

神澤医学賞受賞講演

細胞骨格の挙動解析によるヒト受精障害の成因分析とその治療開発にむけた検討

東北大学医学部産科学婦人科学教室 准教授 寺田 幸弘

人類の次世代に関わる生殖補助技術の開発上の問題点

体外受精、胚移植などの生殖補助技術は、本邦においては本教室の鈴木雅洲名誉教授らによる初成功例より、現在、出生児の 50 人に 1 人が本技術により誕生するまで普及している。さらに、配偶子凍結保存、顕微授精、着床前診断などの技術が開発され、臨床の場に導入されている。しかし、その開発の歴史を振り返ると、技術開発に並行して臨床導入が行われ、科学的な解析に基づく安全性の検証など通常の医療が開発されるプロセスが存在しないことに気づく。

ヒト受精のゴールまでのプロセスと精子中心体の役割

ヒト受精の成立から胚の発育までの過程をタイムラプスビデオで経時的に観察すると、一見では穏やかな卵子細胞質内に命の誕生にむけた激しい動きが生じていることに驚く。精子が侵入した部分よりあたかも津波のように卵子細胞質内に流れが生ずる、本講演の主題である精子中心体により形成される微小管の束である精子星状体の形成である。精子核、卵子核よりはそれぞれ雌雄の前核とよばれる巨大な核が形成される。雌性前核はあたかも彼氏に会いにゆくように雄性前核に接近し、両前核は手をたずさえるようにして卵子の中心に移動し、しばらく見つめあった後（DNA 合成期）一期に融合する。真の受精の成立の瞬間である。この一連の動きの主演を演ずるのが精子が卵子内に導入する精子中心体＝微小管形成中心、により形成される精子星状体である。

ヒト受精障害への補助として最も高度な技術と目されている顕微授精法（卵子細胞質内精子注入法：ICSI）にて補助可能な過程は実は受精の始まりにすぎず、精子侵入以降に受精のゴールまでの長い道のり（post ICSI events in fertilization）が存在する。そして、その一連の激しい動きを実際に行う「現場の仕事人」が精子星状体に代表される細胞骨格である。

私はヒト受精過程を細胞骨格形成の観点より解析し、不妊症における受精障害の病態の解明と新しい治療法開発への基礎的な検討を行ってきた。

精子中心体機能低下による不妊症（受精障害）

体外受精および顕微授精法において受精不成立と判断されたヒト卵子を固定し、核相と微小管の形成を観察した。受精不成立卵子の約 20%に雌雄の前核は形成されているが、精子星状体が形成されず受精が停止しており、精子中心体機能不全に

よる受精障害と判断された(Arch Androl 2003, Fertil Steril 2009)。 哺乳動物卵子細胞質を用いたヒト精子中心体機能の測定系を開発し (Biol Reprod 2000, 2001)、精子中心体機能が受精卵の分割に障害を示す不妊症例で低下していることを明らかにした (Mol Reprod Dev 2004, Syst Biol Reprod Med 2008)。 また、奇形精子症例で精子中心体機能が低下していることを報告した (Human Reprod 2002, Human Reprod 2002)。 これらの結果より、精子中心体機能がヒト受精障害の一因となっていることを明らかにした (Tohoku J Exp Med 2010)。 精子形成過程における精子中心体の機能的な成熟の過程を検討し、未成熟精細胞を用いた顕微授精の低受精率の原因の一つとして、精子中心体機能が未熟であることを報告した (Fertil Steril 2005, Asian J Androl 2008, Mol Reprod Dev 2009)。

精子中心体機能低下による受精障害の治療戦略の開発

受精において精子中心体機能が発現する現場は卵子の細胞質内であり、星状体を形成する微小管は卵子内のチューブリンを用いて形成される。 すなわち、精子中心体機能異常への治療戦略を開発するには、精子、卵子双方の機能連関を明らかにしてゆかなければならない。 我々は、中心体除去精子を用いたウサギ顕微授精システムや、精子中心体が存在しない卵割、すなわちヒト卵やウシ卵の単為発生系などで微小管の形成を観察してきた。 結果として、卵子内には精子中心体が存在しないときに微小管形成中心となりうる機能的な中心体が存在することが明らかになった (Rep Med Biol 2005, Biol Reprod 2005, Fertil Steril 2009)。 また、精子中心体機能不全を示した奇形精子症例の精子に化学的な処理による機能賦活への取り組みや、単離（健常）精子中心体移植に向けた基礎的な知見を報告した (Human Reprod 2005, J Androl 2009)。 さらに、高倍率顕微授精システム (IMSI) を用いて、精子中心体が存在する精子中片部の形態を詳細に観察し精子を選別することにより、精子中心体機能が良好な精子が選択できることを報告した (J Assisted Reprod Gen 2010)。

