

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24046

研究課題名(和文) マウス・ヒト受精卵における脂肪滴の解析と脂肪酸組成の最適化による新規培養液の作成

研究課題名(英文) Analysis of lipid droplets in mouse and human fertilized eggs, and developing new culture medium by optimization of fatty acid composition.

研究代表者

辰巳 嵩征 (TATSUMI, TAKAYUKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座助教

研究者番号：30846035

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪滴の動態・脂肪酸の及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、精子の運動性に異常をきたして受精障害を引き起こすヒト症例を経験したため、まず今回の研究期間においてその症例を例に挙げて解析を行った。タイムラプス装置による胚の解析に着目し、成果をTranslational Andrology and Urologyに報告した。

女性の健康情報サービス「ルナルナ」を通じて記録された日本人女性32万人、600万月経周期のビッグデータを解析し、月経周期、基礎体温と年齢、季節の関係を調査し、成果をObstetrics and Gynecologyに報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胚の体外での培養環境は卵管や子宮の中の環境には及ばないと言われており、培養環境の改善のためのbreakthroughが待たれている。さらに、最近では胎児期の子宮内での環境がその後の発育に影響することがわかってきている。今回の我々の研究を通じて、胚の培養環境や着床後早期の胚を取り巻く環境がヒトのその後の発育に及ぼす影響が示唆された。ここで培養液中の脂肪滴・脂肪酸に関する研究は今までほとんど行われてこなかった。脂肪酸は細胞膜の構成成分となるため、細胞分裂・胚発生に必須である。今後はとくに我々が注目している脂肪滴の動態・脂肪酸の及ぼす影響を明らかにしていきたい。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of clarifying the dynamics of lipid droplets and the effects of fatty acids, we experienced a human case that causes abnormal sperm motility and causes fertility disorders. We conducted the analysis, focused on the analysis of embryos using a time-lapse device, and reported to Translational Andrology and Urology.

We analyzed big data of 320,000 Japanese women and 6 million menstrual cycle recorded through the women's health information service "Luna Luna", investigated the relationship between menstrual cycle, basal body temperature and age, and season, and reported it to Obstetrics and Gynecology.

研究分野：生殖医学

キーワード：生殖医療 脂肪滴

1. 研究開始当初の背景

子供に恵まれない夫婦にとって、体外受精は極めて有用なツールである。我が国において体外受精で出生した児は2016年には18人に一人となり、婚姻年齢の上昇とともに今後もさらに増加していくことが予想される。体外受精では体外で卵子を精子と受精させ、受精した胚を培養した後に子宮に移植する過程が必要である。胚培養の技術は年々進歩し、培養液の組成や培養環境の改善、タイムラプス顕微鏡の導入などに伴い、以前に比べより妊娠の可能性が高い胚を得られる確率が高まった。しかし現在なお、胚の体外での培養環境は卵管や子宮の中の環境には及ばないと言われており、培養環境の改善のためのbreakthroughが待たれている。さらに、最近では胎児期の子宮内での環境がその後の発育に影響することがわかってきている。以上から、今回我々は胚の培養環境や着床後早期の胚を取り巻く環境がヒトに及ぼす影響をミクロとマクロの視点から明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

海外の着床前診断のデータを通じて、以前多く行われていた初期胚移植ではその中に多くの染色体異常胚が含まれていることが明らかになった。そのため近年では胚盤胞移植が盛んになり、培養期間は長期化することが増えたことから、培養液の重要性はより高まっている。培養液の組成は卵管内容液、子宮内容液を模して作成されている。培養液中のピルビン酸、グルコースなどについては研究が多く行われたが、培養液中の脂肪酸・脂質に関する研究は今までほとんど行われてこなかった。脂肪酸は細胞膜の構成成分となるため、細胞分裂・胚発生に必須である。ヒト胚では、培養環境が悪くなると胚の割球以外に小さな泡状のfragmentationと呼ばれる構造が割球に接して現れる。Fragmentationが多くなると胚のgradeが低いと判断され、実際に妊娠率も低下する。ここでFragmentationは膜構造を有するため細胞膜を構成する脂肪酸が関与していると考えられる。さらにFragmentationの多寡が胚の質に影響することから、体外での胚発育に脂肪酸が重要な役割を果たすことが示唆される。そこで、将来的には脂肪酸の動態・脂肪酸の及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、まず今回の研究期間においてタイムラプス装置による胚の解析に着目した。

胎児期や生後早期の環境が、将来の健康や特定の病気へのかかりやすさへ影響を及ぼすDOHaD (Development Origin of Health and Disease)の概念が近年より注目されている。ヒトでは、妊娠初期から中期にかけて過剰なグルコース・脂肪酸・アミノ酸環境に曝露されると脂肪が蓄積されやすくなるように胎児がプログラムされるといわれている。ここで我々は、卵子周囲の環境(卵管内や子宮内など)からすでに発育に大きく影響を及ぼしうると考えている。以前は妊娠中の体重管理について(つまり過度な栄養状態について)とくに管理されていなかった。1990年代中期ごろから、妊娠中の体重増加が及ぼす影響が指摘されるようになり、妊婦が厳格に体重管理を行うようになった。そこで1995年前後から出生した女性のヘルスケアがどのように変化したかをビッグデータにより明らかにする方針とした。

