

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)で成立する。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、AI 時に精子のウシ子宮上皮への結合が、子宮内で 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 (ant-TLR2) を利用して抑制し、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* 系での評価に基づき、必要に応じて生体子宮内レベルでも調べ、繁殖技術応用の可能性を評価することを目的とした。子宮内膜炎のモデルとして以下の 2 つの焦点を検証した：①子宮内膜炎で見られる濃度の内毒素 LPS による炎症と精子センシングによる炎症の相互作用の可能性 ② ant-TLR2 を利用して LPS と精子による異常な子宮炎症反応を抑え、精子センシングの正常反応の回復効果の可能性

■ 方 法

1. LPS と精子の誘導する過剰炎症反応の相互作用の検証 (*in vitro*)：子宮内膜炎で見られる濃度の LPS (0.1-1 μ g/mL) と精子の子宮上皮表面での炎症誘導の相互作用を、子宮上皮細胞培養系 (BUEC；遺伝子レベル) において検証した。
2. 子宮上皮の炎症作用と TLR2/TLR4 の関係の検証 (*in vitro*)：BUEC 培養系によって、子宮内膜の炎症誘導について TLR2 アゴニスト (Pam) と TLR4 アゴニスト (LPS) による詳細な比較を行った。ant-TLR2 と LPS の相互作用も検証した。
3. ウシ生体モデル子宮内での LPS 刺激による炎症反応の ant-TLR2 による抑制効果の検証 (*in vivo*)：上記の BUEC 培養系で得た結果から、検証は行わないこととした。

■ 結果および考察

1. 子宮上皮細胞培養系において、子宮内膜炎に相当する LPS (0.1-1 μ g/mL) は強い炎症反応を誘導した。本来、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、LPS (0.1-1 μ g/mL) の強い炎症作用でマスクされ、精子と LPS の相互作用は全く起こらなかった。
2. BUEC 培養系によって、TLR2 アゴニスト (Pam：10-1000ng/mL) と TLR4 アゴニスト (LPS：0.1-10ng/mL) による子宮内膜の炎症誘導について濃度と時間依存性の反応を比較検討した。その結果、TLR2 刺激は 1h が炎症反応のピークであり 6h に向けて鎮静化するのに対して、TLR4 刺激は 3h で始まり 6h に向けて増大することがわかった。同等の炎症誘導には、TLR2 刺激は TLR4 刺激の 100 倍濃度のアゴニストが必要であった。さらに、精子が誘導する弱い炎症反応のパターンは、TLR4 活性化によるものよりも、むしろ TLR2 活性化による炎症反応により似通っていた。LPS 10ng/mL の炎症誘導は ant-TLR2 では抑制できなかった。

今回の研究結果から、子宮内膜炎に相当する LPS (0.1-1 μ g/mL) は強い炎症反応を誘導し、精子が誘導する弱い炎症反応との相互作用は起きないことがわかった。TLR2 刺激と TLR4 刺激による子宮上皮の炎症誘導の様相は大きく異なり、焦点である LPS の TLR4 刺激による炎症誘導は ant-TLR2 では抑制できなかった。

■ 結 語

ウシ子宮内膜炎で見られる濃度の LPS は極めて強い炎症反応を誘導するので、精子による弱い炎症反応との相互作用は起こらないことがわかった。この炎症反応は TLR2 遮断では抑制できなかった。今後、潜在性子宮内膜炎の主要因であるグラム陽性菌由来の TLR2 リガンドであるペプチドグリカンについて、詳細に調べる予定である。