

審査の結果の要旨

氏名 松本 玲央奈

本研究では、マウスモデルを用いて子宮の低酸素誘導因子 (HIF : Hypoxia inducible factor) の意義を調べた。子宮の HIF に着目し、子宮の HIF1 $\alpha$  欠損マウス (HIF1 $\alpha$  KO: HIF1 $\alpha$  コンディショナルノックアウトマウス) および HIF2 $\alpha$  欠損マウス (HIF2 $\alpha$  KO: HIF2 $\alpha$  コンディショナルノックアウトマウス) を作成し妊娠の表現型を調べた。さらに、HIF2 $\alpha$  KO の妊娠異常の詳細を調べた。下記の結果を得ている。

1. 野生型マウスの妊娠したメスマウスを用いて低酸素プローブである pimonidazole の着床期子宮への取り込みを検討した。pimonidazole 陽性部分は 10mmHg 以下であるため、着床直前 (Day4) の子宮内膜が低酸素であり、着床後 (Day8) 酸素化が促進されることが示された。
2. 子宮の HIF に着目し、HIF1 $\alpha$ -loxP マウスまたは HIF2 $\alpha$ -loxP マウスを Pgr-Cre マウスと交配させて子宮の HIF1 $\alpha$  欠損マウス (HIF1 $\alpha$  KO) および HIF2 $\alpha$  欠損マウス (HIF2 $\alpha$  KO) を作成し、野生型オスマウスと交配させ妊娠の表現型を調べたところ、HIF2 $\alpha$  KO からは産仔が 1 匹も得られず、HIF1 $\alpha$  KO は産仔数がコントロールマウスの 6 割程度に減少した。子宮の HIF2 $\alpha$  は着床に必須の因子であり、欠損すると着床障害になることが示された。
3. 子宮内膜管腔上皮への胚接着に重要と推測されているサイトカイン LIF の発現を検討した。Day5 の着床部位における LIF mRNA の発現を定量的 PCR で検討した。LIF mRNA 発現は HIF2 $\alpha$  KO で低下していた。LIF のシグナル伝達物質である STAT3 の活性化を評価するため、Day5 着床部位組織を用いて STAT3 の活性化の指標であるリン酸化 STAT3 (pSTAT3) の免疫染色を行った。HIF2 $\alpha$  KO の着床部位子宮内膜の STAT3 の活性化が抑制されていた。LIF 低下が HIF2 $\alpha$  KO の胚接着位置異常を引き起こしている可能性を念頭に置き、リコンビナント LIF (rLIF) を HIF2 $\alpha$  KO に投与し (Day4、12ng/mouse、腹腔内投与) 着床部位を評価した。LIF 投与により、Day5 における HIF2 $\alpha$  KO の着床位置部位は改善された。しかしながら、LIF 投与でも HIF2 $\alpha$  KO の Day8 以降の胚の組織学的検出はできず、産仔も得られなかった。子宮の HIF2 $\alpha$  は LIF 発現調節を介して、胚の子宮管腔への接着位置をコントロールしていることが示された。
4. HIF2 $\alpha$  KO において、妊娠が継続しない原因として、子宮内膜管腔上皮が消失しないことにより胚が間質に浸潤できない可能性が考えられた。子宮内膜管腔上皮は通常着床期に細胞極性を低下させること、細胞極性の低下が起こらないマウスでは着

床に異常が認められることから、子宮内膜管腔上皮の細胞極性に注目した。Day5 夕方方の着床部位の子宮内膜管腔上皮を、細胞極性のマーカーである PARD3、および E-cadherin の免疫染色で評価した。コントロールマウスでは胚接着部位の子宮内膜管腔上皮の PARD3 および E-cadherin 発現減弱が認められた。一方で HIF2 $\alpha$  KO においては、PARD3 および E-cadherin 低下を認めなかった。この結果から、HIF2 $\alpha$  KO の子宮内膜管腔上皮の細胞極性が減弱しないことが、胚が浸潤できない原因である可能性が示された。一方で、子宮内膜管腔上皮のアポトーシスは HIF2 $\alpha$  KO だけでなくコントロールマウスでもほとんど認められなかった。子宮の HIF2 $\alpha$  は子宮内膜管腔上皮の細胞極性低下と細胞の消失を誘導し、胚の子宮内膜間質への浸潤を調節していることが示された。

以上、本論文によって、妊娠における子宮の HIF の重要性が示された。HIF2 $\alpha$  KO では着床に異常を認め、胚接着位置の異常、接着部位の子宮内膜管腔上皮の消失の異常が認められた。着床のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。