

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

## 助成研究成果概要報告書

|                                 |               |           |
|---------------------------------|---------------|-----------|
| 教育機関名 : 富山大学                    | 助成金額 : 750 千円 |           |
| 研究代表者 : 小池 誠一                   | 所属 : 学術研究部工学系 | 職位 : 特命助教 |
| 研究題目 : ラマン分光法を用いた加齢 卵子の質低下の原因解明 |               |           |

## 研究概要

加齢とともに妊娠成功率が下がるため、妊娠を望む女性の高齢化が進む我が国では、不妊症に苦しむカップルが増え続けている。これまでの研究から、加齢による妊娠率低下には、卵子の“質”の低下が関係することが分かっている。しかし、この“質”が科学的に何を意味するのかは明らかになっていない。申請者は、これまで細胞生物学研究を行ってきており、その知識や経験を卵子の“質”の解明のために活かせるのではないかと考え、本研究を開始した。

生化学的アプローチは大量の材料（卵子）を必要とするため、私たちは少数の卵子で非侵襲的に解析ができるラマン分光法を取り入れた。そして、加齢によってシトクロム C、リン酸、脂質に帰属するラマンスペクトルが変化していることを見いだした。この発見により、ラマン分光法を用いることで非侵襲に卵質を評価することが可能になり、体外受精の成功率向上に寄与できる可能性が示唆された。しかし、たとえ卵子の質を正確に評価できても、その結果、全ての卵子の状態が悪かった場合、現在の生殖補助技術では不術がない。そのため、高齢女性での不妊問題を解決するためには、加齢卵子の卵質を改善することが必要である。そこで本研究では、加齢による妊娠率の低下の原因を明らかにすることによって、ヒトにも応用可能な加齢卵子の「質」を改善させる新しい方法を確立したいと考え、本研究を提案した。

## 成果要約

本研究ではまず、ラマン分光法を用いた解析から得られた、加齢卵子でシトクロム C に帰属するラマンスペクトルが増強している原因について検討した。シトクロム C タンパク質発現量を調べたが若齢卵子と加齢卵子で大きな変化は見られなかった。次に他グループが、「還元型」シトクロム C は「酸化型」シトクロム C に比べて高いラマンシグナルを示すことを報告していたことから、加齢卵子では「還元型」シトクロム C が増加しているのではないかと考えた。そこで、シトクロム C の酸化を担う呼吸鎖複合体 IV の特異的阻害剤 (KCN) を若齢卵子に投与したところ、加齢卵子と同様のラマンスペクトル変化を示したことから、加齢卵子では、呼吸鎖複合体 IV の機能が低下し、「還元型」シトクロム C が異常に増加していることが示唆された。ここで興味深いこととして、ミトコンドリア呼吸鎖の機能阻害によって、脂質分子由来のスペクトルも加齢卵子同様に増加していた。この結果から、加齢卵子で見られた脂質分子由来のスペクトル増加はミトコンドリア機能低下と深い関わりがあることが判明した。これらの結果から、加齢卵子では、ミトコンドリア機能の低下し、ミトコンドリアの主なエネルギー源である脂質が細胞質中に蓄積してしまっていることが考えられた。

最後に実際に、加齢卵子でミトコンドリア呼吸鎖の機能が低下しているのかを調べた。まず加齢卵子では若齢卵子に比べて優位に卵子内の ATP 量が減少していることがわかった。更にミトコンドリアの膜電位も加齢卵子で低下していることが明らかにすることができた。これらの結果から、加齢に伴って卵子では、ミトコンドリア呼吸鎖の機能が低下していることがわかった。

今後は、ミトコンドリアを再活性化することで、卵子の若返りを目指して研究を行う予定である。

|                      |   |  |  |
|----------------------|---|--|--|
| <p>研究成果<br/>発表状況</p> | <p><b>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</b></p> <p>第 43 回日本レーザー学会学術講演会（2023.1.18-20） 「ラマン分光法を用いた<br/>卵子の老化のメカニズム解析」出相貴史、小池誠一、朝岡竜士、片桐崇史、大嶋佑介<br/><br/>(口頭発表)</p>   |  |  |
| <p>経費の<br/>執行状況</p>  | <p style="text-align: center;">区 分</p> <p><b>【物品費】</b><br/>           生化学試薬<br/>           ミトコンドリア阻害剤<br/>           抗体<br/>           過排卵用ホルモン<br/>           ATP 測定キット<br/>           ミトコンドリア活性測定キット</p> <p><b>【旅費】</b><br/>           出張（東京医科歯科大学）<br/>           出張（生理学研究所）</p> <p><b>【謝金】</b></p> <p><b>【その他】</b></p> <p style="text-align: right;">合計</p> | <p style="text-align: center;">執行額（円）</p> <p>35 万円<br/>           15 万円<br/>           8 万円<br/>           5 万円<br/>           3 万円<br/>           3 万円</p> <p>3 万円<br/>           3 万円</p> <p>75 万円</p> | <p style="text-align: center;">備 考</p> |