

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産科学専攻（博士後期課程）
氏名	MANSOURI Alireza
審査委員署名	主査 西田 武弘 副査 宮本 明夫 副査 川島 千帆 副査 福岡 直希 副査 後藤 達彦
題目	Computational modelling for molecular dynamics of TLR2 that regulates sperm-uterine immune crosstalk in cattle (ウシの精子-子宮免疫クロストークを調節する TLR2 の分子動力学のコンピュータモデリング)
審査結果の要旨（1,000字程度）	
<p>精子は雌の生殖器官の免疫系の様々な部分と相互作用する。ウシの子宮は、出産後に細菌汚染を除去するために精密な免疫システムを備えており、同種異系である精子を攻撃し、半同種異系である胚を受け入れる。授精後、子宮は、死滅した、あるいは過剰な精子の除去のために一時的な炎症反応を引き起こす。TLR2は、精子による炎症で中心的役割を果たす。一般に免疫細胞では、自然免疫応答を誘導するには、TLR1またはTLR6によるTLR2のヘテロ二量体化を介する細胞内シグナル伝達経路の活性化が必要である。しかし、精子の接着に応答したウシ子宮内膜上皮におけるTLR2の二量体化については未知である。一方、CD44は、子宮内膜上皮への精子の接着に関与するヒアルロン酸（HA）の主要な細胞表面受容体である。本研究では、コンピュータモデリング法とin vitro実験モデルに基づく複数のアプローチを使用して、ウシ精子とウシ子宮免疫システムの相互作用の分子機構の主要部分の特定を目的とした。</p> <p>第I章では、ウシ子宮内膜上皮細胞（BEEC）培養モデルおよび子宮外植片のex-vivoモデルを駆使してTLR2二量体化経路を検証した。TLR2/1アゴニスト（PAM3）、またはTLR2/6アゴニスト（PAM2）を用いた。同時に、2つの子宮モデルにおける精子への曝露後のTLR1、2、6タンパク発現を調べた。その結果、TLR2/1シグナル伝達経路（TLR2/6ではなく）</p>	

の活性化が、子宮上皮、特に子宮腺の精子に対する弱い炎症反応に関与することが示された。さらに *in silico* アプローチからウシの TLR2 二量体化 (TLR2/1 または TLR2/6) を調べた。相同性モデリング法によってウシ TLR2 の 3D タンパク質構造を決定した。*In silico* 法での検証は、TLR2 二量体化の安定性が、ヒトやマウス種と同様にウシにおける架橋アゴニストの存在に大きく依存することを示唆した。したがって、精子の子宮上皮への接着が架橋促進の役割を持つと推察された。

第 II 章では、HA が精子と BEEC の CD44/TLR2 の間の架橋リガンドとして機能する可能性があるという仮説を立てた。まず、CD44 および TLR2 分子に対する HA の結合親和性を決定した。*In silico* モデルでは、低分子量 HA 分子が TLR2 との相互作用するのではなく、むしろ CD44 との相互作用に対して高い親和性を持つことが明らかになった。ウシ子宮内膜における HA は管腔および腺の子宮内膜上皮に局在した。さらに、BEEC は培養系で HA を分泌した。重要なことに、HA は BEEC に付着する精子の数を用量依存的に増加させ、TLR2、炎症誘発性サイトカイン (TNFA および IL1B)、ケモカイン (IL8) の mRNA 発現、および PGE 合成酵素が増加することがわかった。したがって、HA が主に CD44 との相互作用を通じて、精子の子宮上皮への接着を促進して、TLR2 を介する子宮内膜上皮の安定した免疫応答を助けると考えられた。

以上の結果から、ウシ精子が TLR2/1 ヘテロ二量体化を活性化して、ウシ子宮内膜における弱い生理的炎症反応を引き起こすことが初めて明らかになった。ヒアルロン酸は、精子の子宮内膜上皮への安定した接着を助け、この免疫クロストークを保証する役割を持つことがわかった。本現象の基礎的なメカニズムを理解することは、ウシ受胎性に関わる生理的免疫応答を活用した技術開発において重要な意味を持つと考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1 :

題目 : Sperm activate TLR2/TLR1 heterodimerization to induce a weak proinflammatory response in the bovine uterus

著者 : Alireza Mansouri, Mohamed Samy Yousef, Rasoul Kowsar, Nonoka Usui, Ihshan Akthar and Akio Miyamoto

学術雑誌名 : *Frontiers in Immunology* (巻・号・頁) (14:1158090)

発行年月 2023 年 4 月

2 :

題目 : Hyaluronan regulates sperm induced inflammatory response by enhancing sperm attachment to bovine endometrial epithelial cells via CD44: *in-silico* and *in-vitro* approaches

著者 : Mohamed Aboul Ezz†, Alireza Mansouri†, Ihshan Akthar, Mohamed Samy Yousef, Rasoul Kowsar, and Akio Miyamoto

† These authors contributed equally to this work and share first authorship

学術雑誌名 : *Frontiers in Endocrinology* (巻・号・頁) (14:1134868)

発行年月 2023 年 5 月

(別紙2)

最終試験の結果の要旨	
専攻	畜産科学専攻（博士後期課程）
氏名	MANSOURI Alireza
審査委員署名	主査 西田 武弘 副査 宮本 明夫 副査 川島 千帆 副査 福岡 直希 副査 佐藤 達希
実施年月日	令和5年8月2日
試験方法 (該当のものを○で 囲むこと)	<input checked="" type="radio"/> 口述 <input type="radio"/> 筆記
要 旨	
<p>主査および副査の4名は、学位申請者に対し、講義棟25番教室において、学位申請者本人に口頭発表による学位論文内容の説明を行わせ、その内容について質疑応答を行った。また、関連する専門知識について口頭により試問を行った。</p> <p>その結果、学位申請者が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程の修了者としてふさわしい学力および見識を有すると判断し、博士（農学）の学位を授与するに値すると判断した。</p>	