

## 研究室紹介

広島大学大学院生物圏科学研究科  
生物資源科学専攻 陸域動物生産学講座

### 生殖内分泌学分野



准教授 島田 昌之



Richards 博士が研究室へ来訪されたときのパーティーにて

はじめに

「生殖内分泌学分野」は、私が陸域動物生産学講座の准教授に昇進した2006年4月に立ち上げ、現在に至っています。それ以前は、動物生殖学研究室の助手として主に豚を対象としていましたが、現在はマウスやラットを用いた基礎研究を50%、豚を対象とした基礎および応用研究を25%、人の高度生殖補助医療への応用を目指した研究を25%の比率で10名ほどの学部4年生、大学院生とともに研究を進めています。特に、興味をもっているテーマは、卵巣機能です。卵胞発育、排卵の過程において、その時々必須の命令を受け、順序だてて遺伝子発現が起こり、整然と受精可能な成熟卵が排卵されます。私たちは、このメカニズムを解き明かすことを主眼としています。わずか4年しかたっていない若年・弱小ラボではありますが、これまでの研究成果と今後の展開(展望)、ラボの様子、これまでお世話になってきた先生方を紹介いたします。

#### ラボの立ち上げ前

私は、広島大学での博士課程前期の大学院期間、その後助手として、ブタ卵丘細胞卵子複合体の体外培養系を研究対象としていました。この時期には、卵丘細胞間のギャップジャンクションの閉鎖機構について着目し、そこにプロジェステロンが関与していることを解明したことが「内分泌学的に解析する」という研究を開始するきっかけとなりました。プロジェステロンが卵丘細胞で新規に合成されたコレステロールから作られること、それに関わる酵素の遺伝子発現が性腺刺激ホルモンにより促進されることなどの成果が得られました。この研究において、LH 単独では効果がないが、FSH のみと比較して FSH + LH 処理区で遺伝子発現が上昇するとの結果を得て、LH 受容体 (Lhcgr) の発現解析、機能解析などを行いました。この LH 受容体に関する研究について、群馬大学医学部の峰岸 敬教授にいろいろ教えていただくことができました。また、京都大学医学部名誉教授の森 崇英先生から突然、ラボへお電話をいただき、プロジェステロンの卵子成熟への役割についてのご質問をうけました。この森先生との出会いをきっかけとして、2004年12月から1年間、文部科学省海外先進教育研究実践プログラムにより、米国 Baylor College of Medicine の JoAnne S. Richards 博士の研究室に留学する機会を得ました。

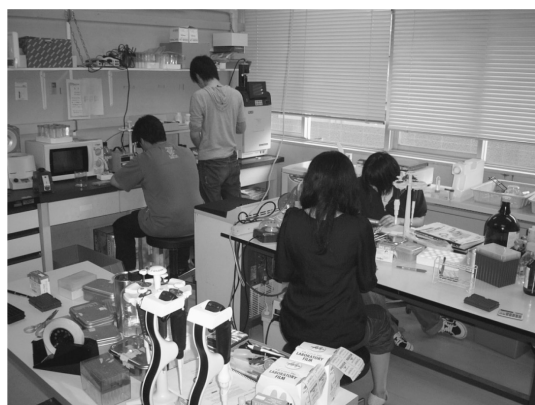
Richards 博士の研究室では、プロジェステロン受容体遺伝子欠損マウス (PRKO) やプロスタグランジン合成酵素欠損マウス (COX2KO) の顆粒膜細胞や卵丘細胞をサンプルとして、マイクロアレイ解析により排卵に

必至な遺伝子を同定するという研究に従事し、EGF like factor やエキソサイトーシスに関わる SNAP25、初期免疫機構に関わる Toll like receptor の排卵期における機能を解明することができました。1年という短い期間ではありましたが、Richards 博士から研究の進め方、考え方について多くのことを教わっただけでなく、(現) University of Montréal の Assistant Professor Derek Boerboom 博士をはじめとするポスドク仲間を得ることができたのも、実りあるものでした。現在でも Richards 博士とは、多くの遺伝子欠損マウスモデルを用いた共同研究を継続しています。

### EGF like factor に関する研究

EGF like factor は、細胞膜貫通部位を有し、細胞外部位に EGF domain とプロテアーゼによる修飾サイトをもっています。排卵期における EGF like factor の発現とその機能解析は、私たちではなく、University of California, San Francisco 校の Marco Conti 博士らにより2004年に Science 誌に発表されたものです。私たちは、その発現制御機構、作用メカニズムの解明を行ってきました。その詳細は、昨年日本生殖内分泌学会雑誌において研究フロンティアとして掲載されておりますので、ここでは簡単に紹介させていただきます。

LH 刺激を受けた顆粒膜細胞は、cAMP-PKA-CREB 依存的に EGF like factor である amphiregulin や epregrulin を発現し、それが顆粒膜細胞と卵丘細胞に発現する EGF 受容体を刺激します。この過程で、ADAM17が修飾酵素として働いていることを明らかとしました。さらに、EGF 受容体の下流には ERK1/2があり、この ERK1/2を顆粒膜細胞特異的に欠損させたマウスでは、排卵が起こらない完全不妊を呈することを、JoAnne S. Richards博士らとの共同研究により明らかとしました (Fan et al., Science, 2009)。第1著者である Heng-Yu Fan 博士



