

農学博士入谷 明氏の「家畜における 精子の受精能獲得と体外受精に関する 研究」に対する授賞審査要旨

哺乳動物の受精は、生体内では卵管の膨大部で起る。これに対し、体外受精においては、排卵後間もない成熟卵子と、子宮や卵管を通過して卵子に進入する能力、即ち受精能を獲得した精子とを準備し、体外の培養器の中で受精させる。ウサギ、マウス、ハムスターなどの精子については、既に一九五〇年代に、受精能獲得条件や体外受精に関する報告がみられていたが、ウシ、ブタなどの大型家畜では実験の困難さ等もあって、一九六〇年代に入っても、これらの課題に関する研究は、皆無であった。

このような状況の中で、入谷氏は一九六〇年代後期から、大型家畜を対象とした体外受精系の確立に向けて、受精生理学的な立場から研究を開始した。即ち、同氏は先ず、大型家畜の子宮や卵管内の生理学的環境と、そこにおける精子の受精能獲得機構の解明に着手し、幾多の困難を克服して、ついにその目的を達成するとともに、そこに得られた知見を基礎として、中・大型家畜に対する体外受精系を他に先駆けて確立することに成功したのである。かくして、入

谷氏の研究成果は、受精生理学の領域に重要な新知見を加えると共に、さらにそれを通じて、大型家畜増殖のための技術開発に大きく貢献したものととして、国際的にも極めて高く評価されている。以下に、同氏の基礎研究の概要を略述する。

I 中・大型家畜における雌生殖器官内の生理的環境と精子の受精能獲得機構の解明

入谷氏は先ず、ウサギ・ヒツジ・ヤギ・ブタなどの中型及び大型家畜の子宮や卵管の分泌液の生理学的性状と、それらの化学的組成が、精子の生存・代謝・受精能獲得等に対して、どのような影響を及ぼしているかを調査した。即ち、同氏は、ヒツジ、ブタ、ウサギの生体について、子宮と卵管の分泌液を連続的に採集し得る装置を、それぞれの動物種ごとに考案・作成し、それを外科的手術によって生体に装着し、分泌量や化学的性状（糖類・タンパク質・アミノ酸・無機塩類など）を経済的に明らかにした。同氏によつて報告された分泌液の組成値は、その後、世界各国で開発されたところの配偶子や初期胚の体外培養の培養液の組成決定の基本となり、現在に至るまで広く利用されている。

さらに入谷氏は、子宮や卵管の分泌液の中で、精子の代謝能や受精能獲得にかかわる要因について検討を行い、大型家畜の雌個体か

ら摘出した子宮や卵管の中に、精子を注入し、三、四時間 ∞ 。で培養することによって人工的に受精能を獲得させることに成功し、発情期の分泌液中に存在する非透析性・熱不安定性のタンパク質が受精能獲得に関与することを見出した。

なお、ブタとウシに関するこれら一連の研究の過程で、生体から摘出した発情期の子宮または卵管内で精子を培養したところ、蛍光染色法によって精子被覆抗原（受精能破壊因子）が除去されていることが確認され、さらに、精子の呼吸能が増大して、運動が活性化することなども明示された。

かくして、本研究を通じ、ウシとブタ精子の受精能獲得に必要な条件がはじめて明らかとなり、またそのための基礎的技術も確立された。

II 家畜における体外受精系の確立

体外受精系を成立させるためには、受精能獲得精子と成熟卵子とを準備することが前提となるが、一九七〇年代の後半まで、ウシ、ブタなどの大型家畜については精子の受精能獲得現象の仕組みさえ明らかになっていなかった。上述したように入谷氏は他に先駆け、これらの動物について精子の人工的受精能獲得に成功したが、さらに、屠場から入手が可能な卵巣から未成熟卵子を吸引採取して、二四時間、体外培養することにより、成熟卵子とする方法をも開発し

た。これにより、体外受精にかかわる実験の頻度を向上させることが可能となり、同氏は一九七七年にウシについて一九七八年ブタについて、それぞれ世界で最初の体外受精に成功した。さらに一九八五年にヤギで、一九八六年にはヒツジでも成功に至っている。

入谷氏のこれらの研究成果は、受精生理学の観点から国の内外で高く評価されると共に、同氏が確立したウシの体外受精方式は、イギリス、アイルランド、日本などで、肉牛の増殖に広く応用されている。特に、ウシの体外受精の成功は、それまでウシへの遺伝子組換え技術の適用に際して、最大の障害となっていたところの前期胚の短時間内での多数供給を可能なものとした点においても、重要な意義を持っている。

III 顕微受精法を用いた体外受精による哺乳動物の生産とその生理学的意義

一九八〇年代の後半に入ると、既に多くの哺乳動物種について、精子への受精能付与と、それを前提とした体外受精技術が確立されていたが、雄動物の個体によっては精子の運動性が悪く、体外受精に利用できない場合がかなり頻繁に認められた。そこで入谷氏は、一個の精子を人為的に卵細胞質内に注入して受精、分割させ、さらにそれらを受胎雌に移植することによって産子を得ることを目的と

