

ウシ子宮内膜における TRP チャネルの

発現と活性に関する研究

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 岩野弘暉

1. はじめに

ウシの発情周期は約 21 日で, その間, 体温や血中ホルモン濃度, 子宮内膜構造などに様々な変化が起こる。これらの変化には様々な伝達機構の関与が考えられるが, その一つとして, 近年「センサー」「トランスデューサー」「足場」の機能を有する TRP チャネルの関与がヒトやマウスで報告されている。しかし, ウシの生殖に関わる知見は少ない。そこで本研究では, 卒論研究でウシ子宮内膜での発情周期変動を明らかにした TRPV4, A1 の発現に対する性ステロイドホルモンの影響を明らかにすることに加え, 子宮内膜細胞における TRP チャネル機能解明に向けた活性検出法の確立を目的とした。

2. 方法

1) 性ステロイドホルモンによる *TRPV4*, *A1* の発現制御 食肉処理場由来非妊娠ウシ子宮から子宮間質細胞および上皮細胞を分離し, 性ステロイドホルモンである 17β -エストラジオール (E2) とプロゲステロン (P4) またはその両方 (E2+P4) を添加し, 6, 12, 24 および 48 時間培養を行った。その後, RNA 抽出, cDNA 作製後に q-PCR により *TRPV4*, *A1mRNA* の発現量を解析した。

2) Fluo-8 を用いたカルシウムイメージング 細胞膜上にあるタンパク質である TRP チャネルは, 活性化後, 細胞内に陽イオンを流入させることによりイオンチャネルとしての役割を發揮している。そこで, TRP チャネル活性を検出・評価するために Ca^{2+} プローブである Fluo-8 AM を用いたカルシウムイメージングを子宮上皮, 間質細胞において行った。

3. 結果と考察

1) 子宮間質細胞において, 性ステロイドホルモン添加による *TRPV4* 発現への影響は見られなかった。これに対して *TRPA1* は E2 区の 48 時間処理, および E2+P4 区の 24, 48 時間処理において, 対照区と比べて有意に低下した。子宮上皮細胞では, *TRPV4* 発現へ影響は見られず, *TRPA1* の発現は確認できなかった。

2) 子宮間質細胞において TRP チャネル活性剤であるメントール, カプサイシンの添加により, Ca^{2+} の取り込みが観察された。また, その取り込みは TRP チャネル阻害剤であるルテニウムレッドにより減少した。対して, 子宮上皮細胞では細胞内に Fluo-8 の導入が困難であった。これは細胞特性による Fluo-8 の導入効率が異なることが考えられた。

4. まとめ

ウシ子宮間質細胞における性ステロイドホルモンによる TRP チャネルの発現制御が示唆された。また, 本研究により, カルシウムイメージングによる TRP チャネルの活性評価系が確立できた。この手法により, ウシ子宮間質細胞においてそれぞれの TRP チャネル特異的な活性剤を用いることにより, 機能的発現解析への活用が期待される。