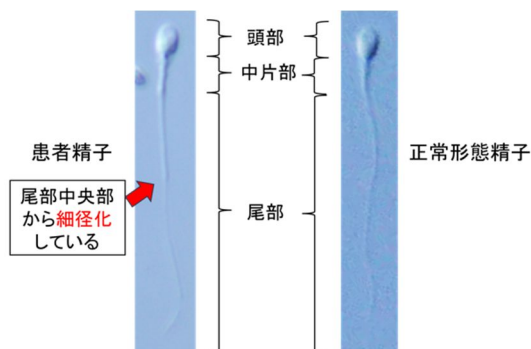
3. 研究の方法

タイムラプス装置による胚発生の解析を行った。精子の運動性に異常をきたして受精障害を引き起こすヒト症例を経験したため、その症例を例に挙げて解析を行った。

女性の健康情報サービス「ルナルナ」(株式会社エムティーアイ)を通じて記録された日本人女性32万人、600万月経周期のビッグデータを解析し、月経周期、基礎体温と年齢、季節の関係性を調査した。

4. 研究成果

ヒト精子鞭毛のfibrous sheathが欠損することで精子の運動が障害された例をもちいた胚発生の解析を行った。結果として受精障害を引き起こすことから通常の媒精では妊娠できず、顕微授精を必要とする。fibrous sheathを欠損する精子は、精液所見を測定すると運動率を含めて正常な数値を呈するが、光学顕微鏡を用いて精子一匹一匹を観察すると明らかに精子尾部が細い異常な様相を呈する。今回その精子を電子顕微鏡を通じて観察し、鞭毛の外周を形成するfibrous sheathが欠損することで通常の精子と比べて鞭毛が細くなることを確認した(図1)。さらに、今後の受精卵の動態解析の前段階として精子の動きに着目して観察し、鞭毛が細くなることで途中で分断されやすくなり、鞭毛が短くなることで結果として動きに異常がでることを確認した。さらに、顕微授精をした胚をタイムラプスを用いて観察し、現状知られている通常の胚と比



べて分割に到るまでの時間を検討し、通常の胚と大きな差がないことを確認した。この研究は亀田総合病院/亀田 IVF クリニック幕張と共同で行い、上記をまとめ責任著者として Translational Andrology and Urology に報告した。

図 1：正常形態精子と比べた時の患者精子

患者精子は fibrous sheath の欠損により尾部中央部から細径化しており、正常携帯精子と比べて切断されやすいという特徴を有していた。

研究対象者の平均月経周期は 10 代から 20 代にかけ徐々に長くなり、23 歳で平均 30.7 日と最も長くなった。その後 30 代から 40 代前半にかけ徐々に短縮し、45 歳で平均 27.3 日と最も短くなり、以降は再び長くなった (図 2)。基礎体温について、卵胞期 2 の平均体温は年齢変化がなく 36.4 度でほぼ一定であった。一方、黄体期の平均体温は 10 代から 20 代後半にかけて徐々に上昇し、29 歳で 36.7 度まで上昇した後 30 代では安定し、42 歳を過ぎると下降することが分かった。また地域ごとの気候が月経周期や基礎体温へ与える影響を加味した、より厳密な検討を一般化推定方程式と呼ばれる統計手法で行い、これらの年齢変化の妥当性を確認した。ここで 23 年前は妊婦が体重管理を厳密に行うことが推奨されるようになり、日本人の出生時体重が急速に低下し始めた頃に相関することから、妊娠母体を取りまく環境の変化が成人になったあとの生殖機能に及ぼした影響をみていた可能性がある。この研究は成育医療研究センター、株式会社エムティーアイ、AMED との共同研究として、ヒト月経周期のビッグデータ解析を論文化し Obstetrics & Gynecology へ報告した。日本人女性の月経 600 万周期を解析することで、ヒト月経周期が年齢とともに変化し、また基礎体温が外部環境に影響されるという内容であり、2020 年 11 月 24 日 NHK クローズアップ現代+でも特集で大きく取り上げられ、大きな成果を残した。

