

ウシ子宮外組織における胚由来因子の検出と応答性に関する研究

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 國井宏樹

1. はじめに

反芻動物の着床期には、伸長胚の栄養膜細胞から I 型インターフェロン (IFN) である IFN- τ (IFNT) が分泌される。IFNT は、胚の透明帯脱出後間もなく産生されはじめ、着床前にその分泌量がピークに達した後、子宮への接着開始前後に低下する。子宮内に分泌された IFNT は、母体の子宮内膜に作用して IFN 誘導性遺伝子 (IFN-stimulated gene; ISG) の発現を誘導する。このような着床期における *ISG15* 発現の増加は、末梢血白血球でも見られることから、採血による早期受胎判定技術に応用できることが期待されている。しかしながら、判定精度の低さから実用化には至っていない。一方で、胎子に損傷を与える可能性があることから、ISG 発現が高い子宮内膜組織の採材も困難である。そこで本研究では、低侵襲的に採材可能なウシ子宮頸管粘膜組織 (Cervical Mucosal Fluid; CMF) と、膣深部粘膜組織 (Vaginal Mucosal Fluid; VMF) において、ISG として代表的な *ISG15* の遺伝子発現動態を調べた。

2. 方法

発情検出後、人工授精を実施し、授精後 30 日および 60 日に実施された妊娠鑑定結果に従って、妊娠ウシと非妊娠ウシを選定した。妊娠、または非妊娠ウシそれぞれから、CMF および VMF の採材を、胚の伸長期である授精後 14 日 (E 期)、着床前である 17-19 日 (M 期)、および着床後の 24, 25 日 (L 期) の 3 期間に分けて行った。採材に際して、供試牛の外陰部を逆性石鹼水溶液で洗浄し、70%エタノールで消毒した。サンプルは、CMF として外子宮口から 3 cm ほど奥の子宮頸管内腔、VMF として膣深部である外子宮口突起の側面部分、それぞれの粘液を含む粘膜組織を綿棒にて採取した。得られたサンプルから total RNA を抽出し、*ISG15* の遺伝子発現動態を解析した。

3. 結果と考察

ISG15 発現は、CMF および VMF ともに、胚からの IFNT の分泌がピークとなる M 期で非妊娠ウシと比較して妊娠ウシで有意に増加した。また、妊娠ウシ CMF において、時期ごとの *ISG15* 発現は E 期から M 期にかけて増加し、M 期から L 期にかけて減少した。このことから、ISG 発現を指標とした早期受胎判定は、授精後 17 日前後で有効であることが示された。また、*ISG15* の時期依存的な発現動態が子宮内における IFNT の分泌動態と一致したことから、CMF および VMF において、*ISG15* 発現は IFNT によって誘導されたことが示唆された。

4. 結論

本研究結果より、ウシ子宮外組織における *ISG15* 発現は、胚由来因子 IFNT に誘導されることが示唆され、CMF および VMF における *ISG15* 発現は、人工授精後 17-19 日で早期受胎判定に応用可能であることが示された。