

発情周期及び妊娠初期におけるウシ雌性生殖器における水チャネルの発現

動態解析

生物資源科学専攻 家畜生産学講座 遺伝繁殖学 小木曾 貴季

1. はじめに

ウシの繁殖のほとんどが人工授精に依っている今日, 正確な発情の検出や妊娠診断は必要不可欠である。前者は適切な人工授精の為, また後者はウシの発情周期が 21 日間であるため, 不受胎の場合はそれが 21 日以前に判明することで再び人工授精の実施が可能となり, 生産効率は上がるのである。そのため雌性生殖器の生理的な変化を理解することは生産効率を向上することの一助となる。卒論研究にて, 他動物種の発情周期中や妊娠期の雌性生殖器における発現が報告されている水チャネルであるアクアポリン(AQP) 遺伝子の発情周期依存的な変動をウシ子宮で明らかにした。本研究では, 発情特異的 AQP について, 1) 子宮内膜, 子宮頸部及び腔部における発情周期別の局在, 2) 妊娠認識時の子宮における AQP 発現動態ならびに, 3) 妊娠認識時に胚から産生される IFN τ による誘導について解析することで, 生殖器における AQP の新たな機能を解明することを目的とした。

2. 方法

1) 発情周期中子宮内膜, 子宮頸部及び腔部における AQP5 局在解析 発情周期中のウシ子宮内膜, 子宮頸部及び腔部について凍結切片を作製し, それぞれについて AQP5 の免疫組織化学染色を行った。

2) 妊娠初期子宮内膜における AQP1, AQP4, AQP5 mRNA 発現定量解析

妊娠初期(妊娠 14~18 日齢)子宮内膜における AQP1, AQP4, AQP5 mRNA 発現量をリアルタイム PCR により解析した。また非妊娠期として黄体期中期子宮組織サンプルを設けた。

3) 組換え体ウシインターフェロントウ (boIFN τ) 添加培養組織サンプル mRNA 発現定量解析 上記 2) の結果を受け, 妊娠初期に胎子より産生・分泌される boIFN τ に着目し, その組換え体を用いて, 培養組織による *in vitro* 試験を行った。試験は前培養を 1, 12, 24 時間に設定し, それぞれについて boIFN τ を 3, 6, 12 時間添加した。対照区として無添加区を設けた。陽性対照として, IFN τ 誘導性因子である *MX1*, *MX2* 発現についても併せて解析した。

3. 結果と考察

1) AQP5 は子宮内膜においては腺上皮及び管腔上皮で, 腔部においては管腔上皮で, それぞれ頂端、基底に局在が確認された。AQP が受動輸送による水の移動に関わることから, 子宮内環境における粘液の分泌あるいは再吸収のみならず, 腔部における湿潤環境への寄与の可能性が示唆された。

2) AQP4 及び AQP5 については, 妊娠, 非妊娠子宮での有意な発現変動は見られなかったが, AQP1 については非妊娠期に対して妊娠初期の子宮内膜で発現量が有意に減少した ($p < 0.05$)。

3) boIFN τ 添加による子宮内膜組織への *MX1*, *MX2* の誘導効果が確認され, 妊娠初期の体外認識モデルの有効性が検証された。IFN τ の添加によって AQP1 の発現減少が生体組織と同様に確認された。

4. まとめ

局在解析により AQP5 による子宮内膜における粘液分泌あるいは再吸収のみならず, 腔部での湿潤環境への寄与の可能性が示された。また妊娠認識時のウシ子宮内膜における AQP1 の発現が IFN τ によって制御される可能性が初めて示唆された。