

卵子成熟抑制因子 (oocyte maturation inhibitor : OMI) の同定

秋田大学大学院医学系研究科医学専攻機能展開医学系産婦人科学講座
河村 和弘

はじめに

成熟した卵胞内の卵子（卵丘細胞—卵子複合体）を卵胞外へ取り出すと、卵子は自発的に減数分裂を開始することから、何らかの減数分裂再開抑制機構が卵胞内に存在することが推測されていた。In vitro の実験では、LH サージ前の卵胞液は卵子成熟を抑制する作用を有することから [1]、卵胞液中の卵子成熟抑制因子 (oocyte maturation inhibitor : OMI) の存在が予見されていた。初期の研究では、OMI は①卵胞の顆粒膜細胞より産生され卵丘細胞を介して卵子成熟を抑制すること、②OMI は 2,000Da 以下のペプチドであることまで明らかとなっていたが [1]、その本体は同定されていなかった。2010 年の 9 月の “Science” 誌にジャクソン研究所の Eppig 博士らが報告した natriuretic peptide precursor type C (NPPC) は、まさにその OMI の定義を網羅する分子であった [2]。本稿では、卵子成熟の最近のトピックスとして OMI としての NPPC について、Eppig 博士らの報告とわれわれの研究成果を概説する。

1. cAMP および cGMP と卵子成熟

これまで、卵子内の cAMP および cGMP が減数分裂停止の機構に関与することが知られていた。卵子では恒常活性型の GPR3 と GPR12 受容体の Gs 経路を介したアデニルシクラーゼの作用により cAMP が産生され、高濃度の cAMP は減数分裂停止を維持している [3, 4]。卵子特異的ホスホジエステラーゼである PDE3A は LH サージ後に活性化され、卵子内の cAMP を分解することで減数分裂が再開される [5]。卵丘細胞より産生された cGMP は gap junction を介して卵子内に流入し、PDE3A を抑制して減数分裂停止を維持する [6, 7]。哺乳動物では、in vivo で LH サージにより誘導される減数分裂再開とは別に、卵胞内の卵子を卵胞外へ取り出すだけで自発的に減数分裂が再開されることから、OMI は卵子内の cAMP または cGMP の量を制御することでその減数分裂抑制効果を示す機構が考えられる。

2. OMI としての NPPC の同定

Eppig 博士らは、DNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析により、卵丘細胞に強発現するグアニルシクラーゼとして natriuretic peptide receptor 2 (NPR2) を見出した。グアニルシクラーゼは GTP より cGMP を合成する酵素である。したがって、この受容体の活性化は卵丘細胞における cGMP 産生による減数分裂再開抑制機構につながる。NPR2 のリガンドの 1 つとして、約 2,000Da のペプチドである NPPC がある。NPPC は成熟したマウス卵胞の顆粒膜細胞に発現が認められ、卵丘細胞—卵子複合体を用いた実験系において、減数分裂再開の指標である卵核胞崩壊を濃度依存性に抑制した。彼らはさらに、NPPC および NPR2 のノックアウトマウスの解析を行った。NPPC ノックアウトマウスの homozygous は胎生致死となるため、卵巣を免疫抑制マウスの腎皮膜下に移植して研究が行われた。その結果、期待どおりにグラーフ卵胞内の卵子は LH サージ前に卵核胞崩壊を起こしていた [2]。さらにわれわれは NPPC の OMI としての作用について、マウスのグラーフ卵胞組織培養を用いて検討したところ、NPPC は LH/hCG 刺激による培養グラーフ卵胞の卵核胞崩壊を抑制した (論文投稿中)。以上のことから、NPPC は顆粒膜細胞で産生され、卵丘細胞に発現している NPR2 受容体に結合し、グアニルシクラーゼ作用により cGMP を産生することで減数分裂停止の維持に寄与していることが明らかとなった。

