

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号： 16401
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2022 ~ 2022
課題番号： 22H04277
研究課題名 レプチン受容体が脱落膜形成に及ぼす影響：翻訳抑制がもたらす妊娠プロセスの成功

研究代表者

茂川 拓紀 (Mogawa, Hiroki)

高知大学・設備サポート戦略室・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 450,000 円

研究成果の概要： マウス胚着床前後の子宮内レプチン受容体(LepR)発現を解析した結果、脱落膜形成過程の子宮でLepR mRNAの転写後調節がなされている可能性を見出した。我々は翻訳抑制因子PDCD4が子宮内LepRの発現を制御していると仮説を立て、RNAiの子宮内投与による子宮特異的PDCD4およびLepRノックダウンマウスを作製し、それぞれの表現型解析を試みた。

子宮内へのPDCD4およびLepR siRNA投与による着床数の減少は認められなかったが、それぞれの子宮で共に着床障害および脱落膜の奇形性が観察されたため、脱落膜形成過程において子宮内LepRはPDCD4と相互作用している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脱落膜形成は妊娠を成功させる上で重要なイベントであり、脱落膜形成の障害が不妊の原因となることから、その分子メカニズムの解明は不妊治療につながるため、重要である。しかし、現状として本国の不妊治療の成功率は世界最下位であることから、脱落膜形成における生理機能の解明は非常に有用である。

子宮内レプチンシグナル伝達が妊娠の様々なプロセスで、貢献していることが解っているが、脱落膜形成に関するその役割については未だ不明瞭である。そのため、脱落膜形成におけるLepRの転写後調節機構にPDCD4が関与している可能性を見出した本研究は、不妊治療法の進歩に繋がる新たな知見として支持すると考えられる。

研究分野： 動物生殖学、生理学、実験動物学

キーワード： 脱落膜形成 レプチン受容体 転写後調節機構 PDCD4 siRNA

1. 研究の目的

レプチン(Lep)/レプチン受容体(LepR)シグナル伝達は、妊娠の成立に重要な様々なプロセスに貢献していることが報告されているが、脱落膜形成に関するその役割については、不明点が多い。我々は、脱落膜形成における Lep/LepR シグナル伝達の生理機能について明らかにするために、先行研究として脱落膜形成過程の子宮内 LepR 発現を解析したところ、Lep/LepR シグナル伝達が脱落膜形成過程で機能する上で、LepR mRNA の転写後調節がなされている可能性を見出した。着床前後の子宮で LepR mRNA と同様な発現変動を示す翻訳抑制因子 PDCD4 に着目し、脱落膜形成時の子宮内 Lep/LepR シグナル伝達は、PDCD4 による LepR mRNA の翻訳抑制による PDCD4 の制御下で機能していると仮説を立てた。

本研究では、LepR および PDCD4 の RNAi を子宮内に投与した *in vivo* による子宮特異的 LepR および PDCD4 ノックダウン(KD)マウスを用いて、脱落膜形成過程における子宮内 LepR の転写後調節機構について解析を試みた。

2. 研究成果

1) LepR および PDCD4 の子宮特異的 KD マウスの作製

子宮特異的に LepR および PDCD4 を KD させるために、妊娠雌マウスを供試動物として用いた。雌雄のマウスを同居させ、翌日、膣栓が観察されたマウスを妊娠1日目(D1)とし、D3の片側の子宮内に PDCD4 もしくは LepR siRNA を投与することで *in vivo* による子宮特異的 KD マウスを作製した。なお、もう一方の子宮は、対照群として Negative Control siRNA を投与した。

2) 子宮特異的 LepR および PDCD4 KD マウスの表現型解析

D6-12の子宮を採取し、着床部位(IS)数、IS重量、HE染色および細胞増殖マーカーKi67発現を観察した。それぞれの siRNA 投与による IS 数、IS 重量および Ki67 発現は対照群との間に、有意な差が認められなかった。HE 染色による IS の形態学的変化を観察したところ、それぞれの siRNA 投与子宮において、共に脱落膜の崩壊、子宮間膜側の脱落膜過形成および初期脱落膜の形成異常が観察された。このことから、脱落膜形成過程において、子宮内 LepR は PDCD4 と相互作用している可能性が考えられた。

3) 今後の展望

RNAi の子宮内投与による KD 効率は両 siRNA とともに低下傾向を示したものの、有意差は認められなかった。今後は *in vivo* による siRNA の投与量を詳細に検討し、子宮内 KD 効率の向上を図る。加えて、子宮内 PDCD4 と LepR の関係性を明らかにし、脱落膜形成過程における子宮内 LepR の翻訳抑制機構について明らかにする。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Kuno Takahira, Shimizu Takahiro, Kawada Chiaki, Kurabayashi Atsushi, Zou Suo, Mogawa Hiroki, Tsuda Masayuki, Saito Motoaki, Inoue Keiji | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 5-Aminolevulinic acid has the potential to prevent bladder dysfunction in cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Urology | 6. 最初と最後の頁 897 ~ 904 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14928 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 都留英美, 茂川拓紀, 溝淵雅章, 津田雅之. |
| 2. 発表標題 A novel subpopulation of B1 B cells whose secretion of natural antibodies is suppressed by complexin 2. |
| 3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

| 氏名 | ローマ字氏名 |
|-------|------------------|
| 津田 雅之 | (Tsuda Masayuki) |
| 都留 英美 | (Tsuru Emi) |