

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15009

研究課題名（和文）妊孕性にかかわる新規卵巣内因子の同定とその機能解析

研究課題名（英文）Identification and functional analysis of novel ovarian factors involved in female fertility

研究代表者

江森 千紘 (Emori, Chihiro)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：10868136

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：女性の不妊の原因はホルモンバランスの異常、卵母細胞の質の低下など多岐にわたる。本研究は妊孕性に作用する要因の中でも卵母細胞自身の質や卵巣環境に着目し、メスの妊孕性にかかわる新規因子の同定とその制御機構の解明を目的とした。これまで、6遺伝子の欠損マウスを作製し、4遺伝子の欠損マウス妊孕性を確認した。これらマウスの卵巣形態や排卵数は野生型と比べて差がなかった。不妊が確認された遺伝子欠損マウスは卵巣切片による形態観察では大きな異常は確認されず、体外受精の結果、受精できない、またはその後の発生に影響を及ぼすことが確認された。本研究により、受精発生にかかわる卵巣由来の因子を新たに同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不妊に関連する遺伝子の探索は国内外で盛んに行われているが詳細な解析がなされていないものも多い。本研究では卵巣で高発現する6遺伝子の遺伝子欠損マウスを作製し、その妊孕性の解析を行った。新たに不妊にかかわる遺伝子を同定できたことで、生殖分野の基礎研究だけでなく、不妊治療の臨床分野にも貢献が期待できる。また妊孕性に顕著な影響が見られなかった遺伝子についても、新規の知見として今後の生殖分野への貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Female infertility is caused by various factors, such as hormonal imbalance or poor quality of oocytes. This study aimed to identify novel factors involved in female fertility and to elucidate their functions by focusing on the quality of the oocytes and the ovarian environment.

We have generated six knockout (KO) mice strain individually and checked their fertility. 4 KO mouse strains showed normal fertility and their ovarian morphology and number of ovulated eggs in these mice were comparable compared to wild-type mice. 2 KO mouse strains showed infertility. They showed no major abnormalities in morphological observation by ovarian sectioning. In the result of in vitro fertilization, they could not be fertilized or their subsequent embryo development was affected. This study identified a novel ovarian factor involved in fertilization and embryo development.

研究分野：生殖生物学

キーワード：卵巣 卵母細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では不妊のカップルは5-6組に1組といわれているが、その原因はさまざまである。女性の場合、不妊の原因として考えられる要因は、ホルモンバランスの異常、卵管や子宮の環境の異常、排卵不全など多岐にわたる。さらに、卵母細胞自身の質の低下も不妊の原因の一つであるが、これまで、不妊に関連する遺伝子について多くの報告がされている精子と異なり、卵母細胞は1個体から採取できる数に限りがあることから解析が難しく、理解が不十分である。卵胞発育過程で発現・機能するタンパク質が、受精後の胚発生に影響を及ぼすことがある。そのため、卵母細胞が卵胞発育過程にどのような因子の影響を受けて、卵母細胞自身の質を維持しているかを明らかにすることが必要である。

2. 研究の目的

本研究では、メスの妊孕性にかかわる新規卵巣内因子の同定と、それら因子が卵巣内でどのように制御され、機能しているのかを明らかにすることを目的とする。卵巣環境内で卵の質を維持するための戦略を見つけ出すことを目指す。

3. 研究の方法

CRISPR/Cas9 システムにより6系統の遺伝子欠損マウス (KO マウス) を作製した。作製した KO マウスについて、まず妊孕性の評価を行った。野生型オスマウスとホモ欠損メスマウスを2か月間同居させ、その間の膣栓と産子数を毎朝確認した。野生型メスマウスの交配結果と比較して、有意な差がみられなければ妊孕性ありと判断した。産子数に野生型と比べて有意な差がみられた・または産子が全く得られなかった KO 系統は妊孕性低下または不妊として以降の解析を進めた。妊孕性の有無にかかわらず、卵巣組織切片の観察、体外受精による受精の是非を評価した。不妊が確認された KO 系統に関しては、その詳細なメカニズムを解析した。

4. 研究成果

Pabpn1 (PolyA binding protein like 1) KO メスマウスは交配試験の結果不妊であることが明らかとなった。卵巣形態に異常は見られず、排卵数も野生型と比べて差は見られなかったが、体外受精の結果、受精後2細胞期胚で胚発生が停止した。野生型と *Pabpn1* KO マウスの GV 卵、MII 卵の遺伝子発現を RNAseq で解析したところ、*Pabpn1* KO MII 卵では mRNA の蓄積がみられた。受精後、母性由来の mRNA は分解されるが、*Pabpn1* KO マウス胚ではその分解が起らず、これにより2細胞期胚での発生停止が起こったと考えられる。*Pabpn1* KO または野生型の GV 卵に *Pabpn1* mRNA を顕微注入し、その後の発生の様子を観察すると、*Pabpn1* KO で見られた2細胞期停止が回避された。このことから、GV 期以降の PABPN1L タンパク質の存在が、母性 mRNA の分解に大きく影響することが示唆された。

Ccdc58 (*Mix23*, mitochondrial matrix import factor 23)、*Oas1h* (2'-5' oligoadenylate synthetase 1H)、*Elobl* (elongin B-like)、*Zar1l* (zygote arrest 1-like) KO マウスはそれぞれ野生型と同等の妊孕性を示した。卵巣組織切片の観察や、体外受精を行ったが、野生型と比べて顕著な差は見られなかった。卵巣特異的、または卵巣で高発現している遺伝子でも、妊孕性に大きく影響を及ぼさないことが示された。以上、本研究により、受精・発生にかかわる因子を新たに同定するとともに、卵巣で

高発現しているにもかかわらず、妊孕性に大きな影響を与えない因子も同定した。上記の知見はメスの生殖研究において重要な知見であるといえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Iida Norita Rie, Miyata Haruhiko, Kaneda Yuki, Emori Chihiro, Noda Taichi, Nakagawa Tatsuya, Matzuk Martin M., Ikawa Masahito	4. 巻 -
2. 論文標題 Generation of humanized LDHC knock in mice as a tool to assess human LDHC targeting contraceptive drugs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/andr.13359	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 EMORI Chihiro, KODANI Mayo, ABBASI Ferheen, MORI Masashi, IKAWA Masahito	4. 巻 70
2. 論文標題 PABPN1L is required for maternal mRNA degradation after meiosis resumption	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 10~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2023-077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Pham Anh Hoang, Emori Chihiro, Ishikawa-Yamauchi Yu, Tokuhiko Keizo, Kamoshita Maki, Fujihara Yoshitaka, Ikawa Masahito	4. 巻 13
2. 論文標題 Thirteen Ovary-Enriched Genes Are Individually Not Essential for Female Fertility in Mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 802~802
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells13100802	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------