して実験を進めた。同氏は一九八七年、ウサギを用いた実験で、卵子の透明帯を軟化させた後、顕微鏡下で微細針を使って一個の精子を直接卵子に注入した。その結果、約三〇％が分割し、これらの分割卵を受胎雌に移植したところ、二頭の産子が得られた。それらは、顕微受精で得られた最初の哺乳動物となっている。同氏の開発した顕微受精法は、子ウシの生産に応用されているが、この技術が、より大きく貢献しているのは、ヒトへの臨床応用の場面である。即ち、それまで治療の対象外であった重度の精子減少症の患者の精子を使った顕微受精が既に世界的に広範に実用されていることは周知のとおりである。

以上に述べたように、入谷氏は多年にわたる受精生理学的研究を通じて数々の独創的、先駆的な成果をおさめ、さらに、それらを基盤としてさまざまな体外受精系を確立して、中・大型家畜の増殖に大きく貢献し、国の内外で極めて高い評価を受けている。即ち、国内的には、家畜繁殖学会島村賞（一九六四年）、日本農学賞（一九五五年）、紫綬褒章（一九九五年）、日本農業研究所賞（一九九八年）等を授与され、国際的には世界不妊学会基礎生物学賞（一九九五年）を受賞している。

Main Publications by Akira Iritani

Books

1. Micromanipulation Techniques (co-author) 1. History and Efficiency of Microassisted fertilization in Animals (Bailliere Tindall, London), (1994).
2. Methods in Molecular Biology, Vol. 48: Animal Cell Electroporation and Electrofusion Protocols, (co-author) Chapter 26 Nuclear Transfer in Bovine Embryos (Humana Press, New Jersey, USA) (1995).

Scientific Papers

1. Studies on the chemical composition of female genital tracts
1. A. Iritani, W. R. Gomes and N. L. VanDenmark: Secretion rates and chemical composition of oviduct and uterine fluids in ewes, *Biol. Reprod.*, 1, 72-76 (1969).
2. A. Iritani, W. R. Gomes and N. L. VanDenmark: The effect of whole, dialyzed and heated female genital tract fluids on respiration of rabbit and ram spermatozoa, *Biol. Reprod.*, 1, 77-82 (1969).
3. A. Iritani, Y. Nishikawa, W. R. Gomes and N. L. VanDenmark: Secretion rates and chemical composition of oviduct and uterine fluids in rabbits, *J. Anim. Sci.*, 33, 829-835 (1971).
4. A. Iritani, E. Sato and Y. Nishikawa: Secretion rates and chemical composition of oviduct and uterine fluids in sows, *J. Anim. Sci.*, 39, 582-587 (1974).
5. A. Iritani, Y. Tsunoda, M. Miyake and Y. Nishikawa: Enhanced respiration and reduction of tetracycline binding of boar and bull spermatozoa following incubation in the female genital tract, *Jap. J. Zool. Sci.*, 46, 531-537 (1975).
6. A. Iritani, M. Kasai and M. Miyake: Chemical composition of rat uterine luminal fluid at proestrus and its effect on the respiration of epididymal spermatozoa, *Mém. Coll. Agr., Kyoto Univ.*, 109, 15-23 (1977).

