

〔受精，着床シリーズ〕

受精現象のメカニズムおよびその異常

杏林大学医学部
産婦人科助教授
神野 正雄

はじめに

体外受精・顕微授精の進歩と共に，受精機構の解明は急速に進みつつある^{1)~4)}．本稿では受精のメカニズム（図 1）とその異常について述べることにする．

精子の受精能獲得（capacitation）

腔に射精された精子の一部は約 15分で速やかに卵管に到達する．精液中の精子はそのままでは卵を受精することができないが，子宮・卵管において精子表面と精子内の代謝に諸種の可逆的变化を生じ，卵を受精する能力を獲得する．これは受精能獲得（capacitation）と呼ばれ， Ca^{2+} 依存性で，それに要する時間は種特異性があり，ヒトでは 5~8時間である．精子表面における mannose 受容体・糖蛋白および糖脂質の分布の変化とそれに伴う精子細胞膜特性の変化，膜流動性の増加，総表面電荷の減少，酸化反応と cyclic AMP 産生の増加，細胞膜コレステロール/リン脂質比の低下と Ca^{2+} に対する感度・透過性の増加，tyrosine phosphorylation の増加，活性酸素産生の増加，angiotensin converting enzyme の放出，hyperactivated motility の獲得など多くの変化が観察されている．

受精能獲得の機序の 1つとして，精巣上体または精漿由来の decapacitation factor（DF）が精子細胞膜から除去されることによるものが知られている．マウス DF は分子量約 40kDa の糖蛋白で，その fucose 糖鎖を経て DF の特異的膜受容体と結合すると考えられ，その結果，細胞内 Ca^{2+} -ATPase を活性化し細胞質内 Ca^{2+} 濃度を低く維持する．DF の除去により細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇すると，adenyl cyclase の活性化により cyclic AMP が増加し，受精能獲得が促進される．

精漿には受精能獲得を促進する因子も存在する．前立腺で産生される thyrotrophic releasing hormone と類似構造の fertilization-promoting peptide（FPP）は，受精能をいまだ獲得していない精子に対しては受精能獲得を促進し，さらに受精能を獲得した精子に対しては自発的に先体反応（acrosome reaction）が起きるのを抑制する．同様な二相性の作用は，adenosine にも認められ，FPP と adenosine はそれぞれの特異的膜受容体を介して，共通のシグナル伝達経路（adenyl cyclase/cyclic AMP 経路）を活性化してこうした作用を発現すると考えられている．

透明帯通過と先体反応

受精能獲得をした精子は卵の透明帯と結合する．透明帯には，ZP1（分子量約 100kDa）・ZP2（約 75kDa）・ZP3（約 60~70kDa）の 3つの透明帯蛋白が同定されており，ZP2と

Key words: Fertilization・Capacitation・Acrosome reaction・ Ca^{2+} oscillation
Intracytoplasmic sperm injection

ZP3は d merを形成し、ZP1に結合している。精子はまず精子結合受容体である ZP3と結合する。すると ZP3は精子の先体反応 (acrosome reaction) を誘発する。先体反応の誘発は、最終的に卵との受精に至る精子においては ZP3との結合により引き起こされると考えられているが、卵丘細胞や卵胞液によっても引き起こされる。

先体反応とは、精子の原形質膜 (plasma membrane) と外先体膜 (outer acrosomal membrane) との融合により、exocytosis 類似の機序で、先体内容物 (acrosin や proacrosin などの諸種の酵素) の放出と、小孔形成から最終的には外先体膜の除去に至ることである。またこれらの変化のみならず、さらなる透明帯との結合やその後の卵原形質膜との融合のために、必要な精子原形質膜の修飾も伴われる。精子受容体との結合は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を引き起こし、calmodulin と共に protein kinase C を活性化し、14以上の蛋白がリン酸化されて先体反応が引き起こされる。

