

論文内容の要旨

申請者氏名 吉井 悠華

多くの生物において、成熟卵は、ミトコンドリアの活性が低下しており、代謝的に休止状態にある。ミトコンドリアの活性の低下は、細胞毒性を抑制する意義がある。一方で、成熟卵の活性化は、低代謝状態で進行する必要があると考えられる。そのため、成熟卵において、特異的な代謝特性が機能していると考えられる。しかしながら、成熟卵における代謝特性や代謝恒常性の破綻が引き起こす異常について、不明な点が多い。本研究では、モデル生物としてキイロショウジョウバエを用いて、成熟卵から胚への移行過程における代謝動態を明らかにすることを目的とした。

まず、卵形成から胚発生までの一連の過程を通してのメタボローム解析を行った。その結果、各成長段階の代謝特性は異なること、成熟卵の代謝特性に解糖系が寄与していることを見出した。そこで解糖系に着目し、生殖細胞系列特異的な遺伝学的解析を行った。その結果、解糖系代謝酵素の発現を抑制すると、初期胚において異常が生じることを明らかにした。また、極体構造に異常が生じていたことから、解糖系代謝酵素の発現抑制個体において、減数分裂の進行に異常が生じている可能性が考えられた。一方、解糖系代謝酵素の発現を抑制しても、成熟卵における染色体構造は正常であった。以上の結果から、解糖系は卵活性化期の減数分裂の進行に、必須の役割を果たしていることが示唆された。

哺乳類の血液中の糖はグルコースであるが、ショウジョウバエ体液中の主な糖は二糖トレハロースであり、グルコースの前駆体として機能している。トレハロース合成酵素 (*Tps1*) および分解酵素を遺伝子操作することによって、直接的にグルコース恒常性の破綻を引き起こすことができる。そこで血糖トレハロース代謝酵素の変異体を解析し、血糖代謝の機能破綻時においても、卵活性化期の減数分裂進行に異常が生じることを明らかにした。また、ショウジョウバエの成熟卵は、培養条件下で低浸透圧処理することで、人為的に卵活性化を誘導できる。*Tps1* 変異体の卵母細胞を、生理的な濃度のトレハロース及びグルコースを添加した培養液で活性化させると、表現型の回復が観察された。よって、*Tps1* 変異体で観察される減数分裂の異常は、糖の不足によって生じていることが示唆された。さらに、野生型と *Tps1* 変異体の比較メタボローム解析を行った結果、血糖代謝はエネルギー産生以外にも、アミノ酸代謝や解糖系に派生する代謝恒常性に寄与している可能性が示された。

今回の研究により、成熟卵の代謝特性に解糖系が寄与していること、解糖系は卵活性化期の減数分裂の進行に特異的な役割を果たしていること、血糖代謝も卵活性化期の減数分裂の進行に寄与していること、血糖代謝はエネルギー代謝だけでなくアミノ酸代謝など広範な代謝経路に関与すること、の4点が示された。

☐ やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 吉井 悠華

多細胞生物の成熟卵は、一般に減数分裂が途中まで進行した状態で代謝的に休止状態に入る。精子の貫入や排卵などの刺激により、カルシウム波に起因するシグナル伝達経路により、細胞周期の再進行やミトコンドリアの再活性化が起こる。これら卵活性化のプロセスが正常に進行するかどうかは、その後の胚発生に強い影響を及ぼす。しかしながら、休止状態にある成熟卵および卵活性化に関わる代謝恒常性には不明な点が残されていた。哺乳類の未成熟卵生体外培養においても、適切な糖濃度の重要性が古くから知られており、卵子の質に関わることが知られている。哺乳類の卵母細胞における糖代謝の役割は、エネルギー産生や酸化還元に焦点を当てて議論されており、エネルギー産生以外の役割については不明であった。また、母体の血糖代謝が卵母細胞の代謝恒常性にどのように影響しているのかについても不明であった。申請者は、モデル生物として遺伝学的解析が優れたキイロショウジョウバエを用いて、卵母細胞の代謝特性とその生理的意義の理解を試みた。

まず申請者は、水溶性代謝物に着目した網羅的なメタボローム解析を実施し、成熟卵に特異的な代謝特性の理解を試みた。これまで断片的にしか理解されてこれなかった代謝動態について、卵形成から胚発生までの一連の過程におけるデータを取得することで、解糖系の代謝物が成熟卵で一過的に上昇することを明らかにした。さらに、遺伝学的な解析により、解糖系酵素の発現を抑制すると、初期胚で異常が生じて胚致死になることを見いだした。極体構造や体細胞分裂の核数の異常などから、解糖系が卵活性化の進行に関わることが示唆された。重要な点として、成熟卵の形態や染色体構造に顕著な異常が観察されなかったことより、解糖系の機能を阻害しても、時期特異的な限定的な異常しか生じないことが明らかになった。

さらに、ショウジョウバエの糖恒常性に関わるトレハロース代謝に着目し、トレハロース代謝の機能欠損により生じる表現型解析を行った。その結果、解糖系の機能阻害と同様の表現型を示すことを確認した。さらに、トレハロース代謝の機能欠損が、どのような代謝恒常性の異常を引き起こしているかを理解するために、メタボローム解析を実施した。その結果、予想に反してエネルギー代謝に顕著な変動は観察されなかったものの、特定のアミノ酸や代謝物の変動を明らかにした。これらの結果は、母体の血糖代謝は、エネルギー代謝だけでなくアミノ酸代謝など広範な代謝恒常性にも寄与している可能性を示唆している。

以上のように、本論文は成熟卵の活性化における代謝特性を理解するうえで重要な基礎生物学的知見を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。

☐ やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】