



Title	ウシ胚由来因子インターフェロン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_review.pdf, 審査の要旨



## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏名	國井宏樹
審査担当者	主査	准教授	川原 学
	副査	教授	上田宏一郎
	副査	教授	西邑隆徳
	副査	教授	高橋昌志(国際食資源学院)
	副査	助教	唄 花子

## 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

本論文は和文 116 頁, 図 34, 表 9、5 章からなり, 参考論文 1 編が付されている。

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き、妊娠の成立に貢献する。一方で、黄体維持により妊娠の継続に必須の血中プロゲステロン濃度が増加する着床前時期は、母体の免疫力が低下し、病原体が膣から子宮頸部 (以下頸部) 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。加えて、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 が着床前時期に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 が子宮内から頸部へ移行し、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、IFNT の免疫学的機能を子宮組織のみならず頸部組織も含めて探索することを目的とした。

### 1. 子宮頸部におけるインターフェロン $\tau$ 存在の証明とインターフェロン誘導性遺伝子の発現誘導機構の解析

頸部における 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、人工授精後 18 日目の妊娠頸部のみにおいて、IFNT が検出された。I 型 IFN によって活性化される JAK-STAT 経路関連因子の発現も同様に、人工授精後 18 日目の妊娠頸部で有意に増加した。本結果より、着床前胚から分泌された IFNT は、これまで考えられていた子宮組織に作用する妊娠認識への関与のみならず、頸部へも移行し、JAK-STAT 経路を介して ISGs 発現を誘導することが明らかとなった。

### 2. 子宮内膜および子宮頸部における I 型インターフェロンシグナル調節機構の比較

子宮内膜および頸部における IFNT の存在量および IFNT 応答性の差異を比較解析した。その結果、妊娠 20 日目の IFNT 検出量は、子宮内膜組織と比較して頸部組織で顕著に少量であった一方、I 型 IFN シグナルの活性化状態と相関のあるリン酸化 STAT1 の発現は両組織で同程度であった。このことから、頸部組織は、IFNT

存在量が少量であるにも関わらず、IFNT が多量に存在する子宮内膜組織に相当する I 型 IFN シグナルの誘導機構の存在が考えられた。そこで、妊娠 20 日目の子宮内膜および頸部組織で、IFNT 受容体タンパク質発現を解析したところ、頸部組織で子宮内膜組織よりも顕著な発現がみとめられた。併せて、非妊娠ウシ由来の子宮内膜および頸部上皮細胞での IFNT 感作実験の結果、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。これらのことから、頸部組織は、子宮内膜組織と比較して IFNT に対する高い応答性を有することが示された。これらの結果は、着床前頸部組織において I 型 IFN シグナルが誘導されることの重要性を示唆しており、頸部に移行した IFNT が I 型 IFN シグナルを介して機能を果たす可能性が提示された。

### 3. インターフェロン $\tau$ が子宮頸部で担う役割の検証

人工授精後 18 日の非妊娠および妊娠頸部組織器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、妊娠による頸部組織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と活性化し、免疫細胞による貪食を促進する。そこで、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た。さらに、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、頸部に移行した IFNT は、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。このように、着床前胚は IFNT の分泌と頸部上皮細胞に発現する C3 の活用により、頸部組織において上行性感染を防御する可能性が提示された。以上から、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を維持すると同時に、頸部組織に作用して生体防御因子としてはたら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示唆された。

以上、本研究では、反芻動物胚が産生する妊娠認識物質である IFNT は、頸部へ移行し、子宮内とは異なった様式を有する新しい知見を得ることができた。本研究は、妊娠認識機構に関する理解ならびに、早期妊娠診断技術開発を含めた繁殖生理研究に大きく寄与するものである。

よって審査員一同は、國井宏樹氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。