先体反応で放出される酵素や、露出された内先体膜 (inner acrosomal membrane) と精子頭部先端の perforatorium に局在する透明帯溶解酵素により、精子は透明帯に穴を開けつつ、hyperactivated motility により透明帯を貫通する。精子と ZP3 の結合は先体反応が進むにつれ外れていくが、先体反応後の精子に対する結合受容体と考えられている ZP2 により、精子と透明帯の結合は引き継がれていく。精子が透明帯を貫通しても、先体赤道領域 (equatorial segment) では先体反応による原形質膜の消失が生じていない。

精子・卵原形質膜融合から第一分裂まで

精子は透明帯を通り抜け卵腔に入り、精子と卵の原形質膜の融合が開始する。融合は精子頭部の赤道部位 (先体赤道領域と先体後部領域 [post-acrosomal segment] の前方部) と卵の微絨毛との間で始まる。その後、微絨毛は表層下層の actin と myosin と連動する繊維の働きにより精子を卵細胞質内へ引っ張り込む。精子は運動を停止し、中片部および尾部の精子原形質膜が卵原形質膜にジッパーのように取り込まれながら、中片部および尾部のすべてが卵細胞質内に引き込まれる。融合には fibronectin, integrin, 接着蛋白 PH 30などが関与している。

精子と卵の原形質膜が融合すると、卵は活性化され、細胞質内の滑面小胞体から Ca^{2+} を反復性のスパイク状に放出する (Ca^{2+} オシレーション)。 Ca^{2+} オシレーションにより、表層顆粒の放出による多精子受精の防御、卵減数分裂の再開による第二極体の放出と雌性前核の形成、精子中心小体の分離、精子頭部の脱凝縮とそれに続く雄性前核の形成が誘発される。

卵活性化のメカニズムは最近盛んに研究されているが、以下の機序が有力視されている。精子頭部の赤道領域の細胞質内には osdlin が多く含まれているが、この osdlin は卵の Ca^{2+} オシレーションを引き起こすことが知られている。精子頭部がその赤道領域で卵の原形質膜と融合すると、極めて短時間に osdlin (または類似作用をもつ蛋白) が原形質膜間にできたチャンネルを通して卵細胞質内に放出され、inositol triphosphate (IP_3) または IP_3 とは別の経路を介して Ca^{2+} の放出が引き起こされる。

表層顆粒の放出は、精子・卵膜融合の生じた部位の顆粒から始まり、数秒で全周に広がる。一種の exocytosis であり、加水分解酵素・蛋白分解酵素・過酸化酵素などを卵腔に放出する。透明帯にある精子受容体の ZP1・ZP2 および ZP3 が変化され、精子の結合と先体反応の誘発が阻止される。表層顆粒が卵膜と融合することにより、卵表面積が増加し、微絨毛の延長を生じる。

卵細胞質内に取り込まれた精子頭部は、透明帯通過後約 1時間で脱凝縮を開始し、これは約数時間続く。精子核蛋白の protamine間におけるジスルフィド結合を減少し、卵が産生する histoneにより protamineを置換する。また精子核の核膜が消失し、これに替わって卵の滑面小胞体が核を取り囲み、雄性前核の核膜が形成される。こうして精子頭部は脱凝縮・膨化・増大し、雄性前核に至る。

精子尾部は頭部から切断され、精子中心小体が遊離される。中心小体は複製され、最初の有糸分裂紡錘体を組織し、最終的にはその両極に位置を占める。中心小体はその後の細胞分裂でも受け継がれていき、よって精子中心小体は、胚・胎児細胞のみならず体細胞に至るまで、その中心小体の原形となっている。

雌雄前核は増大しながらお互いに接近し、前核核膜の消失、紡錘体の形成、染色体の赤道面への配列に続き、染色体の両極への移動と細胞の分裂を生じ、胚としての最初の分裂を成し遂げる。前核期は約 24時間持続する。

