

15. マウス卵ヒト精子顕微注入による活性化試験 (MOAT: Mouse Oocyte Activation Test) 時の受精後オートファジーへの影響について

埼玉医療センター リプロダクションセンター
吉川直希, 山本 篤, 杉本公平, 岡田 弘

【目的】オートファジーは栄養飢餓などの条件下で活性化される細胞内のタンパク質分解機構であり, 細胞の品質管理や病原体の除去など様々な役割を担っている. また生殖領域においても受精後3時間でオートファジーは誘導され, 胚の発生に必須の働きを担っている. 一方, 男性不妊領域でMOAT (Mouse Oocyte Activation Test) と呼ばれるマウス卵にヒト精子を顕微授精させ卵子の活性化能力 (胚発生能力) をみる精子機能検査がある. 受精後に誘導される機構の一つにオートファジーの活性化があるが, MOAT 時の研究報告はない. この為, 異種精子注入に伴うオートファジー誘導への影響を見るため研究を行った.

【方法】8-10 週齢マウスを過排卵させ, MII 卵を回収し, ヒトまたはマウス精子を1個または2個, 顕微授精させ5時間後に4% PFA で固定した. オートファゴソーム膜上に局在する microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (LC3) の免疫染色を行い, 蛍光顕微鏡下に観察を行った.

【結果】MOAT 時にも LC3 ドットが確認できた. マウス精子注入の胚と比較して, MOAT 胚における LC3 ドット数は有意に多かった. またヒト精子の1個および2個受精の胚の比較では, LC3 ドット数に有意差はみられなかったが, 2個受精の胚における LC3 ドットが大きかった.

【考察】MOAT 時にオートファジーが強く誘導された原因として, 異種由来のタンパク質を排除する反応が強く生じた可能性や, ヒト精子中にオートファジー誘導因子が多く含有している可能性が考えられた. 一方で, ヒト精子2個受精の胚では LC3 ドットが大きくなり, 除去すべき異常たんぱく質量に差がある可能性が考えられた. 今後はオートファジーの活性に関して定量的に評価することでさらに検証を行う必要がある.

【結論】MOAT 法において, オートファジー活性の個人差を評価することが新たな精子機能の発展につながる可能性がある.

16. 幼若期ラットへの反復揺さぶり刺激は一過性の微小脳出血および発達後の不安様行動を起こす

¹⁾ 精神神経医学

²⁾ 解剖学 (組織)

³⁾ 生理学 (生体制御)

川俣安史¹⁾, 江原鮎香²⁾, 山口 剛²⁾, 瀬尾芳輝³⁾, 下田和孝¹⁾, 上田秀一²⁾

【背景】乳幼児揺さぶられ症候群は激しい揺さぶりによって惹起される. 既存のモデル動物は血腫が巨大で死亡率も高く, 発達後の行動変化を解析できなかった.

【目的】発達期ラットへ揺さぶり刺激を与え, 微小脳出血 (microhemorrhages: MHs) を伴う新規モデル動物を作製し, 発達後の行動を解析する.

【方法】SD 系雄ラット生後3日 (P3) から P14 に揺さぶり刺激を与えた (S 群). 揺さぶり刺激を与えなかったラットを対照群 (C 群) とした. Perls 法による鉄染色, 3, 3'-diaminobenzamide (DAB) および rat endothelial cell antigen 1 (RECA-1) 抗体を用いた単染色および2重免疫組織化学染色を行った. S 群ラットにMRI装置を用いて磁化率強調画像を撮像した. S 群およびC 群 P70 のラットにオープンフィールド試験による行動解析を行った.

【結果】DAB 染色では S 群に MHs を認め, 特に海馬, 前頭前皮質を含む大脳皮質に高頻度で観察された. RECA-1 と DAB の2重染色により赤血球の毛細血管からの漏出を認めた. 磁化率強調画像では, S 群ラットの P4 に MHs の低信号を認めるが, 経時的に低信号は回復した. この時期以降にも鉄染色では MHs 周囲での鉄取り込み細胞を含む染色像が観察された. P35 以降では出血像は認めず, この出血は一過性であることが確認された. オープンフィールド試験では, S 群の水平活動および垂直活動は C 群と比較して有意に減少し, 発達後の不安様行動を認めた.

【考察】幼若期ラットへの揺さぶり刺激によって, 発達後に不安様行動が認められた. 不安およびストレス反応に関係する海馬および前頭前皮質に MHs が多く存在することから, 一過性に出現する MHs が発達後の不安様行動に関係する可能性が示唆された.

【結論】被虐待児の精神症状の解析に本モデル動物が有用であると考えられた.