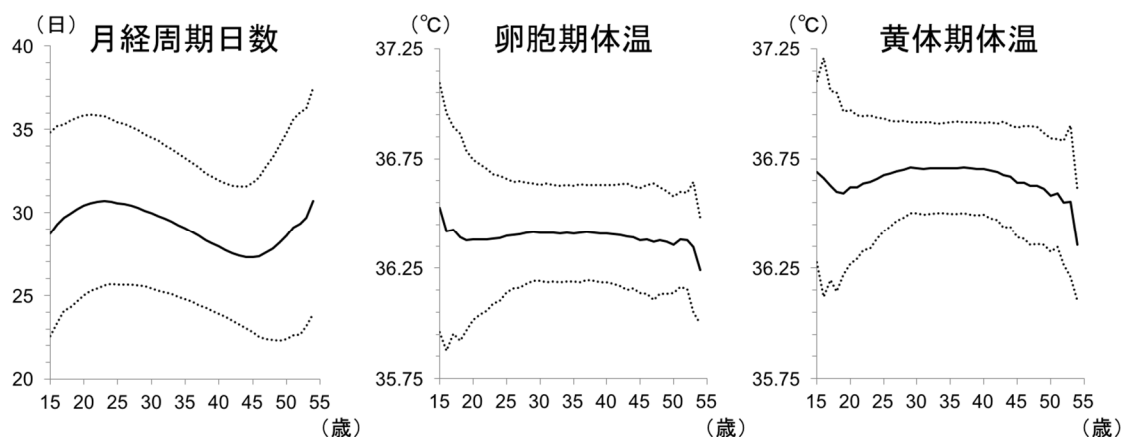


図 2：年齢による月経周期日数・卵胞期体温・黄体期体温の変化

月経周期・黄体期体温は年齢により大きな変化を示す。卵胞期体温は年齢によらず一定の値を示す。実線は 5%trim 平均、破線は標準偏差。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masato Saito, Takayuki Tatsumi, Takashi Nakasuji, Megumi Ibayashi, Tatsuya Harada, Tohru Mutoh, Chizuru Ito, Akira Komiya, Kenichiro Hiraoka ¹ , Kiyotaka Kawai	4. 巻 9
2. 論文標題 Successful pregnancy and delivery achieved following intracytoplasmic sperm injection using teratozoospermic sperm exhibiting marked dysplasia of the fibrous sheath: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Andrology and Urology	6. 最初と最後の頁 800,806
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/tau.2019.12.14	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 Tatsumi Kenichi, Tatsumi Takayuki, Uchida Takafumi, Saito Kazuki, Saito Hidekazu	4. 巻 1
2. 論文標題 New device for sperm preparation involving migration-gravity sedimentation without centrifugation compared with density-gradient centrifugation for normozoospermic intrauterine insemination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 F&S Reports	6. 最初と最後の頁 106 ~ 112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xfre.2020.06.003	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 Tatsumi Takayuki, Sampei Makiko, Saito Kazuki, Honda Yuka, Okazaki Yuka, Arata Naoko, Narumi Kanako, Morisaki Naho, Ishikawa Tomonori, Narumi Satoshi	4. 巻 136
2. 論文標題 Age-Dependent and Seasonal Changes in Menstrual Cycle Length and Body Temperature Based on Big Data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Obstetrics & Gynecology	6. 最初と最後の頁 666 ~ 674
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/AOG.00000000000003910	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 AIZAWA Ryutarō, IBAYASHI Megumi, HATAKEYAMA Tomomi, TATSUMI Takayuki, TSUKAMOTO Satoshi	4. 巻 67
2. 論文標題 Impact of short-term high-fat feeding on lipid droplet content in mouse oocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 73 ~ 77
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2020-094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki Mai, Tatsumi Takayuki, Yomogita Hiroshi, Hirose Asuka, Kubo Takuyuki, Sekiguchi Masaki, Miyasaka Naoyuki	4. 巻 47
2. 論文標題 Obstetric management of a patient with Andersen-Tawil syndrome: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 446 ~ 451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Masato Saito, Takayuki Tatsumi, Takashi Nakasuji, Megumi Ibayashi, Tatsuya Harada, Kenichiro Hiraoka, Kiyotaka Kawai
2. 発表標題 NORMAL LIVE BIRTH FOLLOWING ICSI BY USING TERATOZOOSPERMIC SPERM WITH TAIL MALFORMATION THAT BECOMING THINNER FROM THE MIDDLE TO END OF THE SPERM'S TAIL
3. 学会等名 The 9th Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction (ASPIRE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤雅人・辰巳嵩征・中筋貴史・伊林恵美・原田竜也・武藤透・伊藤千鶴・小宮顕・平岡謙一郎・川井清考
2. 発表標題 尾部構造異常を伴う精子を用いて顕微授精を行い 正常分娩に至った1例
3. 学会等名 第37回 日本受精着床学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰巳 嵩征, 齋藤 和毅, 石川 智則, 宮坂 尚幸.
2. 発表標題 ビッグデータ解析に基づく 日本人女性の月経周期・基礎体温 についての最新の知見.
3. 学会等名 第65回 日本生殖医学会 学術講演会・総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辰巳 高征, 山本 篤, 久保田 俊郎, 宮坂 尚幸, 塚本 智史.
2. 発表標題 タイムラプスを用いたマウス胚内部の脂肪滴の時空間的变化の解析.
3. 学会等名 第64回 日本生殖医学会学術講演会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰巳 高征, 山本 篤, 久保田 俊郎, 塚本 智史, 宮坂 尚幸
2. 発表標題 マウス受精卵の脂肪滴は栄養欠乏状態において胚発生に重要な役割を果たす
3. 学会等名 第44回 日本女性栄養・代謝学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Tatsumi, Kazuki Saito, Tomonori Ishikawa, Naoyuki Miyasaka
2. 発表標題 Age-Dependent and Seasonal Changes in Menstrual Cycle Length and Body Temperature Based on Big Data
3. 学会等名 第73回 日本産科・婦人科学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------