



Title	ウシ胚由来因子インターフェロン $\tau$ の子宮頸部への移行および生体防御への関与 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	國井, 宏樹
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14816号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/85465">https://hdl.handle.net/2115/85465</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Kunii_Hiroki_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 國井 宏樹

## 学位論文題名

### ウシ胚由来因子インターフェロン $\tau$ の子宮頸部への移行および生体防御への関与

着床前のウシ胚が時期特異的に分泌するインターフェロン $\tau$  (IFNT) は、黄体の維持にはたらし、妊娠の認識および成立に貢献する。しかし、黄体の維持により妊娠の継続に必須の血中プロゲステロン (P4) 濃度が増加する着床前時期は、母体の免疫力が低下し、病原体が腔から子宮頸管を介して子宮内へ感染する上行性感染のリスクが懸念される。従って、着床前胚は IFNT の分泌により、自身の生存に必須である機能黄体の維持を実現するが、その結果自身を脅かす上行性感染のリスクを増加させる。一方で、IFNT は抗ウイルス活性を持つインターフェロン (IFN) の一種として知られているが、IFNT が着床前時期の子宮内外組織において生体防御因子として機能する報告はない。そこで本研究では、IFNT が子宮頸部へ移行し、上行性感染に対し生体防御因子として機能することで、機能黄体の維持と上行性感染リスクの抑制を両立すると仮説を立て、これを立証するために、子宮頸部組織での IFNT の検出、ならびに IFNT の免疫学的機能を子宮組織のみならず子宮頸部組織も含めて探索することを目的とした。

#### i) 子宮頸部における IFNT の検出と ISGs 発現誘導機構の解析

IFNT は胚から分泌された後、子宮内膜に作用してインターフェロン誘導性遺伝子 (ISGs) 発現を誘導する。このような着床前特異的な ISGs 発現誘導という現象は、これまでに子宮頸部粘膜組織 (CMM) でも報告されていた。しかし、IFNT が子宮外生殖器に存在することを直接示した報告はなく、CMM での ISGs 発現誘導の機序は不明である。そこで、IFNT は子宮内に留まるのみではなく、子宮頸部にまで移行し、子宮頸部組織に作用することで ISGs 発現を誘導すると仮説を立て、子宮頸部組織における IFNT の検出を試み、I 型 IFN の主要なシグナル伝達経路である JAK-STAT 経路の活性化状態について検証した。その結果、CMM における IFNT は、胚からの IFNT 産生が顕著となる妊娠 18 日目において検出され、妊娠 14 日目、妊娠 25 日目、および非妊娠ウシでは検出されなかった。JAK-STAT 経路関連因子の発現も同様に、非妊娠ウシと比較して妊娠 18 日目の CMM で、遺伝子およびタンパク質発現いずれも顕著であった。以上のことから、胚から分泌された IFNT は子宮内に留まらず、子宮頸部に移行することが初めて示された。また、移行した IFNT は、子宮頸部組織において JAK-STAT 経路を介し ISGs 発現を誘導することが明らかとなった。

#### ii) 子宮内膜および子宮頸部における I 型 IFN シグナル調節機構の比較解析

IFNT の子宮頸部への移行と生体防御因子としての役割を検証するためには、子宮頸部組織における IFNT への感受性および応答性について、既に研究知見のある子宮内膜組織と比較しながら評価する必要がある。そこで、妊娠ウシ子宮内膜および子宮頸部組織における IFNT 存在量、I 型 IFN シグナルの活性化状態、および IFNT 受容体発現を比較解析した。また、IFNT 感作を行った子宮内膜および子宮頸部由来の組織または上皮細胞を用いて、両組織の IFNT 応答性の差異を比較解析した。妊娠 20 日目のウシ子宮内膜および子宮頸部組織では、子宮頸部組織と比較して子宮内膜組織で顕著に多く

IFNT が検出された。一方で、I 型 IFN シグナルの活性化状態と相関のあるリン酸化 STAT1 の両組織における発現は同程度であった。このことから、子宮頸部組織は、IFNT 存在量が少量であるにも関わらず、IFNT が豊富に存在する子宮内膜組織に匹敵する I 型 IFN シグナルを誘導できる機構があると考えられた。そこで、妊娠 20 日目のウシ子宮内膜および子宮頸部組織で、IFNT 受容体タンパク質発現を解析したところ、子宮頸部組織において子宮内膜組織よりも顕著な発現がみとめられた。また、非妊娠ウシ由来の子宮内膜および子宮頸部上皮細胞での IFNT 感作実験の結果、子宮頸部上皮細胞は、子宮内膜上皮細胞と比較して ISGs の相対発現量が有意に高かった ( $p < 0.05$ )。このことから、子宮頸部組織は、子宮内膜組織と比較して IFNT に対する応答性が高いことが示された。さらに、I 型 IFN シグナルの抑制因子である *SOCS1*、*SOCS2*、および *SOCS3* 発現は、子宮内膜組織では妊娠により誘導されることが報告されている一方で、本研究では、子宮頸部組織においていずれも妊娠による誘導はみとめられなかった。このことから子宮頸部組織では、妊娠時の子宮内膜組織で起こる顕著な *SOCS* 発現がみられず、その結果 IFNT に対する応答性が子宮内膜組織と比較して高まると考えられた。これらの結果は、着床前子宮頸部組織における I 型 IFN シグナル誘導の重要性を示唆しており、子宮頸部に移行した IFNT が I 型 IFN シグナルを介した機能を果たす可能性を支持するものといえる。

### iii) IFNT が子宮頸部組織で担う役割の検証

子宮頸部組織は、子宮内膜組織と比較して IFNT に対する応答性が高く、生体においても少量の IFNT から、子宮と同等の I 型 IFN シグナルを誘導する機構があることが示された。このことから、IFNT は子宮頸部において、I 型 IFN シグナルの上方制御因子として重要な役割を担う可能性が考えられる。しかし、子宮頸部に存在する IFNT が、子宮頸部組織の遺伝子発現プロファイルに与える影響は未解明である。そこで、人工授精後 18 日の非妊娠および妊娠ウシ CMM で網羅的な遺伝子発現解析を実施した。その結果、両群間で 278 の遺伝子が発現変動し、そのうち 64.7% が IFN により誘導される既知の因子であることが明らかとなり、妊娠による CMM 遺伝子発現プロファイルの変化に IFNT が関与することが示唆された。また、エンリッチメント解析の結果、免疫応答および生体防御関連の GO ターム、ならびにパスウェイが抽出された。このことから、IFNT は子宮頸部組織に作用して生体防御因子として機能する可能性が示された。そこで、生体防御機構に重要な役割を果たす補体に着目した。補体因子 C3 は、C3 転換酵素による切断を受けることにより活性化し、生体防御としての役割を担う免疫細胞の貪食能を促進する。そこで、子宮頸部上皮細胞での C3 発現を解析したところ、遺伝子およびタンパク質レベルで恒常的に発現していることが明らかとなった。さらに、子宮頸部上皮細胞を IFNT で感作すると、C3 の活性化断片の存在がみとめられたことから、子宮頸部に移行した IFNT は、子宮頸部上皮細胞に発現する C3 の活性化に関与することが示された。このことから、着床前胚は IFNT の分泌と子宮頸部上皮細胞に発現する C3 の活用により、子宮頸部組織において上行性感染を防御している可能性が示された。

以上の結果から、着床前胚は IFNT の分泌により、妊娠の継続に必須である黄体機能を維持すると同時に、子宮頸部組織に作用して生体防御因子として働くことにより上行性感染リスクの低減にも寄与することが初めて示唆された。