



名古屋大学
NAGOYA UNIVERSITY



岡山大学
OKAYAMA UNIVERSITY

配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会、岡山大学記者クラブ

2024年10月28日

報道機関 各位

牛における不妊メカニズムの一端を解明 ～子宮内 microRNA が胚の細胞増殖・分化を阻害する可能性～

【本研究のポイント】

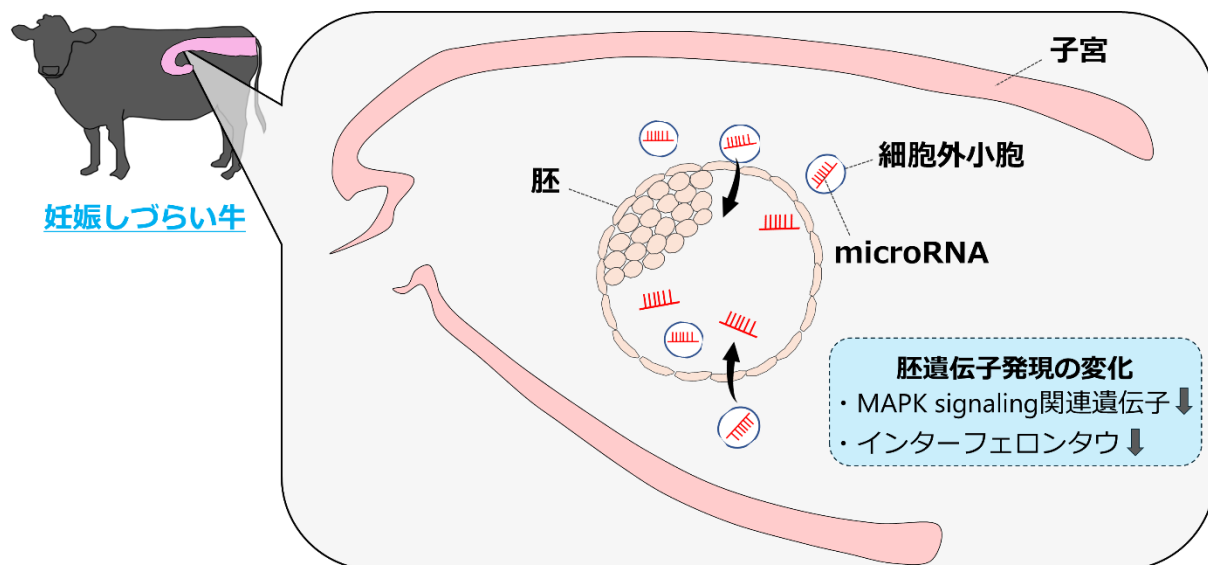
- ・牛における不妊の主な原因は着床前における胚の死滅だが、その機序は未解明である。
- ・妊娠しづらい牛と正常に妊娠する牛とでは、子宮内の細胞外小胞に含まれる microRNA の発現パターンが異なっていた。
- ・妊娠しづらい牛の子宮内で高発現だった microRNA を胚に導入したところ、MAPK シグナル経路やインターフェロンタウの遺伝子発現が抑制された。
- ・本研究は、牛における受胎率低下の要因解明や受胎率向上技術の開発に貢献することが期待される。

【研究概要】

名古屋大学大学院生命農学研究科の市川 怜 博士後期課程学生、松山 秀一 准教授らの研究グループは、岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域の木村 康二 教授との共同研究で、牛の子宮内で細胞外小胞に含まれる microRNA が胚の発育を阻害し、受胎率低下を引き起こしている可能性を見出しました。牛の胚は、受精後に卵管から子宮へ移行し、その後約3週間は子宮に着床することなく子宮内腔を浮遊しながら紐状に伸長することが知られています。そして、着床するまでの間、胚の発育は子宮腺から分泌される因子に依存しています。さらに、子宮内に存在する細胞外小胞には microRNA が含まれており、遺伝子発現を調節することで着床前の胚と母体とのコミュニケーションを媒介していると考えられています。

本研究では、不妊傾向にある牛の子宮内細胞外小胞で高発現している 8 種類の microRNA を同定しました。この 8 種類の microRNA をリポフェクション法により胚に導入すると、胚の細胞増殖、分化、代謝に関与する MAPK シグナル経路と胚から分泌されて妊娠維持に重要な役割を果たすインターフェロンタウの遺伝子発現が抑制されました。本研究成果は、牛における受胎率低下の要因解明や受胎率向上技術の開発に貢献するものと期待されます。