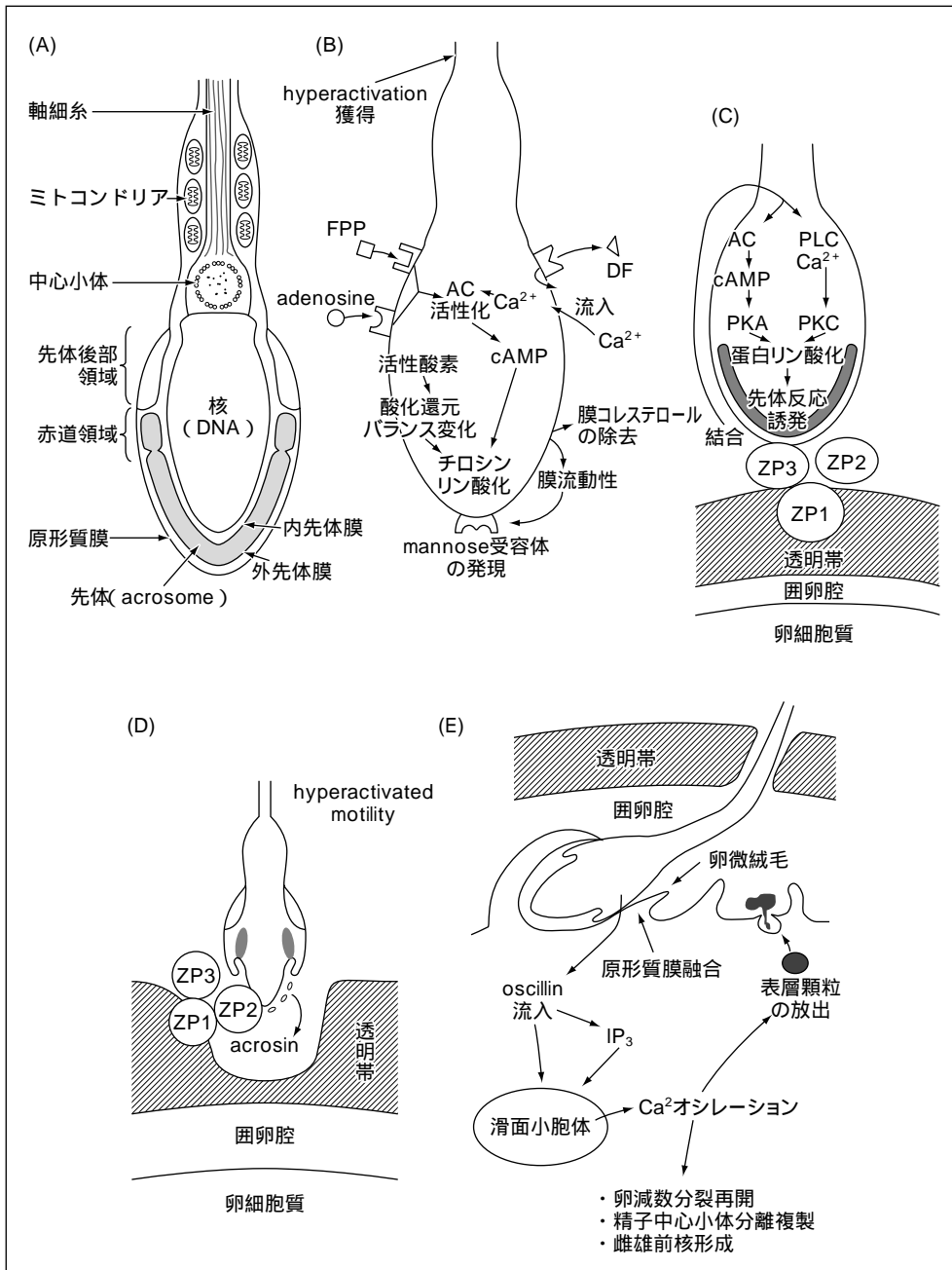
受精の異常

以上に述べた受精機構のどこに問題が生じてても、受精障害となる。受精障害は、主として精子の機能障害に起因することが多いが、卵の成熟不良もしばしば原因となる。精子の異常としては、精子数の減少、運動能の低下、形態異常、capacitationの不良、先体反応の異常、活性酸素の産生増加、精子中心小体の欠如や異常、染色体異常などがある。すべての精子が同様に障害されているよりも、正常から重度の異常に至るまでのさまざまな精子がさまざまな割合で混在していることのほうが普通である。また一種類の機能障害というより多くの異常が同時に存在することのほうが多い。逆の見方をすると、相当に重症な男性不妊であっても、正常な精子が極めて少数とはいえ存在することが多く、それゆえ程度はまれとはいえ正常な自然妊娠が起こりうる。近年、顕微授精の intracytoplasmic sperm injection (ICSI) が急速に進歩し、ほとんどの男性不妊は、ICSIをすれば正常男性と同等の成功率で挙児可能となった⁵⁾。それゆえ精子機能障害の大半は、受精に至るまでの過程に関するものと考えられ、精子中心小体の欠如や異常・染色体異常などの受精後の異常原因となるものは頻度が少ないものと推定される。

卵の成熟不良による受精障害は体外受精でしばしば遭遇される。卵の成熟は核・細胞質・膜の 3つの成熟からなり、すべてが良好に達成されたときにのみ、卵は子供に至る能力を獲得する。核成熟(減数分裂の再開と完了)は比較的容易に達成されるが、膜・細胞質成熟はしばしば不良となり、受精障害・胚発育停止・着床障害・流産などとして現れてくる。卵が Ca^{2+} オシレーションや表層反応を引き起こす能力は、第二減数分裂中期に至る数時間前によく獲得される。卵の成熟不全による受精障害は、たとえ ICSIで受精を達成しても、結局その後の胚発育が停止または不良となり、妊娠に至らない。排卵誘発法の選択・調整により卵成熟を改善することが本質的な対策である⁶⁾。

おわりに

