

## 論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

高橋 由妃

主論文の題目  
および  
掲載誌・審査委員

題目 Dynamic Changes in Mitochondrial Distribution in Human Oocytes during Meiotic Maturation

（ヒト卵母細胞の減数分裂成熟におけるミトコンドリア分布の動的変化）

掲載誌 Journal of Assisted Reproduction and Genetics 2016; 33: 929-938

主査 平田 和明

副査 鈴木 登

副査 東郷 建

[論文の要旨・価値] 哺乳類の卵母細胞の成熟過程において、ミトコンドリアの産生する ATP が核と細胞質の成熟に重要な役割を担うと報告があるが、ヒト卵母細胞の成熟過程でミトコンドリアの分布変化は明らかではない。本研究では減数分裂期の細胞質内におけるミトコンドリア分布の動的変化をヒト卵子を用いて検討した。不妊治療患者から、未熟卵母細胞を患者同意のもと提供を受け、追加培養後の成熟卵子を用いた。ミトコンドリアを染色した卵核胞(Germinal Vesicle: GV)卵 130 個、卵核胞崩壊(Germinal Vesicle Breakdown: GVBD)卵 58 個を培養し、チューブリン阻害剤のコルヒチンあるいはアクチンフィラメント阻害剤のサイトカラシン B の添加群と無添加群の成熟過程をライブセルイメージングにより 15 分毎に 40 時間観察した。また、ミトコンドリアの構造や細胞質内分布の評価として、卵母細胞を透過型電子顕微鏡で観察した。ライブセルイメージング解析では、卵母細胞の細胞質のミトコンドリア分布面積は GVBD の 6 時間前に全体の 83%から 77%に減少し、GVBD 時には 85%に増加した。電顕所見では、GV 卵ではミトコンドリアは大半が中心部に分布し辺縁部には認められなかったが、GVBD 卵では細胞質全体に均一の分布が確認された。更に、ミトコンドリア占有面積は、コルヒチン添加群では GV 期に 90%、GVBD 前後は変化なしであった。サイトカラシン B 添加群では 80%減少し、GVBD 時に再度緩徐に増加した。以上、本研究によりコルヒチンおよびサイトカラシン B によりミトコンドリアの再分配は阻害されることが示され、ヒト卵細胞の成熟過程で重要とされるミトコンドリアの分布の変化は、細胞骨格に依存した変化である可能性を示唆した意義深い研究である。

[審査概要] 審査委員会では高橋君から、本研究の目的、方法、結果、考察について PC プロジェクターを用いて約 20 分間の発表後、本研究および関連領域に関する質疑応答が行われた。質問は、①透過型電子顕微鏡所見におけるミトコンドリア分布の算出方法 ②細胞質の変化は認められなかったか③動物種におけるミトコンドリア動態の違いについて④コルヒチン、サイトカラシン B の使用量および作用等、多くの厳しい質問もあったが、概ね適切な回答で対応していた。

## 最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 本研究および関連領域に関しての専門的知識ならびに独立した研究者としての研究遂行能力を有すると判断された。研究発表は落ち着いて、明解なプレゼンテーションであった。英語読解力は英文文献の一部の和訳により十分な読解力を有すると判断した。審査には真摯な態度で臨まれ、誠実で礼儀正しく、学位授与に十分値する人物であると認められた。