- II Studies on In Vitro Fertilization in Cattle, Pig and other animals
1. A. Iritani, E. Sato and Y. Nishikawa: The fertilization of pig follicular oocytes in vitro with capacitated spermatozoa. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 20, 404-409 (1975).
 2. A. Iritani, and K. Niwa: Capacitation of bull spermatozoa and fertilization in vitro of cattle follicular oocytes matured in culture. *J. Reprod. Fert.*, 50, 119-121 (1977).
 3. A. Iritani, K. Niwa and H. Imai: Sperm penetration in vitro of pig follicular oocytes matured in culture. *J. Reprod. Fert.*, 54, 379-383 (1978).
 4. H. Imai, K. Niwa and A. Iritani: Ultrastructural observations of boar spermatozoa penetrating zona-free hamster eggs. *Biol. Reprod.*, 23, 481-486 (1979).
 5. E. Sato, T. Ishibashi and A. Iritani: Effect of inhibin-like substance isolated from porcine follicular fluid on the follicle-stimulating hormone (FSH) level in mouse serum and on FSH binding to porcine granulosa cells. *Fertil. Steril.*, 34, 55-57 (1980).
 6. C. I. Kim, K. Niwa, H. Imai and A. Iritani: Penetration of zona-free hamster eggs in vitro by goat spermatozoa preincubated in the reproductive tract isolated from a maturing gilt. *J. Exp. Zool.*, 213, 181-183 (1980).
 7. Y. Hosoi, K. Niwa, S. Hatanaka and A. Iritani: Fertilization in vitro of rabbit eggs by epididymal spermatozoa capacitated in a chemically defined medium. *Biol. Reprod.*, 24, 637-642 (1981).
 8. T. Nishimoto, I. Yamada, K. Niwa, T. Mori, T. Nishimura and A. Iritani: Sperm penetration in vitro of human oocytes matured in a chemically defined medium. *J. Reprod. Fert.*, 64, 115-119 (1982).
 9. E. Sato, T. Ishibashi and A. Iritani: Purification and action sites of a follicle stimulating hormone inhibitor from bovine follicular fluid. *J. Anim. Sci.*, 55, 873-877 (1982).
10. H. Imai, K. Niwa and A. Iritani: The importance of the presence of metabolizable sugars in a medium for in vitro fertilization of hamster eggs with postovulatory oviduct contents. *J. Exp. Zool.*, 220, 261-265 (1982).
 11. A. Iritani, M. Kessai, K. Niwa and H. B. Song: Fertilization in vitro of cattle follicular oocytes with ejaculated spermatozoa capacitated in a chemically defined medium. *J. Reprod. Fert.*, 70, 487-492 (1984).
 12. K. Niwa, K. Ohara, Y. Hosoi and A. Iritani: Early events of in-vitro fertilization of cat eggs by epididymal spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 74, 657-660 (1985).
 13. J. Braun, A. Iritani and W. Leidl: Fertilization in vitro of ovine follicular oocytes with ejaculated spermatozoa capacitated in a chemically defined medium. *Zuchthyg.*, 21, 59-63 (1986).
 14. K. Utsumi, H. Kato and A. Iritani: Full-term development of bovine follicular oocytes matured in culture and fertilized in vitro. *Theriogenology*, 35, 695-703 (1991).
- III Physiological significance of microfertilization and production of animals using this technique
1. A. Iritani, K. Utsumi, M. Miyake, Y. Hosoi and K. Saeki: In vitro fertilization by a routine method and micromanipulation. "In vitro fertilization and other assisted reproduction", *Ann. New York Acad. Sci.*, 541, 583-590 (1988).
 2. Y. Hosoi, M. Miyake, K. Utsumi and A. Iritani: Development of rabbit oocytes after microinjection of spermatozoa. *Proc. 11th Congr. Anim. Reprod. and AI.*, 3, 331-333 (1988).
 3. A. Iritani and Y. Hosoi: Microfertilization by various methods in mammalian species. "Development of preimplantation embryos and their environment. Alan R. Liss, Inc., pp. 145-149 (1988).
 4. A. Iritani, Y. Hosoi and Y. Takahashi: In vitro fertilization by

- micromanipulation of gametes, "Comparative spermatology 20 years after", Serono Symposia Publications, Raven Press, 75, 853-859 (1991).
5. A. Irtani: Micromanipulation of gametes for in vitro assisted fertilization, Mol. Reprod. Dev., 28, 199-207 (1991).
 6. A. Irtani, K. Utsumi and Y. Hosoi: Fertilization by assisted micromanipulation of gametes, "Embryonic development and manipulation in animal reproduction", Proc. 1st Cong. Italian Soc. ET and Int. Sympo. Embryonic Tech., Milan, pp. 51-57 (1992).
 7. A. Irtani, Y. Hosoi and C. Polge: In vitro fertilization by assisted microinjection of sperm head or dead sperm in domestic and non-domestic animals, Reproduction and Animal Breeding-Advances and Strategy-, Elsevier, 197-202 (1995).
 8. A. Irtani, Y. Hosoi and R. Torri: Application of ICSI in domestic and/or zoo animals, Proc. I.C.A.R. Special Anniversary Conference, Gametes: Development and Function, Milan, pp. 393-404 (1998).

医学博士廣川信隆氏の「細胞骨格の分子細胞生物学的研究」に対する授賞審査要旨

廣川信隆氏の業績は、(1)卓越した方法の確立、(2)神経細胞における細胞骨格分子の構造と機能解明、(3)微小管をレールとするモーター分子群の構造と機能解明の三つに分けることができます。

I 急速凍結電子顕微鏡法の確立とそれによる新しい細胞骨格構造の解明

従来の化学固定を基本とする電子顕微鏡法とは全く異なり液体窒素と液体ヘリウムを用いて試料を物理的に固定する急速凍結電子顕微鏡法を独自に開発し、この方法と免疫細胞化学を併用して新しい細胞骨格線維の存在とその物質組成を明らかにしました。これらの研究はさらに後述する新しいモーター分子の発見とその機能解明という独自の研究へと発展しました。

II 神経細胞の細胞骨格構造の急速凍結電顕法及び分子細胞生物学的方法による解析と細胞の形作りの分子機構の解明

廣川氏は前述のように急速凍結電顕法を用いて神経細胞の微小管及びニューロフィラメントに結合する新しい一群の線維構造を発見