

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2009.03) 9巻1号:46～48.

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題
2)精子運動時のエネルギー代謝の多様性と普遍性の解析

春見達郎

2) 精子運動時のエネルギー代謝の多様性と普遍性の解析

研究代表者 春見 達郎

精子は種の保存のため、卵との受精を行うことだけに特化した細胞である。すなわち、精子に含まれる構造体は卵に供与する半数体の染色体を持つ核、運動器の鞭毛、運動エネルギーを供給するためのミトコンドリア、そして魚類以外の動物に存在する先体である。卵に向かうための鞭毛運動に必要な大量に消費される ATP を生み出すため、精子にはエネルギー基質が必要となる。一般に細胞が利用できるエネルギー基質は糖、脂質、およびアミノ酸である。ヒトも含めた哺乳類精子の場合、精漿に含まれるフルクトースなどの糖が利用されることが知られている。

一方、海産や淡水産の動物では、放出された精子は水中で希釈されるため、その遊泳に必要なエネルギー基質は自らの細胞内に求めなければならない。これまで、魚類精子の遊泳時のエネルギー代謝はほとんど明らかになっていなかった。本研究では、独立行政法人水産総合研究センター北海道区水産研究所およびハワイ大学柳町隆造博士の協力を得て、春に産卵期を迎える魚種 3 種（ニシン、クロガレイ、マツカワ）の精子の遊泳時のエネルギー代謝を解析した。

各魚種の精巢から精子を採取し、海水に懸濁し遊泳させ、精子遊泳前後の ATP およびグルコース（グリコーゲン）含有量、ビデオ撮影による精子運動性の解析、そして密閉型酸素電極を用いて精子呼吸活性の測定を行った。運動性の解析の結果、ニシン精子は海水に懸濁しても遊泳を開始せず、ニシン卵を海水中に懸濁し、その外被物質を溶け込ませた「卵処理海水」で遊泳を開始した。一方、クロガレイとマツカワ精子は、海水に懸濁するとすぐに活発な遊泳を開始したが、前者の精子はほぼ 1 分以内に運動を止め、後者の精子は 5 分以上遊泳を続けていた（図 1）。この時、精子の ATP 含有量は、クロガレイ精子では遊泳開始後約 5 分で枯渇していたのに対して、マツカワ精子では遊泳

開始後30分でも約40%のATP量を保持していた。ニシン精子は遊泳前後ともに精子内にATPがほとんど存在しなかった。

各精子の呼吸活性を調べたところ、ニシンおよびマツカワ精子では遊泳時、活発な呼吸が認められたのに対して、クロガレイ精子では遊泳時に呼吸活性は認められなかった(図2)。また、遊泳前後の精子グリコーゲン含有量を計測したところ、ニシン、クロガレイ精子ともにグリコーゲンを含有していなかったのに対して、マツカワ精子では遊泳前、高いグリコーゲン含有量を示し、30分の遊泳後でも約40%のグリコーゲンを保持していた(図3)。

さらに、精子の遊泳運動に対する、各種エネルギー代謝阻害剤の効果を調べた。解糖系阻害剤としてヨード酢酸(IAA)を、ミトコンドリア(呼吸)阻害剤としてAntimycin AとCCCPを用いた。ミトコンドリア阻害剤は、ニシン精子の呼吸も遊泳運動を阻害した(図4、表1)。一方、海水に懸濁しても呼吸活性を示さなかったクロガレイ精子(図2)の運動性にミトコンドリア阻害剤は効果を示さなかった(表1)。マツカワ精子にAntimycin Aを加えると、呼吸活性には強い阻害効果を示したが(図4)、精子の遊泳運動には阻害効果を示さなかった(表1)。

以上の結果をまとめると、精子の遊泳にはATPが必ず必要であることには間違いは無いが、遊泳時のエネルギー代謝は魚種によって非常に大きな多様性があることが明らかになった(結論)。すなわち、精子遊泳時にミトコンドリアが働いてATPが産生されることが必須な種(ニシン)、精子遊泳時にミトコンドリアがほとんど機能しておらず(呼吸せず)精子内に貯蔵しているATPを利用する種(クロガレイ)、精子遊泳時には内在性のグリコーゲンを消費しミトコンドリアが働いてATPを産生しているにもかかわらず、精子鞭毛運動には遊泳前の精子内に貯蔵しているATPを利用している種(マツカワ)、が存在する。

本助成による研究成果は41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction(2008年5月、米国コナ市)にて以下の演題で発表された。T. Harumi *et al.*, "Diversity of Motility in Fish Spermatozoa Depends on Distinct Energy Metabolism"

