

## エネルギー摂取量の違いによるラット卵母細胞の脂質含量の変化

川上心也<sup>1)</sup>

1) 新潟医療福祉大学 健康栄養学科

【背景・目的】 妊娠中の母体の栄養状態の不良は、産子の将来的疾患を生じるリスクを上昇させる (Velazquez, 2015)。また、妊娠前の卵巣中の卵母細胞が、この時点ですでに母体の栄養状態の影響を受けている可能性も指摘されているが、その機序については明らかになっていない。

一方、卵母細胞内の脂質小滴は、細胞質封入体の一種であり、細胞内に脂質を貯蔵する。この脂質は、排卵後の卵母細胞が、後の受精や着床までに必要な発生時の栄養源になると考えられている。従って、排卵される卵母細胞の成熟において、脂質が適切に貯蔵されることは、その後の胚発生において重要である。しかし現在までに、母体のエネルギー摂取量による卵母細胞の脂質含量の変化について調べた報告は少ない。これを明らかにすれば、母体の栄養状態と卵母細胞の関係について、新たな知見を得られる。

そこで本研究では、個体の栄養状態が卵母細胞に与える影響を確認するために、細胞質中の脂質小滴に着目し、エネルギー摂取量の違いが脂質含量を変化させるのか否か検討した。

【方法】 8週齢の雌ラットを、対照群 (n = 4)、摂食制限群 (対照群の摂食量の70%を給餌。n = 4)、および高脂肪食群 (n = 5) に分け、6~8ヶ月間飼育した。飼育期間終了後、過排卵処置の後解剖し、各種の重量測定を実施した。卵母細胞は卵巣中の胞状卵胞から採取した。

卵母細胞中の脂質小滴は、蛍光染色法により観察した。すなわち、採取した卵母細胞を4%パラホルムアルデヒドPBSで4時間固定後、PBSで洗浄し、0.9%生理食塩水で希釈した Nile Red 溶液 (10 µg/ml) に暗所にて1時間浸漬した。浸漬後、落射蛍光顕微鏡により脂質小滴の発光を撮影した。撮影画像の解析には ImageJ (NIH, USA) を使い、各群の卵母細胞における発光の強弱は、光学濃度 (OD 値) に変換し、脂質含量を相対的に比較した。

統計学的検定として、一元配置分散分析を実施後、Tukey-Kramer 法により多重比較検定を実施した。

なお、本研究は新潟医療福祉大学実験動物委員会の承認を受け、関連する利益相反はない。

【結果】 解剖時点における体重は、摂食制限群で他群に比べ有意に低下しており、他の2群間に有意な差は認められなかった。内臓脂肪重量は、摂食制限群が最も少なく、次いで対照群、さらに高脂肪食群の順で有意に増加した。卵巣重量は、体重同様に摂食制限群で他群に比べ有意に低下し、他2群間に有意な差は認められなかった (表1)。

採取した卵母細胞に、Nile Red 溶液を用いて蛍光染色を施すと、脂質小滴が橙色に発光した。この時観察された光学濃度、すなわち、卵母細胞内に含まれる脂質含量 (OD 値; 平均値±標準偏差) は、対照群の  $98.9 \pm 13.7$  並びに摂食制限群の  $103.7 \pm 15.8$  に比べ、高脂肪食群で  $78.2 \pm 9.6$  と有意に低下していた (P < 0.01、図1)。

表1 ラット各群の体重、内臓脂肪重量および卵巣重量  
同列内で異なる肩文字を付した数値間には有意差がある (P < 0.05)

	体重(g)	内臓脂肪重量(g)	卵巣重量(g)
対照群	311.0 ± 15.3 <sup>b</sup>	26.1 ± 5.9 <sup>b</sup>	0.095 ± 0.017
摂食制限群	270.3 ± 5.7 <sup>a</sup>	16.6 ± 3.1 <sup>a</sup>	0.063 ± 0.021
高脂肪食群	314.6 ± 3.3 <sup>b</sup>	38.4 ± 1.6 <sup>c</sup>	0.104 ± 0.009

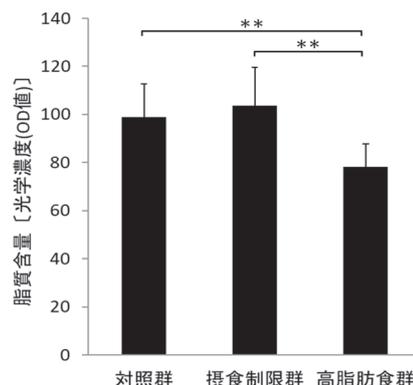


図1 脂質含量 (OD 値: Optical Density) の平均値+標準偏差 (\*\*P < 0.01)。

【考察】 本研究では、30%の摂食制限で、雌ラットの体重や卵巣重量、および内臓脂肪重量の減少が生じたことから、卵母細胞の脂質含量も減少すると予想されたが、実際には含量の変化は認められなかった。30%の摂食制限の場合、加齢による卵巣機能の低下を抑制する効果 (Wang et al., 2014) が報告されていることから、本研究の実験条件でも、卵母細胞の脂質代謝が正常に保たれたことで、脂質含量の変化が生じなかったと推察される。

一方、高脂肪食群では、内臓脂肪重量が有意に増加しており、卵母細胞内の脂質含量も増加すると予想されたが、脂質含量は他群の卵母細胞に比べ有意に減少していた。過去の報告では、高脂肪食摂取によりエネルギー過剰となったマウスやウシの卵母細胞は、細胞質中の脂質含量が増加する (Wu et al., 2010; Awasthi et al., 2010)。本研究では、飼育期間が過去の報告の4~10週と比べて20週程度長かったことから、長期間の高脂肪食摂取は、卵母細胞の脂質の合成・蓄積能、もしくは脂質の分解能に影響したと推察される。あるいは、ラットの卵母細胞に特有な現象であり、動物種により異なっていることも考えられるが、脂質含量低下の機序については今後の検討課題である。

【結論】 高脂肪食を6~8ヶ月間摂取したラットの卵母細胞では、細胞質中に含まれる脂質含量が、通常のエネルギー量を摂取したものと比べ有意に減少する。