本研究成果は、2024年10月19日付 学術雑誌「FASEB Journal」に掲載されました。



【研究背景と内容】

畜産現場において、牛の受胎率は長年にわたり低下の一途を辿っており、この問題の解決が喫緊の課題となっています。牛における不受胎の主な原因として、着床前における胚^{注1)}の死滅が示唆されていますが、その機序は未だ明らかになっていません。牛の胚は、しばらく子宮内に浮遊しながら紐状に伸長し、やがて子宮内膜に接着、着床します。そのため着床前の胚の発育や生存は、子宮腺から分泌される酵素、成長因子、サイトカイン、栄養素、細胞外小胞^{注2)}(EVs)などの液性因子に依存しています。なかでも近年、細胞外小胞が細胞間コミュニケーションを媒介する新たな液性因子として注目されており、細胞外小胞中に豊富に存在する microRNA^{注3)}(miRNA)は、遺伝子発現を調節することで着床前の胚と母体のコミュニケーションを媒介していると考えられています。本研究では、不妊傾向にある牛の子宮内 EVs 中の miRNA が胚の遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにし、着床前に胚が死滅するメカニズムの解明を目指しました。

本研究では、まず胚盤胞期胚^{注4)}が子宮内 EVs を取り込むのかを確認するために、体外培養によって得た胚盤胞期胚に蛍光標識した子宮内 EVs を添加して観察を行いました。その結果、胚盤胞期胚は細胞内に EVs を取り込むことが示されました(図 A)。次に、発情後 7 日目^{注5)}の正常受胎牛と低受胎牛(人工授精を3回以上行っても妊娠しない個体)から子宮内腔液を採取した後、EVs に含まれる miRNA を抽出し、子宮内の miRNA の網羅的な解析を行いました。その結果、発情後 7 日目の子宮内 EVs に含まれる miRNA のうち、正常受胎牛で高発現する miRNA が 8 個、低受胎牛で高発現する miRNA が 8 個、それぞれ発見されました(図 B)。この正常受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA と低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA をそれぞれリポフェクション法により胚盤胞期胚に導入し、24 時間培養後に各胚における mRNA 発現量を RNA-seq およびデジタル PCR 法を用いて解析しました。低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA を導入した胚とコントロール胚との間には 424 の発現変動遺伝子が検出された一方で、

正常受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA を導入した胚とコントロール胚との間の発現変動遺伝子は 7 遺伝子のみでした(図 C)。さらに、低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA を導入した胚では、MAPK シグナル^{注6)}関連遺伝子とインターフェロンタウ^{注7)}の遺伝子発現が抑制されていることが示されました(図 D)。

これらの結果より、発情後 7 日目の低受胎牛における子宮内 EVs 中の miRNA は、胚に作用し MAPK シグナルを変化させることで発生を阻害するとともに、胚でのインターフェロンタウの遺伝子発現を抑制し、受胎性の低下を引き起こしている可能性が示されました。

