

# 論文審査の結果の要旨

氏名 泉水 奏

本論文は4部からなり、第1部ではホヤ卵減数分裂開始及び停止に関わる因子について研究を行っている。多くの動物種では、受精可能な卵は減数分裂の様々な段階で分裂を停止しており、受精によって減数分裂を再開する。第2減数分裂の中期で分裂を停止している両生類、哺乳類で研究が進められており、分裂停止因子、減数分裂再開因子が知られているが中期以外で減数分裂を停止している動物種については停止-再開機構は明らかでない。第一部では、第1減数分裂中期(MI)で停止しているホヤ(ユウレイボヤ、スジキボヤ)で、ポリビニルアルコールを用いた細胞融合法を開発し、減数分裂を停止している未受精卵と、減数分裂進行中の受精卵または割球とを融合させたところ、受精卵側の減数分裂および割球側の体細胞分裂の進行は抑えられなかった。一方、未受精卵側では減数分裂が再開した。これらのことから、ホヤ卵では分裂停止因子は存在しないであろう事、また他の動物種と同様に、受精後に分裂開始因子が新生されると結論されている。この減数分裂再開因子の候補として $Ca^{2+}$ が考えられた。第2部では受精時の卵内 $Ca^{2+}$ 濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )の変動を調べ、媒精直後、大きな $[Ca^{2+}]_i$ の一過性の上昇(Phase I)が卵形の変化と卵細胞質の再配置の時期に出現し、引き続き、小さな数回の $[Ca^{2+}]_i$ の上下動(Phase II)が見られ、第一極体放出後、10回程度の $[Ca^{2+}]_i$ のPhase IIIが起こりその後、第二極体が放出され減数分裂が完了する事を見いだしている。一方、卵に $Ca^{2+}$ キレート試薬を注入すると、受精時における $[Ca^{2+}]_i$ の上昇、卵形変化、極体形成が抑えられ、逆に、 $Ca^{2+}$ を注入し未受精卵の $[Ca^{2+}]_i$ を上昇させると、 $[Ca^{2+}]_i$ 濃度に応じて卵変形極体形成が段階的に引き起こされた。このことから、受精時に起こる卵形変化、減数分裂の各進行過程はそれぞれ異なった濃度の $[Ca^{2+}]_i$ が必要であると結論している。第3部ではこの受精時における卵活性化に関与する $Ca^{2+}$ 変動の役割とその発生機構を膜胞系チャンネルの抗体、作動薬、拮抗薬を用い調べている。未受精卵への $IP_3$ の注入はPhase I-II様の $[Ca^{2+}]_i$ 変動、卵形変化、第一、第二極体の放出を起こし減数分裂が終了した。一方、 $IP_3$ 受容体の作動薬は未受精卵に $[Ca^{2+}]_i$ の振動を引き起こし、受容体の拮抗薬、及 $1IP_3$ 受容体の抗体は受精時Phase I-IIは抑えないが、Phase IIIは抑制している。さらに、 $IP_3$ 以外の細胞内 $Ca^{2+}$ 放出機構の関与については、リアノジン受容体拮抗薬、作動薬は未受精卵及び受精卵の $[Ca^{2+}]_i$ の動態、受精後の卵形態変化、卵割にも影響がない。以上から受精時の $[Ca^{2+}]_i$ の変動は $IP_3$ 誘導性 $Ca^{2+}$ 放出による

ものであり、 $\text{Ca}^{2+}$ 誘導性  $\text{Ca}^{2+}$ 放出機構の関与は薄いこと、さらに Phase I-II の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の振動と、Phase III のは、異なる機構により引き起こされると結論されている。第 4 部では受精時の卵活性化における GTP 結合蛋白質(G タンパク質)の役割について調べている。G タンパク質の拮抗薬 GDP- $\beta$ -s は受精時の Phase I-II に影響を及ぼさないことから、受精時の  $\text{IP}_3$  誘導性  $\text{Ca}^{2+}$ 放出による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  変動は G タンパク質非依存的 PLC ( $\text{IP}_3$  産生酵素)の関与のもとで起こる。一方、GDP- $\beta$ -s は卵胞表層のアクチン繊維の分布を乱し、卵形変化を抑制し、GTP- $\gamma$ -s は卵胞表層のアクチン繊維の増強と異常な卵変形を引き起こすことから  $\text{Ca}^{2+}$  下流でアクチン系が関与している卵形変化に G タンパク質が関与していると考えている。更に GDP- $\beta$ -s は Phase III の大幅なパターンの乱れを生じさせ、減数分裂の進行も抑制する。一方、GTP- $\gamma$ -s は異常なパターンの  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  変動を引き起こすが、減数分裂の進行を引き起こさない事が明らかとなった。従って、減数分裂の進行には何らかのパターンの  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  変動が必要でありそれに G タンパクが関与していると考えられた。

以上、第 1—4 部ではホヤ卵における受精とそれに伴う減数分裂の開始における詳細な分子機構の研究がおこなわれ、第一減数分裂中期で停止している特徴的なホヤでは、減数分裂停止因子の関与は少ない事を明らかにしている。さらに、卵受精時の卵活性化における減数分裂再開と進行、完了及び卵形態変化には、 $\text{IP}_3$  による膜胞系からの  $\text{Ca}^{2+}$ の放出による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の変動起点とした、G-タンパク質、細胞骨格系が重要な役割を果たしている細胞内情報伝達機構が関与している事が明らかにされている。

なお、本論文第 1 章は石川 優、森澤正昭、第 2 章は森澤正昭、第 3 章は吉田 学、井上貴文、御子柴克彦、森澤 正昭、第 4 章は吉田 学、森澤 正昭との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。