3. NPR2 受容体と NPPC リガンドの発現制御

Eppig 博士らは、NPR2 の発現制御についても検討を行った。培養マウス卵丘細胞の NPR2 の発現は、卵子除去により低下し、卵丘細胞と卵子の共培養により回復した。このことは、卵子由来の液性因子が NPR2 の発現を増加させている可能性を示唆している。実際、卵子由来因子である GDF-9、BMP15、FGF8 を培地中に添加すると、卵丘細胞の NPR2 発現レベルは卵子との共培養の場合と同程度になった [2]。一方、NPPC の発現制御に関しては、Eppig 博士らの論文では不明であった。わ

れわれは、生体内で作用する OMI としての NPPC が LH サージによる卵子成熟の過程において変化するかどうかを検討するため、LH サージによる NPPC の発現制御に関する研究を行った。その結果、マウス顆粒膜細胞に発現している NPPC は LH サージ後に急激に減少し、排卵時まで低値を維持した。また、ヒト卵胞液中の NPPC 濃度についても同様の変化が得られた（論文投稿中）。したがって、生体内では LH サージ後に NPPC が減少し、OMI としての機能を果たせなくなることで減数分裂再開が起こると考えられた。

おわりに

長くその正体が不明であった OMI がついに同定された。これまで LH サージにより誘導される減数分裂再開を促進する因子は、われわれが同定した因子を含め複数報告されている [8-11]。したがって、OMI も NPPC 以外に存在する可能性があり、さらなる研究が必要であろう。

引用文献

1. Tsafiri A, Pomerantz SH (1984) Regulation of the development of meiotic competence and of the resumption of oocyte maturation in the rat. *Symp Soc Exp Biol* 38, 25-43.
2. Zhang M, Su YQ, Sugiura K, Xia G, Eppig JJ (2010) Granulosa cell ligand NPPC and its receptor NPR2 maintain meiotic arrest in mouse oocytes. *Science* 330, 366-369.
3. Mehlmann LM, Saeki Y, Tanaka S, Brennan TJ, Evsikov AV, Pendola FL, Knowles BB, Eppig JJ, Jaffe LA (2004) The Gs-linked receptor GPR3 maintains meiotic arrest in mammalian oocytes. *Science* 306, 1947-1950.
4. Hinckley M, Vaccari S, Horner K, Chen R, Conti M (2005) The G-protein-coupled receptors GPR3 and GPR12 are involved in cAMP signaling and maintenance of meiotic arrest in rodent oocytes. *Dev Biol* 287, 249-261.
5. Richard FJ, Tsafiri A, Conti M (2001) Role of phosphodiesterase type 3A in rat oocyte maturation. *Biol Reprod* 65, 1444-1451.
6. Vaccari S, Weeks JL, Hsieh M, Menniti FS, Conti M (2009) Cyclic GMP signaling is involved in the luteinizing hormone-dependent meiotic maturation of mouse oocytes. *Biol Reprod* 81, 595-604.
7. Norris RP, Ratzan WJ, Freudzon M, Mehlmann LM, Krall J, Movsesian MA, Wang H, Ke H, Nikolaev VO, Jaffe LA (2009) Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development* 136, 1869-1878.
8. Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SL, Conti M (2004) EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science* 303, 682-684.
9. Kawamura K, Kumagai J, Sudo S, Chun SY, Pisarska M, Morita H, Toppari J, Fu P, Wade JD, Bathgate RA, Hsueh AJ (2004) Paracrine regulation of mammalian oocyte maturation and male germ cell survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 7323-7328.
10. Kawamura K, Ye Y, Liang CG, Kawamura N, Gelpke MS, Rauch R, Tanaka T, Hsueh AJ (2009) Paracrine regulation of the resumption of oocyte meiosis by endothelin-1. *Dev Biol* 327, 62-70.
11. Ye Y, Kawamura K, Sasaki M, Kawamura N, Groenen P, Sollewijn Gelpke MD, Kumagai J, Fukuda J, Tanaka T (2009) Leptin and ObRa/MEK signalling in mouse oocyte maturation and preimplantation embryo development. *Reprod Biomed Online* 19, 181-190.