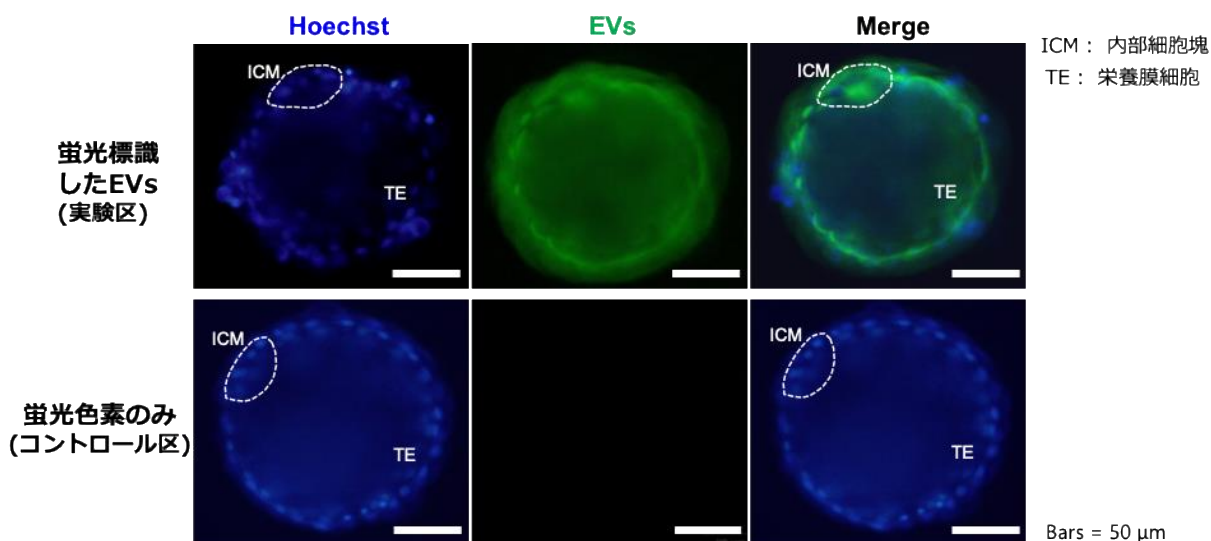


図 A. 胚盤胞期胚は子宮内 EVs を細胞内に取り込む

(左上、左下)核が Hoechst で染色されて青色蛍光を発している。(中央上)蛍光標識した EVs が取り込まれて細胞全体に緑色蛍光が観察された。(中央下)EV 標識用蛍光色素のみを処理した胚の細胞では蛍光シグナルは観察されなかった。(右上、右下)左と中央の写真を重ね合わせた像。

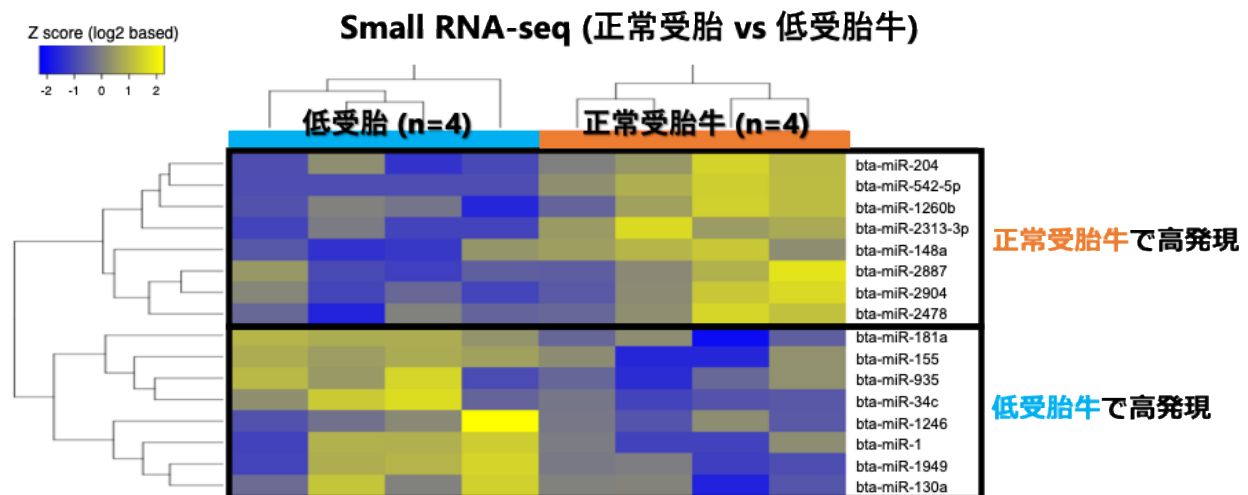
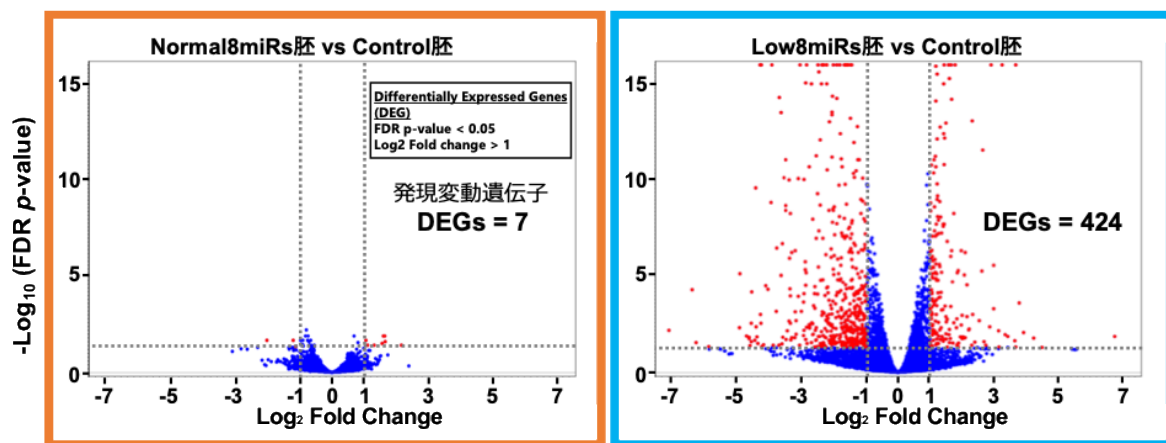