近年 ICSIは精子の問題による受精障害をほぼ完全に代償できるほど有効である。しかしながら生理的な受精機構を大幅に逸脱してもその後の受精経過・胚発育が正常に進むのは、一重に卵・精子の巧妙な代償機能の賜にほかならない。現状に留まらずさらに不妊治療を進歩させるためには、現象の裏にひそむ深淵な真理を常に追い求める姿勢が重要と考える。



(図1)(A) 精子の構造 (B) Capacitation. FPP: fertilization promoting peptide, DF: decapitation factor, AC: adenyl cyclase (C) 透明帯との結合と先体反応誘発. PKA & PKC: protein kinase A & C, PLC: phospholipase C (D) 先体反応と透明帯融解 (E) 原形質膜融合と卵活性化. IP₃, inositol triphosphate.

《参考文献》

- 1) Kupker W, Dedrich K, Edwards RG. Principles of mammalian fertilization. Hum Reprod 1998; 13(Suppl. 1): 20-32
- 2) Sathananthan AH. 卵子・精子と受精. 鈴木秋悦, 宮川勇生, 久保春海, 神崎秀陽 編 Modern Reproductive Medicine 1 卵子と精子 不妊の病態をさぐる 東京: メジカルビュー社, 1998; 12-21
- 3) De Jonge CJ. An update on human fertilization. Semin Reprod Endocrinol 1998; 16: 209-217
- 4) Fraser LR. New insights into possible causes of male infertility. Hum Reprod 1999; 14(Suppl. 1): 38-46
- 5) 神野正雄. 顕微授精. 吉村泰典 編 不妊診療プラクティス 東京: 中外医学社, 1999; 210-218
- 6) 神野正雄. C. その他の卵巣刺激法. 久保春海 編 新女性医学大系 第16巻 生殖補助医療 東京: 中山書店, 1999; 165-172