

論文内容要旨

論文題目

加齢卵における小胞体ストレスとミトコンドリア機能の関係

責任講座：産婦人科講座

氏 名：中村 文洋

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景・目的】出産年齢の上昇は妊娠率の低下や治療周期の増加を招く要因の一つであり、その主要因として卵の加齢に伴う質の低下が挙げられる。卵の質の低下は、酸化ストレス、染色体異常、DNA 修復機構の異常、ミトコンドリアおよび小胞体機能の低下と関連しており、これらのメカニズムの解明と治療法の開発が重要課題となっている。従来の研究では、小胞体またはミトコンドリアを単独で標的とする介入が行われてきたが、胚の質を十分に改善することはできなかった。本研究では、小胞体とミトコンドリアの機能的関連を標的とし、その改善が加齢卵の胚発育に与える影響を検討することで、胚発育の改善が得られるかを明らかにすることを目的とした。

【方法】本研究では、排卵直後に採取した「新鮮卵」の他、「排卵後加齢卵モデル」により採取した「排卵後加齢卵」を用い、これを実際の加齢卵と同等に扱って研究を行った。新鮮卵には、小胞体ストレス誘導薬 Thapsigargin($5\ \mu\text{M}$)またはミトコンドリア機能低下薬 CCCP($15\ \mu\text{M}$)を投与し、それぞれ小胞体ストレス (GRP78 発現) とミトコンドリア機能 (MitoSOX[®]発現) を評価した。排卵後加齢卵には、小胞体ストレス制御薬 Salubrinal ($5\ \mu\text{M}$)、ミトコンドリア機能改善薬 5-ALA ($10\ \mu\text{M}$) とその両者を投与し、GRP78 発現と MitoSOX[®]発現、胚盤胞到達率、死細胞率 (TUNEL 陽性細胞率) を評価した。

【結果】新鮮卵では、GRP78 発現が CCCP 投与で 1.58 倍、MitoSOX[®]発現が Thapsigargin 投与で 1.25 倍と有意に増強し、小胞体とミトコンドリアの機能的関連が示唆された。一方、排卵後加齢卵では、Salubrinal または 5-ALA の投与により GRP78 発現や MitoSOX[®]発現に有意な改善は見られず、両者の併用投与でも相加効果は確認されなかった。胚盤胞到達率は、排卵後加齢卵で 43.5%に対し、Salubrinal 投与で 47.2%、5-ALA 投与で 48.3%、両者の併用投与では 48.6%と改善が見られたが、併用による相加効果は認められなかった。死細胞率も、排卵後加齢卵の 46.1%に比べて Salubrinal 投与で 18.8%、5-ALA 投与で 23.3%、両者の併用投与では 20.4%と有意に低下したが、相加効果は確認されなかった。しかし、単剤投与でも胚発育の改善が示唆された。

【結論】本研究では、卵における小胞体とミトコンドリアの機能的関連の存在を初めて明らかにした。排卵後加齢卵では、小胞体ストレス制御薬 (Salubrinal $5\ \mu\text{M}$) またはミトコンドリア機能改善薬 (5-ALA $10\ \mu\text{M}$) の使用により、両者の機能的関連は認められなかったものの、単剤であっても胚盤胞到達率の向上と死細胞率の低下に寄与することが示された。この結果は、高齢患者における生殖補助医療の臨床成績を向上させる新たな治療戦略の可能性を示唆している。

2024 年 12 月 12 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：中村 文洋

論文題目：加齢卵における小胞体ストレスとミトコンドリア機能の関係

審査委員：主審査委員

川岸 久太郎

副審査委員

渡辺昌文

副審査委員

後藤 薫

審査終了日： 2024 年 12 月 12 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

現在、不妊治療を受ける患者の増加と高齢化が進んでいるが、この主な原因は加齢に伴い「卵の質の低下」が起こっていると考えられている。「卵の質の低下」とは、酸化ストレスによる染色体異常、DNA 修復機構の異常、小胞体及びミトコンドリア機能の低下が起こっている状態と考えられている。従来の「卵の質の低下」に対する治療の基礎研究では、小胞体またはミトコンドリア単独を標的とした研究が行われていたが、両方の細胞小器官を標的とした研究は行われていなかった。

このため、筆者らはマウスで排卵直後に採取した「新鮮卵」を用いて、小胞体ストレス誘導薬又はミトコンドリア機能低下薬を使用し新鮮卵を培養する機能障害実験を行い、それぞれ小胞体とミトコンドリアにどのような影響を与えるかの実験を行った。加えて、加齢卵のモデルである「排卵後加齢卵」を使用し、小胞体ストレス制御薬単剤、ミトコンドリア機能改善薬単剤、または両剤同時に投与して培養する機能回復実験を行い、胚盤胞到達率や細胞分裂時の細胞死の割合を検討した。

「新鮮卵」を用いた機能障害実験では、小胞体ストレス誘導薬又はミトコンドリア機能低下薬を投与した場合にはどちらも有意に小胞体ストレス増加とミトコンドリア機能低下が認められた。また、「排卵後加齢卵」を用いた機能回復実験では、小胞体ストレス制御薬またはミトコンドリア機能改善薬を投与した場合にはそれぞれ小胞体ストレスとミトコンドリア機能のみが改善し、両剤を同時投与しても単剤投与以上の相加効果は認めなかった。また、小胞体ストレス制御薬単剤、ミトコンドリア機能改善薬単剤、両剤同時投与の全ての群で、対照群に比べて胚盤胞まで成長する割合が有意に増加し、細胞分裂時の細胞死の起こる率が有意に低下していた。なお、薬剤の単剤投与群、または同時投与群のそれぞれの群間による有意差は認められなかった。

本研究は、「新鮮卵」においては小胞体ストレス増加とミトコンドリアの機能障害が関連して起こることを明らかにした。一方、「排卵後加齢卵」においては小胞体とミトコンドリアの機能回復に関連は認められず、小胞体ストレス制御薬またはミトコンドリア機能改善薬を投与した場合、機能が改善するが、両剤を同時に投与しても、単剤投与時以上の効果は認められないことを明らかにした。このため、新鮮卵と排卵後加齢卵では小胞体とミトコンドリアの機能的関連が異なる可能性が示唆された。

本研究のテーマである卵における小胞体とミトコンドリアの機能的関連についての研究並びに加齢卵における両細胞小器官への薬剤投与による機能改善に関する研究は新規性も高く、臨床応用にも直結するテーマで社会的意義も高いと評価された。審査会で指摘された、用語の定義と研究結果の解釈について一部再考、修正することが可能であれば、本研究論文は博士（医学）の学位授与に値すると判定した。

(1190 文字/1200 字以内)