

審査の結果の要旨

氏名 江頭 真宏

子宮は雌性生殖において妊娠の中核を担う重要な器官である。しかし近年、産婦人科領域における不妊症や獣医領域において人工授精による妊娠率の低下など、雌性生殖をめぐる様々な問題が表出してきた。これらの問題の原因としては様々な疾患が挙げられるが、そのメカニズムは十分に解明されているとは言い難い。老化細胞は周囲組織の炎症惹起や腫瘍化を通じて、多様な疾患の原因となることが近年明らかにされている。そこで、本研究は新たな女性不妊因子としての老化細胞の可能性に焦点を当て、マウス産褥子宮をモデルに老化細胞の除去機構とその過剰な蓄積による妊娠障害、更には老化細胞の過剰な蓄積の背景となる子宮内微小環境の解明を目指したものである。

本論文は大きく5つに分かれている。

第一に、産褥子宮における老化細胞除去機構を検討した。マウス・ヒト妊娠子宮には老化細胞が存在し、その一部は分娩と共に子宮から消失する一方で、その残りは分娩後も子宮に存在することが予想される。本研究では野生型マウス産褥子宮を用いて、老化細胞を特異的に検出する SA- β -gal 染色を行い、産褥子宮着床痕に老化細胞が存在すること、またその老化細胞は分娩後約1カ月で消失することを示した。さらに、F4/80 陽性マクロファージが老化細胞に集積すること、F4/80 陽性マクロファージをマウス体内から除去することにより、老化細胞除去の遅延が生じることを示した。このことから、産褥子宮において、F4/80 陽性マクロファージ依存的な老化細胞除去機構が存在することを考察している。

第二に、産褥子宮における細胞老化誘導機序を調べた。これらの老化細胞は細胞老化誘導因子として知られる p21 を発現していた一方で、p16、p19 の発現は認められなかった。しかし、*Cdkn1a*KO マウス、*Cdkn2a*KO マウス、ダブルノックアウトマウスの産褥子宮では、特徴的な老化細胞領域の変化は確認できなかった。このことから、産褥子宮においては冗長的な老化細胞誘導機構や、未知のメカニズムが働いている可能性を考察している。

第三に、老化細胞が妊娠に及ぼす影響を考察した。*Trp53^{loxP/loxP};Pgr^{Cre/+}*マウス (p53cK0 マウス) は妊娠日齢 16 日目に少量の LPS を投与することにより、妊娠子宮に存在した過剰な老化細胞を原因として早産を引き起こすことが知られている。SA- β -gal 染色を用いた経時的観察により、この LPS 誘導性早産マウスでは分娩直後の老化細胞領域はコントロールマウスと比べて変わらないものの、分娩後の老化細胞の除去が遅延することを示した。マウスは分娩直後に交配を行った際は正常に妊娠し出産に至ることが知られているが、この LPS 誘導性早産マウスでは、分娩直後に妊娠率が有意に低下することを示した。この結果は、老化細胞による妊娠障害の可能性をはじめて示すものである。

さらに、LPS 誘導性早産マウスにおいて、マイクロアレイと GO 解析を用いて老化細胞が過剰に蓄積する子宮内微小環境を調べた。その結果、炎症性遺伝子の発現の著しい亢進を認めたほか、エストロゲンシグナリングの増強とプロゲステロンシグナリングの減弱が生じていることが明らかとなった。特に炎症性遺伝子の発現はマクロファージの性質の変化を引き起こすものであり、続く老化細胞除去の遅延を誘導している可能性を考察している。

加えて、妊娠維持において重要な卵巣ホルモンであるプロゲステロンを用いてこの LPS 誘導性早産マウスの子宮内微小環境を改善することを試みた。産褥マウスに対するプロゲステロンの投与により炎症性遺伝子の発現とエストロゲンシグナリングは低下したものの、プロゲステロンシグナリングの増強は認められなかった。このことから、LPS 誘導性早産マウスの子宮内環境の改善には、プロゲステロンは重要であるものの十分ではないことを考察している。

本研究の結果より、産褥子宮には p21 を発現する老化細胞が存在し、F4/80 陽性マクロファージによって除去されることが推測される。また、子宮内に老化細胞が過剰に蓄積することにより妊娠障害が誘起されるほか、子宮内の炎症やエストロゲンシグナリングの増強によって老化細胞除去機構の減弱が引き起こされるという一連の機序が推測される。こうした成果は産褥子宮における老化細胞除去という子宮機能維持機構の一端を解明したものであり、さらに新たな不妊因子としての老化細胞の可能性を示す重要な知見であり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。