

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32701

研究種目：奨励研究

研究期間：2022～2022

課題番号：22H04268

研究課題名 哺乳類卵巣における亜鉛シグナルの機能解明

研究代表者

影山 敦子 (Kageyama, Atsuko)

麻布大学・獣医学部・非常勤職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要： これまでの研究から亜鉛輸送体遺伝子を欠損した雌マウスは7週齢までに卵巣内の卵数が減少して不妊となり、ヒトの早期卵巣機能不全と類似した表現型を示した。本研究では、哺乳類における亜鉛シグナル依存的な卵巣機能を分子レベルで明らかにし、卵巣内の卵が枯渇する原因の解明を試みた。その結果、3-7週齢のいずれの週齢においても卵巣重量・卵胞数は低下したが、3週齢では卵巣内に原始卵胞卵が多く確認された。しかし3週齢雌マウスに過剰排卵処置したが採卵できず、卵胞が過剰排卵のホルモンに反応しなかった。以上の研究結果から、亜鉛輸送体遺伝子を介した亜鉛シグナルが卵成熟過程に重要な役割をもつ可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、ヒトの不妊症は重要な社会問題であり、このような背景から実験動物や家畜の生殖細胞を用いた基礎研究は、ますます重要になっている。本研究で着目した亜鉛は必須微量元素であり、亜鉛輸送体を介することで様々な生命現象・疾患に亜鉛シグナルが関わっていることが明らかとなっている。生殖分野においても精子形成、性欲増進、妊娠の維持等多くの重要な機能に関わっていると言われていたが、その役割は未だ不明のままである。卵巣内の卵が枯渇する原因を明らかにすることで、生理学および病理学的な理解および治療に新たな展望を開くと考えられる。

研究分野：卵成熟、受精、胚発生、生殖工学

キーワード：早期卵巣機能不全 亜鉛輸送体 亜鉛イオン

1. 研究の目的

ヒト不妊症の原因には様々あるが、その中で年齢の若いうちに卵巣内の卵が枯渇することで不妊になる早期卵巣機能不全がある。これまでの研究において卵で高い発現が認められた亜鉛輸送体遺伝子を欠損した雌マウスは7週齢までに卵巣内の卵子数が減少して不妊となり、早期卵巣機能不全と類似した表現型を示すことを明らかにした。そこで本研究では、哺乳類における亜鉛シグナル依存的な卵巣機能を分子レベルで明らかにし、卵巣内の卵が枯渇する原因の解明を試みた。

2. 研究成果

(1) 亜鉛輸送体遺伝子欠損マウスにおける表現型

性成熟した亜鉛輸送体遺伝子欠損雌マウスと野生型の雄マウスを交配させて妊孕性を調べたところ、不妊であった(平均産仔数:対照区7匹 vs 欠損区0匹)。不妊となった詳細な原因を調べるために7週齢の雌マウスに過剰排卵処置をして、採卵および卵巣を回収し、卵子数および卵巣重量を測定した。その結果、欠損区ではほぼ採卵できず(対照区30個 vs 欠損区1個)、卵巣の重量が著しく低下していた。さらにヘマトキシリン・エオジン染色を用いて卵巣の形態を観察し、卵巣内の卵胞数が少ないという結果を得た。

(2) 亜鉛輸送体遺伝子欠損マウス卵巣の解析

卵胞数が減少する週齢を明らかにするために分子生物学的手法を用いて調べた。そこで3~7週齢の卵巣を採取し、卵巣重量の測定および免疫蛍光染色をおこなった。いずれの週齢においても卵巣重量は著しく低下し、卵巣内の卵胞数は減少していた。また、免疫蛍光染色の結果より、3週齢では卵巣内に原始卵胞卵が多く存在することが確認された。そこで3週齢マウスの卵巣に着目して以後の研究をおこなうこととした。

近年の研究報告で上皮に発現している亜鉛輸送体は、がん抑制遺伝子ファミリーのp63遺伝子の発現を上昇させ、アポトーシスの抑制に関与することが報告されている。また、p63遺伝子を欠損させたマウスの雌は生後1週間で卵数が急激に減少し、不妊の表現型を示すことが明らかとなっている。これらの知見を当てはめると、本研究に用いたマウスにおいて、p63遺伝子の働きには亜鉛シグナルが必要であり、亜鉛輸送体遺伝子欠損マウス卵ではp63が発現しないことで、アポトーシスが促進され、卵数が減少している可能性を考えた。そこで亜鉛輸送体遺伝子欠損雌マウス卵巣でのp63遺伝子およびアポトーシスのマーカー遺伝子の発現を免疫蛍光染色により確認した。その結果、p63遺伝子は卵で発現し、さらにアポトーシスは生じていなかった。しかし3週齢の雌マウスに過剰排卵処置したが採卵できず、卵胞が過剰排卵のホルモンに反応していなかった。

以上の研究結果から、亜鉛輸送体遺伝子を介した亜鉛シグナルがアポトーシスによる卵巣内の卵子数減少の原因ではなく、卵成熟過程に重要な役割をもつことを明らかにした。今後はより若齢個体での卵巣内の卵胞発育・休眠に関連する因子に着目して研究を進める。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Atsuko Kageyama, Ayumi Suyama, Ruka Kinoshita, Junya Ito, Naomi Kashiwazaki	4. 巻 93
2. 論文標題 Dynamic changes of intracellular zinc ion level during maturation, fertilization, activation, and development in mouse oocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Animal science journal	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13759	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 Atsuko Kageyama, Jumpei Terakawa, Junya Ito, Naomi Kashiwazaki	4. 巻 2
2. 論文標題 Roles of zinc signaling in mammalian reproduction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metallomics Research	6. 最初と最後の頁 64-71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11299/metallomicsresearch.MR202112	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 辰巳 響・松本 純奈・若桑 佑奈・杉田 陽美季・益本 葵・今田 知秀・塗井 のどか・畑 明広・影山 敦子・寺川 純平・小沢 学・山田 康広・前澤 創・伊藤 潤哉・柏崎 直巳
2. 発表標題 亜鉛トランスポーターZip6は精子を介して次世代個体への発生を制御する
3. 学会等名 第24回日本亜鉛栄養治療研究会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 益本葵・影山敦子・寺川純平・深田 俊幸・伊藤潤哉・柏崎直巳
2. 発表標題 Zip14遺伝子欠損マウスをもちいた妊娠時における肝臓の変化
3. 学会等名 第24回日本亜鉛栄養治療研究会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 影山敦子・並木貴文・寺川純平・深田俊幸・伊藤潤哉・柏崎直巳
2. 発表標題 マウス卵および胚における亜鉛トランスポーターZIP10の役割
3. 学会等名 第33回日本微量元素学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------