

氏名	とくら かつし 都 倉 隆
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	論医博第 1513 号
学位授与の日付	平成 7 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Sequential Observation of Mitochondrial Distribution in Mouse Oocytes and Embryos (マウス卵及び胚におけるミトコンドリア分布の経時的観察) (主査)
論文調査委員	教授 塩田浩平 教授 月田承一郎 教授 森 崇英

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 哺乳類初期胚は、in vivo では高率に胚発生が進行するのに対して、in vitro では stage specific な発生停止が起こることが知られている。マウスでは第一有糸分裂から第二有糸分裂にかけて発生停止が起こることから、2 cell block と呼ばれているこの 2 cell block 現象のメカニズムを明らかにすることを目的として、細胞のエネルギー代謝の中心的役割を担っているミトコンドリアに着目し、in vivo 及び in vitro で発生したマウス卵及び胚の細胞質内ミトコンドリア分布を経時的に観察し、両者を比較検討した。

【方法】 4週令の ICR 系雌マウスを PMSG (妊馬血清性性腺刺激ホルモン) 及び hCG (ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン) にて過排卵処理し、卵及び胚を hCG 投与 1 時間前より投与後 54 時間までの間、経時的に回収した。回収した卵及び胚をミトコンドリアに特異的に取り込まれる蛍光色素である Rhodamine 123 (10 µg/ml) にて、37°C、15 分間で生体染色し、細胞質内ミトコンドリア分布を蛍光顕微鏡にて観察した。また、hCG 投与 17 時間後に回収し、BWW 液を用い 37°C、5% CO₂ in air の条件で培養した胚についても同様にその細胞質内ミトコンドリア分布を経時的に観察した。さらに、hCG 投与 17 時間後に回収し、Superoxide Dismutase (SOD) あるいは Thioredoxin (TRX) を添加した BWW 液で培養した胚についても同様の検討を行った。

【結果】 卵及び胚の細胞質内におけるミトコンドリアの分布形態は次の 3 型に分類できた。すなわち細胞質内に均等に分布する Homogeneous (H) pattern, 核周辺への集中がみられる Perinuclear accumulation (PA) pattern, 及び細胞質内での凝集が著明な Aggregation (Agg) pattern であった。in vivo から回収直後の卵及び胚においては、ミトコンドリアの分布形態は hCG 投与前は H pattern, hCG 投与 8~9 時間後は PA pattern, hCG 投与 10~14 時間後は再び H pattern, hCG 投与 24 及び 31~32 時間後は再び PA pattern を示した。2 細胞期では、hCG 投与 35 時間後で Agg pattern, hCG 投与 40 時間後で H pattern, hCG 投与 48 時間後で PA pattern を示した。一方、in vitro で培養された胚においては、hCG 投与 35 時間後で Agg pattern を示したまま、それ以降ミトコンドリアの分布形態の変化は認められなかった。しかし SOD や TRX を添加した培養液で培養された胚においては、hCG 投与 35 時間後も in vivo 胚と同

様の分布形態の変化が認められた。

【結論】 マウス卵及び胚において、ミトコンドリアは細胞周期に依存して、細胞質内において集合離散していることが明らかとなった。in vitro で培養され、2 cell block 現象を示した胚では、ミトコンドリアが M 期の前の Agg pattern の状態のまま変化が停止していることが認められた。しかし、培養液に 2 cell block 解除効果の認められる SOD や TRX を添加した培養系では、ミトコンドリアの分布変化の停止が認められないことが明らかとなった。以上のことより、ミトコンドリアが細胞質内を移動することは、細胞分裂にとって必須であることが示唆され、ミトコンドリアの移動と胚発生停止現象が深く関連し、ミトコンドリアが集合離散することが正常に細胞分裂を繰り返すために必須であることが示された。

論文審査の結果の要旨

体内及び体外で発生したマウス卵及び胚の細胞質内 mitochondria 分布を、Rhodamine 123 を用いた蛍光染色法により経時的に観察し、以下の結果を得た。mitochondria の分布は、細胞質内での均等分布、核周辺への集中分布及び細胞質内での著明な凝集の 3 型に分類でき、体内で発生した卵及び胚では、それら 3 型が細胞周期に依存して周期的に変化していた。一方、体外培養され 2 細胞期で胚発生停止を示した胚では、mitochondria 分布は 2 細胞期早期に細胞質内で著明な凝集を示したままそれ以後の変化が認められなかった。しかし胚発生停止の解除効果が認められる Superoxide dismutase や thioredoxin を添加培養した胚においては、mitochondria の分布変化の停止が認められなかった。以上のことにより、mitochondria の移動と胚発生停止現象が深く関連し、mitochondria が集合離散することが正常に細胞分裂を行う為に必須であることが示された。

以上の研究は、哺乳類初期胚の体外における発生停止機構の解明に貢献し、生殖生理学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 7 年 3 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。