

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 舘林 亮輝

論 文 題 目

Mechanism of endometrial regeneration in cattle
(ウシにおける子宮内膜再生機序に関する研究)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学准教授	松 山 秀 一
委 員	名古屋大学教授	大 蔵 聡
委 員	名古屋大学教授	東 村 博 子
委 員	名古屋大学准教授	上 野 山 賀 久
委 員	名古屋大学講師	井 上 直 子
委 員	名古屋大学特任准教授	森 田 康 広

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

世界の飢餓人口は年々増加しており、この状況を改善するためには効率的な食料供給システムと食料生産技術の開発が必要である。畜産物は栄養価が高く必須アミノ酸の重要な供給源であり、今後見込まれる畜産物需要の増大に対応するためには、乳肉の生産性を向上させる必要がある。しかしながら、ウシにおいては現在、受胎率の低下に伴い分娩間隔が延長し、生産性が低下する傾向にある。今後、効率的なウシの畜産物生産に向けて、この分娩間隔を短縮させることは重要な課題の一つとなっている。

ウシにおける不受胎の主な原因として、妊娠初期の胚死滅が挙げられる。子宮は胚の生存を左右する重要な器官であり、ウシにおいては、子宮内膜で合成、分泌される子宮乳は胚の栄養素だけでなく、酵素、成長因子、サイトカイン、ホルモン、輸送タンパクなどを含んでおり、妊娠初期における胚の生存、成長に大きく関与する。実際、ウシにおける子宮乳の構成成分や子宮内膜における遺伝子発現は受胎性により異なることが示されており、子宮の機能は受胎性に大きく影響を及ぼすと考えられている。また、一般的に経産牛は未経産牛と比べ、低い受胎率を示すことが知られている。分娩時には胎子の娩出とともに胎盤が剥離して子宮は大きく損傷を受ける一方で、その後速やかに子宮内膜が再生されて子宮の修復がおこる。分娩後の子宮内膜再生は受胎性回復のために必要な過程であることから、経産牛における低い受胎率は、分娩時の子宮内膜再生の不具合により、その後の子宮機能が悪化するために引き起こされる可能性が考えられる。また、ヒトの不妊治療の一環として子宮内膜スクラッチ法が行われており、子宮内膜を傷つけて再生させることで受胎性が改善することが報告されている。また、低受胎傾向のウシにおいて、ポビドンヨードの子宮内注入は子宮内膜上皮を剥離させるとともに子宮内膜の再生を促し、受胎率が改善することが報告されている。これらのことから、舘林亮輝は、子宮内膜再生のクオリティがその後の受胎性に影響を及ぼす可能性があるかと着想するに至った。そこで本研究では、ウシの子宮内膜再生機序の解明を目的とした。

様々な組織における恒常性維持には、多分化能を持つ組織幹細胞が重要な役割を果たすことが知られており、ヒトにおいても子宮内膜幹細胞が子宮内膜の再生に関与していることが報告されている。そこでまず、ウシ子宮内膜中に組織幹細胞が存在するかを明らかにするため、幹細胞能を持つことが報告されている **side population (SP)** 細胞のウシ子宮内膜における存在とその細胞の特徴を検討した (第2章)。SP細胞はウシ子宮内膜に存在し、脂肪細胞、骨芽細胞、上皮細胞に分化する多分化能を有することが示された。また **RNA-seq** 解析により、SP細胞の **mRNA** 発現パターンは他の子宮内膜細胞である **main population (MP)** 細胞とは異なっていることが明らかとなった。MP細胞と比較してSP細胞で有意に高発現であった遺伝子について **Gene ontology (GO)** 解析および **KEGG pathway** 解析を行なったところ、造血幹細胞・前駆細胞で亢進される核酸代謝に関わる機能や幹細胞の自己複製や分化に関わるシグナ

リング経路が検出された。これらのことから、SP細胞は組織幹細胞・前駆細胞様な特徴を有していることが明らかとなった。このSP解析は子宮内膜幹細胞・前駆細胞に関わる機序の解明に有用であることも示された。

次に、分娩後のウシ子宮内膜再生機序の解明に向けて、分娩後の子宮内膜SP細胞の変遷および子宮内膜の遺伝子発現変化を検討した(第3章)。ウシ子宮内膜細胞におけるSP細胞割合は分娩後9-11日目に最も低い値を示し、その後、時間経過とともに増加した。また、分娩後に発現が変動した遺伝子のGO解析を行った結果、分娩後9-11日目では分娩時の損傷による炎症状態であり、その後、分娩後29-32日目までに炎症は抑えられ、分娩後49-52日目までには子宮内膜再生が完了することが推察された。また、第2章で示したとおり、ウシ子宮内膜SP細胞は上皮細胞への分化能を有することから、分娩後の一時的なSP細胞割合の減少は、分娩時の子宮内膜損傷により子宮内膜幹細胞・前駆細胞の新しい子宮内膜細胞への分化により生じた可能性が考えられた。

続いて、ポビドンヨードの子宮内投与後におけるウシ子宮内膜再生機序の解明に向け、ポビドンヨード投与後の子宮内膜SP細胞の変遷および子宮内膜の遺伝子発現変化を分娩後の変化と比較、検討した(第4章)。ポビドンヨード投与後の子宮内膜細胞におけるSP細胞の割合は、実験期間を通して有意な変化は見られなかった。また、ポビドンヨード投与後と分娩後の子宮内膜で共通して発現が変化した遺伝子は非常に少なかった。これらのことから、ポビドンヨード投与後と分娩後には異なった子宮内膜再生機序が存在することが示唆され、この子宮内膜再生機序の違いは、分娩後とポビドンヨード投与時における損傷度の違いに起因する可能性が考えられた。

以上のように、舘林亮輝は、多分化能および幹細胞・前駆細胞様な遺伝子発現を持ったSP細胞がウシ子宮内膜に存在し、子宮内膜幹細胞・前駆細胞が分娩後の子宮内膜再生に関与することを明らかにした。また一方で、ポビドンヨード子宮内投与後の子宮内膜再生時には、子宮内膜幹細胞・前駆細胞は動員されず、分娩後とは異なった子宮内膜再生機序が存在する可能性を示した。本論文のこれらの知見は、畜産学・獣医学、家畜繁殖学などの研究領域に大きく貢献するとともに、ウシ子宮内膜幹細胞をターゲットとした分娩後の子宮内膜再生の促進技術や低受胎の予防、改善手法の確立など、家畜の生産性向上に寄与する成果として高く評価できる。よって、本審査委員会は、本論文が博士(農学)の学位論文として十分な価値があるものと認め、論文審査に合格と判定した。

学位報告 1 - 2

別紙 1 - 2