

Studies on the Modulation of Genes by Embryo-Secreted Factors in the Preimplantation Rat Uterus

山上, 一樹

<https://hdl.handle.net/2324/1654944>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 山 上 一 樹

論文題名 : Studies on the Modulation of Genes by Embryo-Secreted Factors
in the Preimplantation Rat Uterus
(胚由来因子による着床前ラット子宮の遺伝子発現制御に関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類の着床は胚と子宮の相互作用により成立するが、子宮が胚を受け入れる期間、いわゆる“着床ウィンドウ”が開く期間は厳密に制御されている。近年、着床前の胚が分泌する胚由来因子が着床ウィンドウの確立に関与していることが示唆されており、その分子基盤の確立における胚の機能が注目されている。しかしながら現在まで、子宮において胚に応答して発現が制御される遺伝子（胚性シグナル応答遺伝子）は未だ明確に同定されておらず、その結果として子宮機能を制御する胚由来因子についてもほとんど解明されていない。胚-子宮内膜コミュニケーションにおける胚性シグナル応答遺伝子および胚由来因子を明らかにできれば、着床を人為的に制御して受胎率を向上させることが可能となる。そこで本研究では、着床ウィンドウの分子基盤を明らかにすることを目的に、子宮において胚由来因子に制御される胚性シグナル応答遺伝子の検索を行い、実際に子宮の遺伝子発現を制御し得る胚由来因子の同定を試みた。

はじめに、胚由来因子の効果を人為的に制御し得る系として着床遅延ラット子宮を解析に用い、RNA シーケンス解析により胚性シグナル応答遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、偽妊娠対照区と比較して、着床遅延子宮において 10 個の遺伝子 (Areg, Calca, Car3, Cited1, Fxyd4, Irg1, Lamc3, Slc13a5, Slc5a8, Sulfl) の発現増加および 4 個の遺伝子 (Aldh1a1, Krt19, Prl3c1, Prl8a2) の発現抑制が認められた。本研究では特に発現増加を示した遺伝子に着目した。また、着床期の通常妊娠子宮と比較した結果から、Car3, Cited1, Irg1, Slc13a5 および Slc5a8 の 5 遺伝子は着床遅延特異的遺伝子であると考えられ、以降の解析から除外した。RNA シーケンス解析の結果を確認するために、real time qPCR 解析を行った。その結果、Areg, Calca, Fxyd4, Lamc3 の遺伝子発現は対照区と比較して高い値を示し、着床遅延子宮における Sulfl の発現は有意に高い値を示した ($P<0.05$)。

ついで、胚由来因子による子宮遺伝子発現制御をより明確にするために、胚培養上清の子宮腔内投与実験を行った。その結果、Lamc3 および Sulfl の発現が、胚培養上清投与子宮で有意に増加した。これまでの結果から、Lamc3 および Sulfl は胚由来の分泌性因子によって子宮での発現が調節される胚性シグナル応答遺伝子であると結論した。免疫組織化学的検索の結果、SULF1 は子宮において上皮、間質、筋層を含む全ての器官に局在することが示された。子宮における Sulfl の発現は過去に報告が無く、本研究が初めての報告となる。

さらに、子宮における Lamc3 および Sulfl 発現を制御する胚由来因子の検索に取り組んだ。本研究では線維芽細胞増殖因子 4 (FGF4) に注目した。FGF4 はマウス初期胚において発現し、ヒト胚盤胞培養上清中において検出されることが報告されている。胚が産生する FGF4 は胚の生存や分化への関与が報告されているが、子宮に対する機能については未だ報告されていない。本研究では、FGF4 による子宮遺伝子発現制御を解析した。ラット 8 細胞期胚において FGF4 の遺伝子発現が認められた一方で、胚培養上清の western blotting 解析において、胚から培養上清への FGF4 の分泌は検出されなかった。加えて、リコンビナント FGF4 の子宮腔内投与実験の結果、FGF4 は子宮の Lamc3

および *Sulf1* の発現に影響を及ぼさなかった。FGF 受容体アンタゴニスト (SU-5402) を妊娠子宮腔内に投与しても子宮の遺伝子発現に影響しなかった。一方で、リコンビナント FGF4 が培養子宮内膜細胞遺伝子発現に及ぼす影響を解析した。培養子宮内膜上皮細胞に対する FGF4 処理の影響は認められなかったが、FGF4 は培養子宮内膜間質細胞における *Sulf1* 発現を誘導した。これらの結果から、FGF4 は胚由来因子として着床前には機能しない一方、胚の接着浸潤後に子宮の遺伝子発現を制御することが示唆された。

以上の結果から、着床ウィンドウ開花期における胚性由来因子による子宮遺伝子発現制御機構の存在が明らかとなった。その指標となる子宮側の胚性シグナル応答遺伝子として *Lamc3* および *Sulf1* を同定した。これらの遺伝子を応答マーカーとして用いることにより、着床ウィンドウの成立を制御し得る胚由来因子を検索することが可能となった。これらの研究成果は、哺乳類着床過程における胚-子宮コミュニケーション機構の解明を大きく前進させる新たな概念を提示するものとする。