図 B. 正常受胎牛と低受胎牛の子宮内 miRNA 発現パターンは異なっていた



Pathway	Count	p-value
Metabolic pathways	68	3.79E-08
Human T- cell leukemia virus 1 infection	15	8.00E-05
MAPK signaling pathway	15	4.02E-04
TNF signaling pathway	11	1.31E-03
Cytokine-cytokine receptor interaction	12	1.02E-02
Epstein - Barr virus infection	11	2.71E-02
Pathways in cancer	16	3.00E-02
Humman papillomavirus infection	11	3.70E-02
Alzheimer disease	11	3.73E-02
Pathways of neurodegeneration	12	4.00E-02

図 C. (左上)正常受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA を導入した胚での発現変動遺伝子数
(右上)低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA を導入した胚での発現変動遺伝子数
(下)低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA の導入によって発現変動した遺伝子の Pathway 解析結果

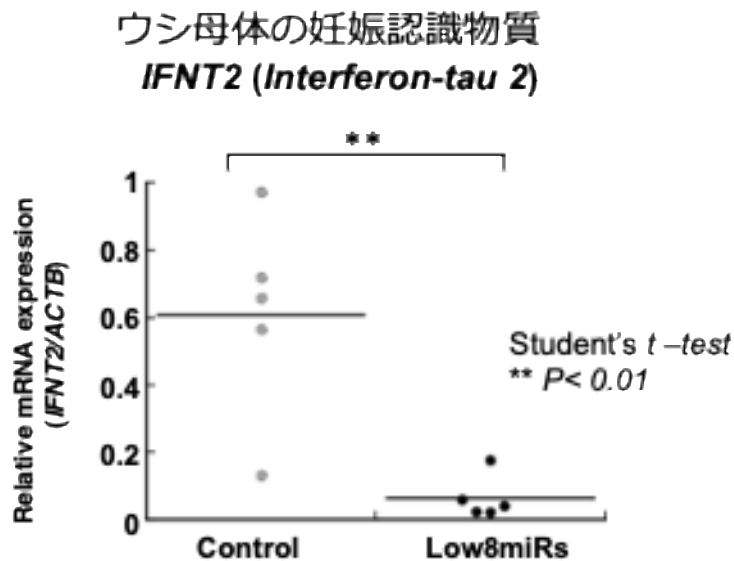


図 D. 低受胎牛で高発現だった 8 個の miRNA によって胚でのインターフェロンタウ遺伝子の発現が抑制された

【成果の意義】

本研究は、牛の子宮内細胞外小胞に含まれる microRNA が、胚細胞の増殖や分化などに関わる MAPK シグナル関連遺伝子と牛の妊娠認識や維持に役割を果たすインターフェロンタウの遺伝子の発現を抑制することを示し、着床前に胚が死滅するメカニズムの一端を解明しました。本成果は、牛における受胎率低下の要因解明や受胎率向上技術開発への応用が期待されます。

【用語説明】

- 注1) 胚：
精子と卵子が受精してできた受精卵が細胞分裂を開始した以降の個体発生のごく初期の個体のこと。
- 注2) 細胞外小胞：
様々な細胞から分泌され、タンパク質や脂質、核酸などを輸送することで細胞間コミュニケーションを媒介する。
- 注3) microRNA：
標的となる mRNA を不安定化し、翻訳を抑制することで、タンパク質の合成を制御する。
- 注4) 胚盤胞期胚：
受精後細胞分裂を繰り返し、内部に腔ができた胚で、受精後 7 日目前後の胚。牛の胚移植には胚盤胞が用いられる。
- 注5) 発情後 7 日目：
一般的に牛で胚移植が行われるタイミング。

注6) MAPK シグナル:

初期胚において、細胞の増殖、分化、代謝を制御する。発生に必須であることが知られるシグナル伝達経路。

注7) インターフェロンタウ:

牛などの反芻動物の胚から分泌され、妊娠認識や妊娠維持に重要な役割を果たす。

【論文情報】

雑誌名: The FASEB Journal

論文タイトル: Effects of intrauterine extracellular vesicle microRNAs on embryonic gene expression in low-fertility cows

著者: Rei Ichikawa¹, Koji Kimura², Sho Nakamura¹, Satoshi Ohkura¹, Shuichi Matsuyama^{1*}(所属: ¹名古屋大学大学院生命農学研究科、²岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域)

DOI: [10.1096/fj.202401728R](https://doi.org/10.1096/fj.202401728R)