実験室の様子

とは、とても縁が深く、彼が中国科学院 (Chinese Academy of Science) の PhD コースの学生であった時の研究テーマがブタ卵子の成熟機構であり、その当時、私とともに研究していた大学院生の伊藤君 (現、麻布大学獣医学部准教授) の研究テーマとバッティングしており、お互いの論文を意識していたライバルでありました。それが、Richards 博士のラボのポスドクとなったことをきっかけとして、Fan 博士の家に泊まりに行き、奥さんに食事のときぐらい研究の話はやめなさい、といわれるぐらい、話し合える研究仲間となりました。彼は、私より2歳年下の1975年生まれですが、本年から中国最古の大学で名門の浙江大学の教授に就任しました。今後は、日中で共同研究を進めていく話し合いを進めています。

この EGF like factor に関しては、EGF 受容体には結合せず他の family である ErbB3を刺激する neuregulin の発現および機能解析も行っており、ADAM17による修飾機構は当ラボで学位を修得し、現在鳥取大学農学部獣医学科助教授の山下君が2008年度の日本生殖内分泌学会学術奨励賞を受賞し、CREBによる発現制御機構は同年の学術奨励賞候補演題に学部生だった下中さんが選ばれ、neuregulin については2009年度の学術奨励賞を大学院生の川島君が受賞することができました。この場を借りて御礼申し上げます。

### 免疫機能に関する研究

Richards 博士の研究室で行った排卵期の卵丘細胞に関するマイクロアレイ解析から、卵丘細胞はさまざまな免疫関連遺伝子を発現していることがわかりました。そのなかでサイトカイン・ケモカイン類に着目し、研究を行っています。まず、体外培養系におけるサイトカイン類の発現時期と分泌時期の違いに着目し、Ca<sup>2+</sup>により制御されるエキソサイトーシス機構を解明しました。これは、分泌顆粒に存在する synaptotagmin が、Ca<sup>2+</sup>の刺激により細胞膜状の SNAP25に結合することで起こる分泌機構で、この SNAP25がプロジェステロン受容体により発現制御されていることが明らかとなりました。このエキソサイトーシス機構は排卵期後期に機能が高まり、それにより分泌された IL-6が卵子の受精後の発生能を向上させることが示され、その重要性が明らかとなりました。さらに、受精時に多量のケモカインが分泌されていることも突き止めました。これは、卵丘細胞に発現する Toll like receptor がヒアルロン酸の分解を感知し、その刺激により CCL5などのケモカインが発現・分泌されるもので、CCL5は精子の CCR3受容体に作用し、精子の運動性を向上させていました。この SNAP25によるサ

イトカイン・ケモカイン類の分泌機構とその役割については、2007年度の日本生殖内分泌学会学術奨励賞を受賞しました。

また、この研究から、卵丘細胞における Toll like receptor の初期免疫機能への研究へと発展し、卵丘細胞は食作用により細菌を取り込み分解すること、精子にもこの初期免疫機能が存在することなど、生殖免疫分野の研究へと発展し、大学院生の岡崎君（現在、大分県農林水産センター研究員）が2009年度の日本受精着床学会において世界体外受精記念賞を受賞しました。また、兵庫医科大学名誉教授 香山浩二博士とブルガリアで開催された国際生殖免疫学シンポジウムに出席し、そこで発表する機会を得ました。この生殖内分泌と生殖免疫の視点から、大分県との共同研究により、ブタ精液中に含まれるコルチゾールが子宮環境を着床可能な状態へと変化させることを突き止め、凍結精液を用いた人工授精法の確立という思いもしなかった成果へと結びついています。

#### 高度生殖補助医療への応用を目指して

これまでのブタやマウス、ラットで得られた基礎成果を高度生殖補助医療へ応用することを目指した研究も、森 崇英先生、セント・ルカ産婦人科医院長 宇都宮隆史博士、醍醐渡辺クリニック医院長 渡辺浩彦博士、ウイメンズ・クリニック大泉学園医院長 根岸広明博士にご協力いただき、進めています。これまで、マウスにおいて EGF like factor により活性化される ERK1/2 依存的に発現する *Sult1e1* が、卵巣刺激周期のヒト顆粒膜細胞にも発現していること、*Sult1e1* によるエストロジェン

の代謝分解（排卵刺激前と後のエストロジェン量）は、卵子の成熟指標となることが明らかとなりました。また、体外受精成功症例と不成功症例では、体外受精後の培地中へのケモカイン分泌量に有意な差があることもわかっています。このように、まずは、マウスで明らかとなったモデルがヒトにおいても当てはまるかを調べ、体外成熟培養や体外受精、精子処理法、卵巣刺激法の改善に生かせるかを検討しています。これらの研究は、胚培養士として不妊治療を行っている病院に勤務している卒業生や社会人入学により博士課程後期に入学している大学院生とともに、実施しています。

#### 最後に

ラボでは、動物が与えてくれた、患者さんが提供してくださったサンプルに対して、そこから得られた結果に対して、最大限の成果が得られるように真摯に研究に取り組もう。と、学生共々ががんばっています。また、なるべく学生たちと一緒に手を動かして、生のデータに触れ、そこから得られることを基に研究を組み立てていこうと思っています。一緒にベンチワークをする時間が短くなってきましたが、なるべく学生さんたちと話をし、日常会話の中から、ふと研究のアイデアが浮かんでくるような、そんな活発なラボを目指しています。これまでの成果は、朝から深夜まで研究に取り組んでくれた卒業生、現在の所属学生と、未熟な私を支えていただいている共同研究者の先生方、広島大学の関係各位のおかげであります。この場を借りて、感謝の意を表します。