

Title	Quantitative Morphometry of Mammalian Sperm Head to Find High Fertilizing Ability Indicators
Author(s)	増子, 大輔
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/69370">https://doi.org/10.18910/69370</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 増子大輔 )	
論文題名	Quantitative Morphometry of Mammalian Sperm Head to Find High Fertilizing Ability Indicators (受精能力の高い哺乳類精子の形状指標探索にむけた形態解析)
論文内容の要旨	
<p>[背景]</p> <p>精子は精巣で作られ、雌内の生殖経路を通り卵に接着し、融合することで受精する。雌内の生殖経路に存在する精子は受精能力が高いことが知られているが、受精能力の高い精子はどのような特徴を持っているのだろうか？近年、正常精子の形にばらつき(差異)があり、正常精子の中にも受精能力の高い精子の形が存在することが定性的に示された。しかし受精能力を表す定量的な形状の指標は存在しない。遺伝子改変マウスによって受精に関わる特徴(接着因子、運動性、膜融合因子など)が明らかになった一方で、形状に関する遺伝子の改変は精子をすべて奇形にしたため、精子形状に関する研究は進んでこなかった。受精能力に関係する定量的な形の指標は不妊治療の現場で精子を1つ選び細胞質に注入する際に用いることができるだろう。加えて、定量指標を用いて受精能力の高い精子の形が体内のどこで獲得されるのかを探索することで今後その場所で何が起きているのかを調べ、良い精子を作ることができるかもしれない。本研究の目的は、精子の受精能力を反映する定量的な形の指標を探索することである。</p> <p>[方法]</p> <p>本研究では対象としてマウスを用いて(A)受精率の高いBDF1系統と低いB6N系統の射出精子を分けることのできる指標の探索のための比較、(B)射出精子と透明帯を通過した受精直前の精子の比較を行った。加えて、(C)ヒト不妊男性(2年間子供が得られていない男性)と子供のいるヒト男性の精子の形状の違いを分けることのできる指標を探した。精子の形状の大部分を占める核の染色を行い、核の形状を比較した。精子形状を表す方法として、長さ、幅、角度、率、面積などを測定するなどがあるが、受精能力を評価するのに適した形状指標を見落とすリスクがある。見落としを防ぐためには精子頭部の輪郭をすべて測定することが望ましい。そこで、本研究では輪郭の情報を失うことなく評価できる楕円フーリエ記述子(Elliptic Fourier Descriptors; EFDs)を用いた。</p>	

## [結果]

(A)受精率の高い精子と低い精子の比較と(B)射出精子と透明帯を通過した受精直前の精子の比較において、受精能力の高い集団は精子頭部のアスペクト比(短軸/長軸)が低い(細い)ことを発見した。さらに、どこでアスペクト比が変化するかを調べるために受精の各ステージの精子を回収し、アスペクト比の比較を行うと、B6N雄マウスの精巣で精子が作られたのちに移動する器官である精巣上体頭部から精子が貯蔵される尾部へ移行するにしたがって、精子のアスペクト比が小さくなる(細くなる)ことを見出した。また、交尾後のB6N雌マウス体内の精子を観察したところ、子宮内と卵管内での形状に有意差はなかった。一方で、透明帯を通過した精子を回収し、アスペクト比を測定すると射出精子の集団よりも透明帯を通過した精子のアスペクト比が有意に小さいことを見出した。マウス精子で得た結果がヒト精子でも当てはまるのかを検証した(C)。子供のいる男性の精子は不妊男性の精子よりも有意に低いアスペクト比を持ち、マウスでの結果はヒトにも当てはまった。また、アスペクト比以外の他の形状は受精能力と相関せず、アスペクト比が受精能力を測定する唯一の形状指標であることが分かった。

## [考察、結論]

マウスとヒトの両方で受精能力の高い精子は低いアスペクト比を示すことを発見した。ここから哺乳類の受精能力を反映する定量的な形の指標はアスペクト比であることが示唆された。最近の研究はアスペクト比でヒト精子をクラス分けしてマウス卵の細胞質内に注入し、細い精子のほうが受精率が高いことを示した。これは本研究の結果と整合する。アスペクト比を用いて体内での形状の変化を観察したところ、精子のアスペクト比が透明帯の通過の際に低下することを観察した。透明帯の通過の際のアスペクト比の低下は精子形状での選択、もしくは機械的変形が起こった可能性を示している。これを絞り込むことで今後受精能力の高い精子を人為的に作ることが可能になるかもしれない。またアスペクト比の精巣上体を通過する際の低下が観察されたため、ここで受精に向けた形の変化が起こっていると考えられる。精子頭部形状のアスペクト比は受精能力の高い精子を選ぶ際に用いることができ、さらに精子形状が原因で受精能力が低下する遺伝子改変マウスが得られた際の形状の定量指標としても用いることができるだろう。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 増子大輔 )			
	(職)		氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授	志賀 向子
	副 査	教 授	岡田 雅人
	副 査	准教授	藤本 仰一
論文審査の結果の要旨			
<p>ほ乳類の正常な精子には、核を含む頭部の形状にある程度のばらつきがあることが知られており、この形により受精率が異なることが定性的に示されてきた。しかし、受精能力の高い精子形態についての定量的指標は確立されていない。本論文「Quantitative morphometry of mammalian sperm head to find high fertilizing ability indicators」は、マウスとヒトの精子の頭部輪郭を対象に、楕円フーリエ記述子と主成分分析を組み合わせた多変量解析を用いることにより、精子の受精能力を反映する定量的な形態指標の探索を行ったものである。</p> <p>まず、マウスの精子形態について 77 個のパラメーターを検討した結果、精子頭部のアスペクト比に相当するパラメーターが、受精率の差を最もよく反映することを見出した。受精率の低いマウス系統よりも受精率が高い系統でアスペクト比が有意に低い、すなわち形が細くなっていることを示した。また、マウスのオス体内で精子が移動、貯蔵される精巣上体と、メス体内に入った後の精子形態を比較した結果、精子が精巣上体頭部から尾部へ移行する時と、メス体内で卵膜を通過する際の二段階で頭部アスペクト比の低下が観察された。前者では形態的な成熟が進み、後者ではさらにアスペクト比が小さくなった精子が選択される、あるいは膜通過による精子形態の機械的変化が起こると考えられた。次に、ヒト精子を解析した結果、妊孕性のある男性の精子アスペクト比は妊孕性が低いと考えられる男性よりも有意に低い事を示した。</p> <p>本論文は、ほ乳類の受精能力の指標となり得る精子形態の定量的指標を明らかにしたものであり、この成果は、ほ乳類の遺伝学的研究や生殖医療に大きく寄与すると期待される。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>			