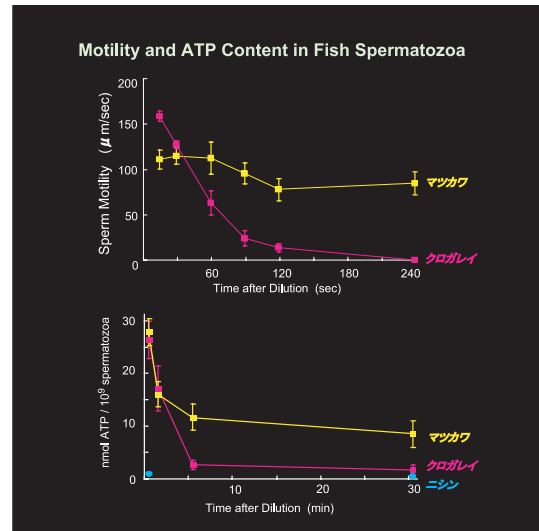


図1

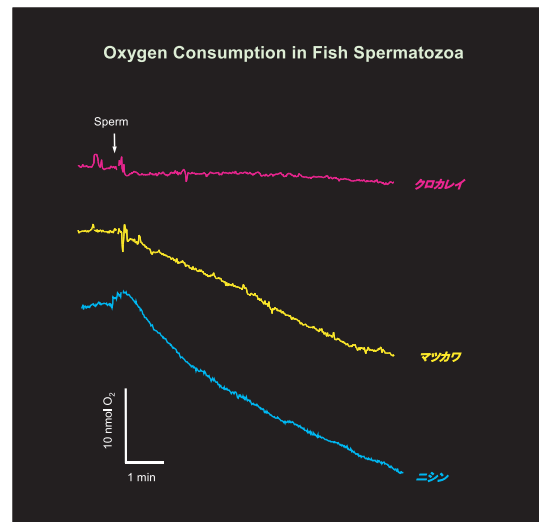


図2

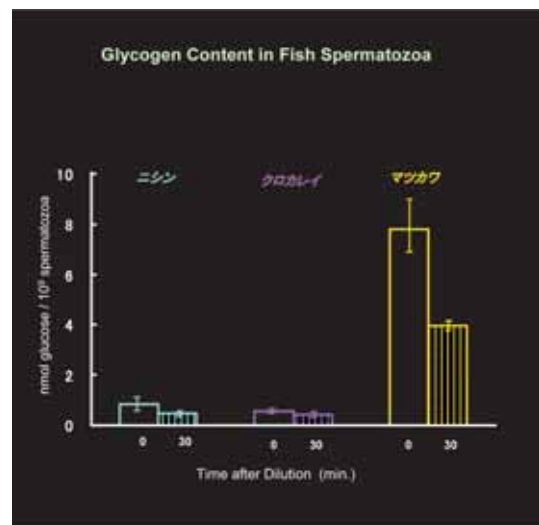


図3

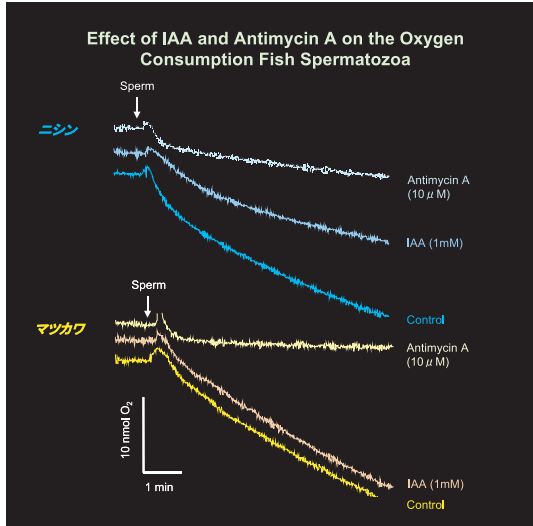


図 4

	Control	IAA	Antimycin A	CCCP
	ASW	100 μM	10 μM	100 μM
ニシン	+++	+++	+	+
クロダイ	++	++	+++	+
マツカワ	++	+++	+	++

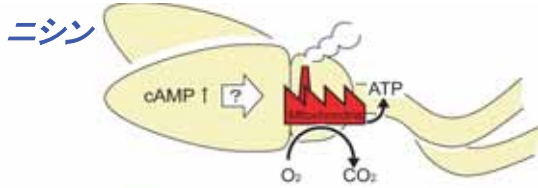
+++ : ほとんどの精子が活発に遊泳する
 ++ : 僅かな数の精子が遊泳する
 + : 精子の遊泳は認められないが、頭部や尾部が震動している
 - : すべての精子が全く動かない

IAA, Iodoacetic Acid → 呼吸系阻害剤
 Antimycin A → ミトコンドリアの酸化還元酸化阻害剤
 CCCP, Carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone → 脱共役剤
 ASW, 人工海水
 Egg-treated SW, シン卵処理海水 (~300 eggs for 10 ml ASW)

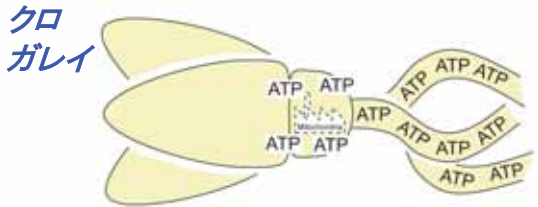
表 1

結 論

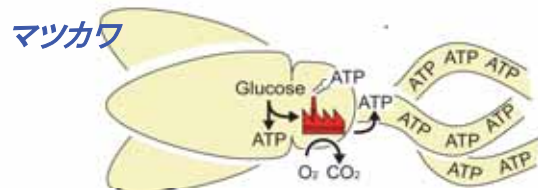
精子の運動性やエネルギー産生機構、および代謝経路は魚の種によって大きく異なっている。



遊泳前の精子にはATPがほとんど存在しない。精子遊泳時にはミトコンドリアが作り出すATPがエネルギー基質として必須である。



遊泳前の精子には十分なATPが存在する。精子遊泳時にはこれを利用し、ミトコンドリアはほとんど機能していない。



遊泳前の精子には十分なATPが存在し、精子遊泳時にはこれを利用する。精子内には解糖系やミトコンドリアによるATP産生系路が存在し、機能しているが、これらの経路は精子の運動には寄与しない。