

# AMCoR

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

旭川医科大学研究フォーラム (2015.2) 15,1:57-58.

平成24・25年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 7) 精子ミトコンドリア機能の種特異性の解析

春見 達郎

## 7) 精子ミトコンドリア機能の種特異性の解析

研究代表者 春見 達郎

### 【目的】

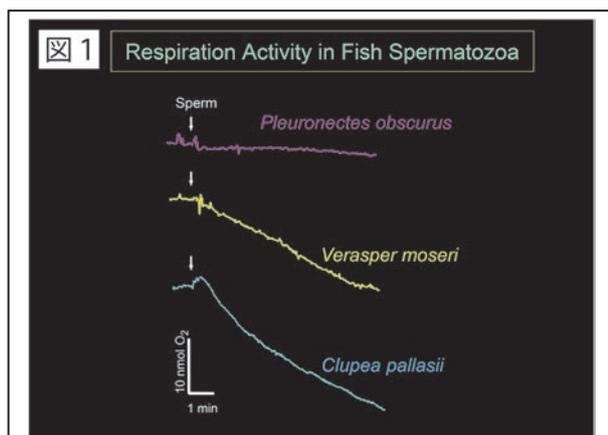
精子は、卵との受精のために運動性を持つ非常に特化した細胞である。細胞質をほとんど持たず、頭部に凝縮した核が、核の後部にはミトコンドリアを含む中片が、中片の後部には運動装置である鞭毛が、動物精子の共通の構造である。これまでの筆者らの研究結果から、ラット精子はその遊泳時に非常に高い呼吸活性を示すとともに、非常に強い活性酸素種（ROS）の消去機構を保持していることを明らかにした。これは呼吸で生じる ROS を強力に消去するためであると考えられる。一方、マウス精子は ROS に弱く、低濃度の過酸化水素処理でも精子 DNA に障害が認められることが報告されている。このように、動物種によって、精子の代謝活性に違いがあることから、精子の代謝機能を理解するためには、幅広く種々の動物を用いて、個々の動物精子の特徴を調べることが必要であると考えられる。本研究では、北海道沿岸域に生息し捕獲が容易でしかも多くの種が得られる魚類を用い、その精子の代謝機能の種特異性を解析した

### 【方法】

精子は北海道沿岸域から捕獲される海産硬骨魚類 *Pleuronectes obscurus*、*Verasper moseri*、*Clupea pallasii*、*Scomberomorus niphonius*、*Takifugu niphobles* および *Gadus macrocephalus* から採取した。精子の呼吸活性は、酸素電極を用いたオキシメーター（東亜 DKK）により、精子懸濁液中の溶存酸素濃度の変化を測定した。ROS の消去活性は、Amplex Red を用い、過酸化水素の分解活性を指標として分光光度計を用いて測定を行った。

### 【結果】

精子の呼吸活性は種により大きく異なり、*S. niphonius* や *C. pallasii* のように高い呼吸活性を示すものから、*P. obscurus* や *T. niphobles* のように呼吸活性をほとんど示さないものも存在した（図 1）。組織学的な観察からも、*C. pallasii* 精子のミトコンドリアは非常に大きく、しかも密で細かいクリステ構造が存在したのに対して、*P. obscurus* 精子ミトコンドリアは小さくクリステ構造も非常に疎であった。



|                                |                                     | Respiratin Activity          |                                |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
|                                |                                     | Low                          | High                           |
| ROS<br>Elimination<br>Activity | Low                                 | <i>Pleuronectes obscurus</i> | <i>Gadus macrocephalus</i>     |
|                                | Inhibitors<br>(Aminotriazole, PCMB) | <i>Takifugu niphobles</i>    | <i>Verasper moseri</i>         |
|                                | Sensitive                           |                              | <i>Clupea pallasii</i>         |
|                                | High                                |                              | <i>Scomberomorus niphonius</i> |
|                                | Insensitive                         |                              |                                |

精子の ROS 消去活性もまた、種により大きく異なっていた。呼吸活性と合わせて表 1 にまとめた。ROS 消去系には酵素系と非酵素系が存在し、前者の阻害剤としては 3-Amino-1,2,4-triazole が、後者の阻害剤としては p-[Chloromercurio(II)]benzoic acid (PCMB) が知られている。ROS 消去活性を持つ種であっても、*T. niphobles* や *V. moseri* のようにこれらの阻害剤でその消去活性が阻害される種や、*S. niphonius* のように阻害されない種が存在した。

【考 察】

種々の動物種精子の代謝活性を呼吸と ROS 消去活性の両面から比較した。その結果、これらの代謝活性は種ごとに大きく異なり、広く多様性が存在していることが明らかになった。これまでの筆者らのラットを用いた研究で、呼吸活性が高いことは ROS の大きな産生が生じ、その結果、高い ROS 消去活性の存在につながると考えてきた。しかしながら、今回の結果から、*S. niphonius* のように、高い呼吸活性を持ちながら低い ROS 消去活性を持つ種や、反対に、*T.*

*niphobles* のように、呼吸活性は低いのに高い ROS 消去活性を持つ種が存在することが明らかになった。これらの結果は、精子の呼吸活性と ROS 消去活性の間にはパラレルな関係が存在するのではなく、種ごとに異なる大きな多様性が存在することを示している。筆者らは、魚類の受精機構に大きな多様性があることを報告してきた<sup>1)</sup>。今回の結果は、精子の代謝機構が、受精機構の多様性と関連する可能性を示唆する結果であった。ただ、現在のところ、精子の代謝機構の多様性が何に基づくのかは明らかではない。系統的位相関係や受精環境の違いと表 2 の多様性は一致しない。個々の動物において精子の代謝機構がどのように決定され、そして受精にどのように関わっているのかは今後の課題である

【文 献】

1) Yanagimachi R, Cherr G, Matsubara T, Andoh T, Harumi T, Vines C, Pillai M, Griffin F, Matsubara H, Weatherby T, Kaneshiro K, Biol Reprod. 2013 88:47. doi: 10.1095/biolreprod.112.105072.

本助成によって得られた研究成果の一部は、12th International Symposium on Spermatology, New Castle, Australia, 2014 において Harumi, *et al* “Validation of the Role for Species Identity of Sperm Entry into Micropyle in Fish Fertilization” として発表された。