

## 11: 着床前のウシ末梢血白血球におけるサイトカインの mRNA 発現変動

畜産衛生学研究部門 宮本 明夫

メールアドレス akiomiya@obihiro.ac.jp

## 研究の概要

## 【目的】

近年、乳牛の受胎率が低下し酪農現場では大きな経済的負担をもたらしている。妊娠喪失の原因の多くは胚死滅であり、そのほとんどが着床前に集中している。妊娠の成立には、体内の免疫システム、特に免疫応答の司令塔である T 細胞の働きが関与することが報告されている。T 細胞は細胞性免疫を促進する Th1 細胞と、液性免疫を促進する Th2 細胞に分けられる。Th1 細胞は腫瘍壊死因子 (TNF $\alpha$ ) などの細胞障害性のサイトカインを産生し、Th2 細胞はインターロイキン-10 (IL-10) などの免疫寛容を促すサイトカインを産生する。ヒトやマウスでは着床完了後の妊娠中期～後期にかけて Th1 / Th2 サイトカインのバランスが Th2 優位に変化し、妊娠を維持していると考えられている。これら免疫細胞の変化はウシでは明らかではなく、またウシの胚死滅が集中する着床前でも確認されていない。以上から、本研究では人工授精から着床期まで経時的に、Th1 / Th2 サイトカインにおけるバランスの変化を調査することを目的とした。

## 【方法】

人工授精日を Day 0 として Day 40 まで血中プロゲステロン (P) 濃度測定のため採血を行った。特に着床前の Day 21 までは、血液から顆粒球 (PMN) と末梢血単核球 (PBMC) を単離し、Th1 / Th2 サイトカインのバランスの変化を検証するため、ウシ末梢血白血球における TNF $\alpha$  および IL-10 mRNA 発現をリアルタイム PCR 法により測定した。

## 【結果】

D40 で妊娠鑑定をした結果、妊娠した妊娠区が 9 頭、D21 までに発情の回帰は見られなかったが D40 までに胚死滅した胚死滅区が 5 頭、D21 までに発情の回帰が見られ未受精か胚死滅だった非妊娠区が 6 頭の 3 区に分かれた。末梢血白血球における IL-10 mRNA 発現は、妊娠牛の PBMC において Day 8 以降で他の 2 区より有意に高い値を示した。一方 TNF $\alpha$  mRNA 発現は、実験期間を通して 3 区間に差は見られなかった。つまり、ウシの妊娠成立時には着床前から Th1 / Th2 サイトカインのバランスが Th2 優位に変化し、胚に対する免疫寛容を誘導し、妊娠の成立に貢献する可能性が考えられた。