

ウシ子宮の胚受容能力に及ぼす  
暑熱 - 酸化ストレスの影響評価とストレス防除

北海道大学大学院農学研究院・助教 唄 花子

■ 目的

夏季の高温は、家畜の生産性に悪影響を及ぼす。現在までに、母体卵巣・卵管組織、初期胚発生への影響については研究が進んでいるが、子宮組織への影響に関する知見はない。反芻動物では、胚が産生するインターフェロン・タウ(IFNT)が、子宮上の受容体(IFNAR)を介して作用し、黄体退行を抑制することにより妊娠成立に寄与するが、暑熱ストレスが本機構に与える影響についての知見も少ない。本研究では、暑熱負荷が子宮の胚受容能力に及ぼす影響を調べるため、IFNARやIFN応答性因子(Interferon stimulated genes, ISGs)の発現を解析するとともに、IFNT処置のタイミングによる反応性の差異について検証することを目的とした。

■ 方法

1. 子宮内膜上皮細胞の単離・培養：屠場よりウシ子宮組織を採取し、組織片培養法により子宮内膜上皮細胞を単離・培養した。得られた5回の継代以内に以下の実験に使用した。
2. 暑熱負荷処理：対象区(Cont.)をウシの平常時体温である38.5℃、暑熱区(Heat stress, HS.)を暑熱時の体温である40.5℃と設定し、3, 6, 12時間(HS. 3h, 6h, 12h)の暑熱負荷を行った。
3. IFNT処置：IFNT処置のタイミングの違いによる影響を評価するため、以下の実験を行った。  
3-a. 暑熱負荷とIFNT処置を同時に行った場合：対象区(HS. 0h)および12時間の暑熱負荷を行う暑熱区(HS. 12h)に対し、それぞれIFNT処置区(IFNT+)および無添加区(IFNT-)を設定した。  
3-b. 暑熱負荷後にIFNT処置を行った場合：12時間の暑熱負荷を行った後、IFNT処置区(IFNT+)および無添加区(IFNT-)を設定し、さらに12時間培養した。
4. mRNA発現解析：暑熱ストレスの指標として熱ショック性タンパク質(HSP)の発現を、IFNT応答性を評価するため、IFNAR, ISG15の発現をReal-Time PCRにより解析した。
5. 統計解析：StatViewを用いて多重比較を行った。危険率が5%以下を有意差有りとみなした。

■ 結果および考察

1. HSPの発現変化：暑熱負荷によりHSP27およびHSP60は全ての時間区で、HSP70は暑熱負荷3時間、HSP90は暑熱負荷6および12時間で発現が有意に上昇した。以降の実験は、多くのHSP発現上昇がみとめられた暑熱12時間負荷を十分とみなして行った。
2. IFNAR, ISGの発現変化：子宮細胞の胚受容能力を評価するため、IFNAR1, IFNAR2, ISG15の発現をReal-Time PCRにより解析した。IFNARの発現は、暑熱負荷およびIFNT処置の有無による発現変化はみとめられなかった。ISG15の発現はIFNT処置により上昇したが、暑熱負荷による影響はみとめられなかった。この結果は暑熱とIFNT処置を同時に行った場合においても、暑熱負荷後にIFNT処置を行った場合においても同様であった。本研究において、暑熱負荷が母体子宮に与える影響を示す結果は得られなかった。しかし、IFNT処置によるISGの発現量にはばらつきが大きかったため、今後は発情ステージを統一するなどの対策をとり、暑熱による影響を再検証したい。また、検討数を増やすとともに、他のISGsについても検証を続けたい。

■ 結語

本研究結果から、暑熱負荷による母体子宮への影響を示す結果は得られなかった。今後は、より実験の精度を高め、暑熱による影響を再検証したい。