
栄養膜細胞から分泌される 未知の着床誘導タンパク質の機能解析

東海大学総合農学研究所分子繁殖科学研究室・特任助教 松野 雄太

■ 目的

反芻動物においてインターフェロンタウ(IFNT)が妊娠の維持に必須である分泌因子として同定されている。IFNTは黄体の分解を防ぎ、妊娠の維持に必須の物質である。しかし、IFNTの応用によって着床を誘導することはできず、受胎率の大幅な向上には未だ至っていない。

近年、様々な研究から着床を誘導する未知の因子の存在が示唆されているが、その実態は明らかとなっていない。そこで本研究は着床期の栄養膜細胞において高発現する機能未知遺伝子のうち、分泌型タンパク質と予想される機能未知遺伝子を探索し、さらに子宮内膜細胞に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

■ 方法

公的データベースに登録されているヒツジ栄養膜細胞のRNAシーケンスデータを用い、妊娠12, 14, 16, 及び20日目における発現量上位100種類の遺伝子から機能未知遺伝子(発現配列タグ;EST)を抽出した。各々のESTについて、翻訳産物のアミノ酸配列を解析し、タンパク質機能を計算した。分泌型タンパク質と推測された機能未知遺伝子について、類似配列遺伝子を探索した。さらに、機能未知遺伝子をクローニング、その組換えタンパク質を子宮内膜細胞に添加培養し、RNAシーケンス解析を用いて子宮内膜細胞に及ぼす影響を解析した。

■ 結果および考察

上記の方法より、既知遺伝子の他に合計91種類未知遺伝子が高発現していることを発見した。また、少なくとも4種類が分泌型タンパク質であることが推測された。

これら4つの未知遺伝子のうち、3種類がリン脂質分解阻害遺伝子に、1種類がインターフェロン遺伝子に類似することが明らかとなった。

ヒツジ栄養膜細胞のcDNAを鋳型として、リン脂質分解阻害遺伝子に相当する配列をクローニングした。タンパク質発現ベクターにサブクローニングし、Hisタグ融合タンパク質として組換えタンパク質を作製・精製し、ウシ子宮上皮細胞、及びウシ子宮間質細胞に添加培養した。

RNAシーケンス解析の結果、組換えタンパク質の添加によって、ウシ子宮上皮細胞において発現が認められた17,342遺伝子のうち35遺伝子の発現量が有意に変化した。一方、ウシ子宮間質細胞において発現が認められた16,619遺伝子のうち465遺伝子の発現量が有意に変化した。また、Pathway解析の結果、ウシ子宮上皮細胞では「Nicotinamide salvaging」、ウシ子宮間質細胞では「ISG15 antiviral mechanism」の経路が最も上位に検出された。

■ 結語

本研究により、ヒツジ栄養膜細胞が着床直前の時期特異的にリン脂質分解阻害遺伝子を発現することを発見し、子宮上皮細胞と子宮間質細胞に及ぼす影響の一部が明らかとなった。今後、リン脂質分解阻害タンパク質の子宮内注入やその活性制御、上記の経路を利用した子宮機能の調節によって、反芻動物の受胎率の向上への貢献が可能か検討したい。

本研究に対して助成頂いた一般財団法人旗影会の関係者の方々、審査頂いた先生方に深く感謝申し上げます。