私は以上のような生殖補助技術に細胞生物学的な科学のメスを導入した一連の研究を展開してきた。 顕微授精後の受精障害が存在し、その主因として精子中心体機能不全が存在することを明らかにした。 顕微授精後の受精障害の同定とその治療法の開発は現在の生殖医学の大きなトピックの一つになっている。 これらの研究は、今後の新しい不妊症治療の創生とその健全な展開の礎となると考えられる。

参考文献

Terada Y, Nakamura S, Morita J, Hewitson L, Simerly CR., Murakami T, Yaegashi N, Schatten G, Okamura K: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI): Stilleto Conception or a Stab in the Dark. Arch Androl 49, 169-177, 2003

Terada Y, Hasegawa H, Takahashi A, Ugajin T, Yaegashi N, Okamura K: Successful pregnancy after oocyte activation by a calcium ionophore for a patient with recurrent ICSI failure, with an assessment of oocyte activation and sperm centrosomal function using bovine eggs. Fertil Steril 91, e11-e14, 2009

Terada Y, Simerly CR, Hewitson L, Schatten G: Sperm aster formation and pronuclear decondensation during rabbit fertilization and development of a functional assay for human sperm. Biol Reprod 62, 557-563, 2000

Nakamura S, Terada Y, Horiuchi T, Emuta C, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Human sperm aster formation and pronuclear decondensation in bovine eggs following intracytoplasmic sperm injection using piezo driven pippete: A novel assay for human sperm centrosomal function. Biol Reprod 65, 1359-1363, 2001

Terada Y, Nakamura S, Simerly C, Hewitson L, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K, Schatten G.: Centrosomal function assessment in human sperm using heterologus ICSI with rabbit eggs: a new male factor infertility assay. Mol Reprod Dev 67, 360-365, 2004

Yoshimoto-Kakoi T, Terada Y, Tachibana.M, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Centrosomal Function of Human Spermatozoa from Infertile Patients with Intracytoplasmic Sperm Injection System into Bovine Eggs Correlated with Embryonic Cleavage Rate and Pregnancy. Syst Biol Reprod Med 54, 135-142, 2008

Nakamura S, Terada Y, Horiuchi T, Emuta C, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Anakysis of the human sperm centrosomal function and the oocyte activation in a case of globozoospermia by ICSI into bovine oocytes. Human Reprod 17, 2930-2934, 2002

Rawe V, Terada Y, Nakamura S, Chillik CF, Brugo Olmedo S, Chemes HE: A pathology of the sperm centriole responsible for defective sperm aster formation, sygamy and cleavage. Human Reprod 17, 2344-2349, 2002

Terada Y, Schatten G, Hasegawa H, Yaegashi N. Essential Roles of the Sperm Centrosome in Human Fertilization: Developing the Therapy for Fertilization Failure due to Sperm Centrosomal Dysfunction. *Tohoku J Exp Med (Invited Review for the 90th Anniversary)* in press

Tachibana M, Terada Y, Murakawa H, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Sequential Changes in The Cytoskeletal Dynamics of Microtubules and Microfilaments: Morphological analysis in human spermiogenesis. *Fertile Steril* 84, 1241-1248, 2005

Hayasaka S, Terada Y, Suzuki K, Murakawa H, Tachibana I, Sankai T, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. Intramanchette transport during primate spermiogenesis: expression of dynein, myosin Va, MyRIP, and Rab27b in the manchette during human and monkey spermiogenesis. *Asian J Androl*. 2008 10:561-8.

Tachibana M, Terada Y, Ogonuki N, Ugajin T, Ogura A, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Functional assessment of centrosomes of spermatozoa and spermatids microinjected into rabbit oocytes. *Mol Reprod Dev* 76, 270-277, 2009

Morita J, Terada Y, Hosoi Y, Fujinami N, Sugimoto M, Nakamura S, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Microtubule organization during rabbit fertilization by intracytoplasmic sperm injection with and without sperm centrosome. *Rep Med Biol* 4, 169-177, 2005

Morito Y, Terada Y, Nakamura S, Morita J, Yoshimoto T, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Dynamics of Microtubules and Positioning of Female Pronucleus during Bovine Parthenogenesis. *Biol Reprod* 73, 935-941, 2005

Terada Y, Hasegawa H, Ugajin T, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: Microtubule organization during human parthenogenesis. *Fertil Steril* 91, 1271-1272, 2009

Nakamura S, Terada Y, Rowe VY, Uehara S, Morito Y, Yoshimoto T, Tachibana M, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K: A Trial to Restore Defective Human Sperm Centrosomal Function. *Human Reprod* 20, 1933-1937, 2005

Terada Y, Hasegawa H, Ugajin T, Nabeshima H, Suzuki K, Yaegashi N, Okamura K. Independent Spatial and Temporal Functions of Human Sperm Centrosomes After Dispermic Microinjection into Bovine Oocytes. *J Androl* 30, 559-565, 2009

Ugajin T, Terada Y, Hasegawa H, Nabeshima H, Suzuki K, Yaegashi N: The shape of the sperm midpiece in intracytoplasmic morphologically selected sperm injection relates sperm centrosomal function. J Assist Reprod Genetics in press