

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19580327

研究課題名 (和文) 鞭毛運動の細胞内情報伝達機構-鶏精子の可逆的不動化をモデルとして

研究課題名 (英文) Temperature-dependent regulation of fowl sperm motility – as a model for signal transduction mechanisms of flagellar movement.

研究代表者：芦沢 幸二 (ASHIZAWA KOJI)

宮崎大学 農学部 教授

研究者番号：60128353

研究代表者の専門分野：動物生殖生理学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：精子、鞭毛運動、情報伝達、運動調節、リン酸化

### 1. 研究計画の概要

鶏精子は体温付近の 40℃で運動を停止し、温度を下げると動き出す。これを温度による可逆的な不動化現象と称している。この現象は、精子内の運動調節に関与する細胞内シグナル伝達系のいずれかが変化を受けることによって引き起こされると考えられている。しかし、このメカニズムの詳細については不明な点が多い。本研究は、細胞内の様々なシグナル伝達物質に着目し、これが鶏精子の運動調節に関与しているか否かについて検討していくものである。

### 2. 研究の進捗状況

(1) Ca<sup>2+</sup>と、その細胞内移動に関係している PI3K が運動調節に影響しているか否かについて検討した。その結果、PI3K 阻害剤を単独に添加しても、正常精子あるいは除膜精子の運動性は、30℃及び40℃ともに濃度の差異による影響は認められなかった。これに対し、40℃で不動化を起こしている精子にCa<sup>2+</sup>を添加すると運動は再開した。ところがその後、阻害剤を加えると、運動性は10-20%まで低下した。添加順序を逆にしても抑制効果が認められた。以上の結果から、40℃における鶏精子の運動調節にPI3Kの関与が示唆された。

(2) 一酸化窒素合成酵素 (NOS) とアンドロゲン・レセプターに着目し、これらが鶏精子の運動調節に関与しているか否かについて検討した。その結果、NOS 阻害剤を添加しても、正常精子と除膜精子の運動性に影響を及ぼさなかった。一方、30℃で活発に運動している正常精子にアンドロゲン・レセプター・アンタゴニストである flutamide を加えると、運動性は濃度依存的に低下した。これに対し

て、アゴニストである DHT を先に加えて、あとから flutamide を添加すると運動抑制効果は認められなかった。以上の結果から、鶏精子の運動調節に NOS は関係しないものの、アンドロゲン・レセプター活性が関与していると推察された。

(3) 細胞内のプロテアソーム (多機能プロテアーゼ) に着目し、これらが鶏精子の運動調節に関与しているか否かについて検討した。その結果、阻害剤である AM114 あるいは MG132 を添加したあとの正常精子の運動性は、30℃では40%前後の運動性を示し、40℃では、精子は不動化現象を起こし、運動は抑制されたままであった。30℃において、AM114 あるいは MG132 の存在下での Ca<sup>2+</sup> 添加後の精子の運動性は、AM114 添加区のみ Ca<sup>2+</sup> 添加後に有意に抑制された。40℃では、両阻害剤添加区において、Ca<sup>2+</sup> 添加後に運動性は回復したが有意に抑制されていた。以上の結果から、プロテアソームが鶏精子の運動性に何らかの影響を及ぼしているものと推察された。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

(理由) これまで 2 報の論文を欧米の権威ある国際誌に掲載することができ、また欧米の権威ある国際誌に現在受理されたものが 1 報あるから。

### 4. 今後の研究の推進方策

これまで行ってきた研究結果から、鳥類精子には哺乳類精子には見られない、極めてユニークな運動調節機構の存在することが明らかになってきた。残された 1 年間は、これま

での研究結果から総合考察を行い、鳥類精子の運動調節における細胞内情報伝達機構のカスケード中で温度センサー・タンパク質の果たす役割を明らかにする。加えて、受精現象におけるこのタンパク質の存在意義を推察していく。さらに、4年間の成果を基に、この次の科研費申請の課題として構想を考えている「野生鳥類の保護の観点からの精子の運動生理学」、すなわち同じ鳥類でも準絶滅危惧種に指定されているコシジロヤマドリ（Coturnix japonica）の精子を実験材料に用いて、同様の傾向が認められるか否か、すなわち、もし同じような機構の存在することが明らかになれば、これまで家禽、とりわけ鶏精子で明らかにされてきた膨大な保存技術のデータが利用可能になるので、この点についても残された1年間で手がかりを見つけていく予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

(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3件)

① Ashizawa, K., Kawaji, N. et al.  
Temperature-dependent regulation of sperm motility of Ijima's copper pheasants (*Syrnaticus soemmerringii ijimae*), one of 'near threatened' species. *Animal Reproduction Science*, 査読有, In accepted, 2010.

② Ashizawa, K., Omura, Y. et al.  
Intracellular signal transduction pathways in the regulation of fowl sperm motility: Evidence for the involvement of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) cascade. *Molecular Reproduction and Development*, 査読有, 76, 2009, 603-610.

③ Yamauchi, S., Ashizawa, K., Tatemoto, H. et al.  
Prediction of the estrous cycle and optimal insemination time by monitoring vaginal electrical resistance (VER) in order to improve the reproductive efficiency of the Okinawan native Agu pig. *Animal Reproduction Science*, 査読有, 113, 2009, 311-316.

[学会発表] (計6件)

① 片山誠一・芦沢幸二ら  
幼若ラット子宮の Wnt7a およびインディアンヘッジホッグ遺伝子の発現に及ぼすエストロゲンレセプター選択的アゴニストおよびアンタゴニストの影響, 第35回日本トキシコロジー学会学術年会, 2008年6月, 東京.

② 片山誠一・芦沢幸二ら  
幼若ラット子宮の Wnt7a およびインディアンヘッジホッグ遺伝子の発現に及ぼすメト

キシクロールおよびエチニルエストラジオールの影響, 第36回日本トキシコロジー学会学術年会, 2009年7月, 岩手.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 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]