名古屋 2008.5.17.

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

五十嵐 秀樹 (IGARASHI HIDEKI)
山形大学・医学部・助教
研究者番号: 80333970

(2) 研究分担者

高橋 俊文 (TAKAHASHI TOSHIFUMI)
山形大学・医学部・講師
研究者番号: 20302292

(3) 連携研究者

()

研究者番号: