
新しく発見したウシ子宮の精子センシングシステムの 制御を活用した繁殖技術への応用

帯広畜産大学グローバルアグロメディスン研究センター・教授 宮本 明夫

■ 目的

高泌乳牛の受胎は100%子宮内への凍結精液による人工授精(AI)で成立し、これは現在も世界最大の貢献度をもつ繁殖技術である。AIされた精子は大部分が子宮内で排除され、ごく少数の精子が受精の場である卵管に行きつく。高泌乳牛では大量の乳生産のための代謝ストレスから、母体の免疫機能低下により子宮内膜炎となり受胎性の低下を招く。私たちは、精子のウシ子宮上皮への結合が、AI時に子宮内で起きるTh1型急性炎症カスケードを誘導することを初めて実験的に証明した。本研究は、ごく最近に発見した「ウシ子宮のTLR2を介した精子センシングシステム」を、特異的なアンタゴニストを利用して抑制し(技術的アプローチ)、ウシ子宮内に備わる精子認識と炎症反応メカニズムについて、*in vitro*系と生体子宮内レベルで調べ、繁殖技術応用の可能性を評価することを目的とした。

■ 方法

1. 2つのバイオアッセイによる検証「子宮の精子センシングとLPSによる過剰炎症反応」(*in vitro*): 既に確立している子宮上皮細胞培養系(分子レベル)と、現在、確立に取り組んでいる新鮮な子宮小片の*ex-vivo*器官培養系(生理的な相互作用)の2つの評価法を駆使して、精子の子宮上皮表面でのコミュニケーションを多面的に解析した。
2. TLR2アンタゴニストによる精子センシングで誘導される炎症の抑制(*in vitro*): 培養系
3. ウシ生体モデル子宮内での炎症反応のリアルタイム検証(*in vivo*): ウシへの人工授精直後の子宮内炎症反応を、カテーテル微小灌流とサイトブラシで得た試料を解析し、精子と好中球の出現時間や、細胞片の炎症性サイトカイン遺伝子発現を時間軸で詳細に調べた。

■ 結果および考察

1. 子宮上皮細胞培養系において、活発な精子の上皮表面への接着が引き起こす弱い炎症反応は、TLR2アンタゴニストによって大きく抑制された。同時に、接着精子数も減少した。
2. 新規の子宮小片の*ex-vivo*器官培養系を確立した。精子が子宮腺に5分以内に侵入を開始して急性の炎症反応を誘導することを発見した。精子が侵入した子宮腺の上皮細胞層は炎症性サイトカインTNF α を発現しており、子宮小片のTNF α mRNA発現増加と一致した。
3. ウシへのAI直後の1hで、成熟卵胞側の子宮角上部を多数の精子が通過しており、この時、好中球は全く出現していなかった。6h後には精子は子宮内で少数しか見当たらず、一方、好中球は子宮角、子宮体ともに極めて多数みられた。

今回の研究結果から、ウシ子宮上皮細胞の精子認識システムにはTLR2が深く関わっていることを初めて示し、精子が子宮腺に侵入して急性の炎症カスケードを誘導することを発見した。さらに、ウシ生体モデルで、AI後に多くの活発な精子は1hで既に子宮角を通過して卵管に向かっており、精子が誘導する炎症反応は6h後に起きることが明確になった。

■ 結語

今回の成果は、ウシ子宮上皮がAIされた精子を認識し、弱い炎症反応を誘導するメカニズムを明確に示したが、今後は子宮内膜炎(LPS)との相互作用について検証する予定である。