

だいぶ時間がたちましたが、今月も1月におこなわれました国際胚移植学会より2つのトピックスを紹介したいと思います。参考にいただければ幸いです。

プロゲステロンレセプター拮抗薬 RU486の早期胚の発育における胚ステージごとの影響
(原題: STAGE-SPECIFIC EFFECTS OF THE PROGESTERONE RECEPTOR ANTAGONIST, RU486, ON EARLY BOVINE EMBRYO DEVELOPMENT)

C. M. O' Meara, T. Fair, and P. Lonergan

University College Dublin, Dublin, Ireland

受胎とその維持にプロゲステロンは重要な役割を果たします。牛において、受胎後早期に血中プロゲステロン濃度が高値であると、胚の伸長が促進、インターフェロン τ 産生が増加、そして受胎率が向上すると言われています。プロゲステロンが引き起こす子宮環境の変化が、胚の伸長促進の要因であると考えられています。しかし、胚におけるプロゲステロンレセプターの機能はわかっていません。そのため、この研究ではプロゲステロンレセプターの拮抗薬(ミフェプリストン, RU486)をIn vitro条件下で発育させた胚に、様々な胚のステージおよび濃度で添加し、その後の胚発育への影響を調査しました。

IVMおよびIVFで作成した受精直後の卵子(n=2902)、2細胞胚(n=1991)および4細胞胚(n=1244)を0.0004から20mg/mlのRU486を添加もしくは添加していないSOFメディアウムで培養しました。卵割率(受精直後の卵子)、8細胞発育率(2細胞胚)および胚盤胞発育(すべての胚)はそれぞれ授精後2、3および8日に観察しました(IVFの日がDay0)。

受精直後の卵子では、0.004から0.04mg/mlのRU486存在下で卵割率と胚盤胞率が有意に減少し、0.4mg/mlでは胚盤胞率が10分の1になりました(表1-1)。また、10mg/mlでは胚盤胞への発育は完全になくなりました(表1-2)。

表 1-1. 受精直後の卵子への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	卵割率 (%)	胚盤胞率 (%)
0	81.0	33.2
0.0004	73.5	34.8
0.004	62.5	18.8
0.04	48.8	17.4
0.4	17.0	3.6

表 1-2. 受精直後の卵子への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	卵割率 (%)	胚盤胞率 (%)
0	80.8	27.6
10	7.4	2.0
20	0.3	0.0

2細胞胚では、8mg/ml 以下の濃度では8細胞もしくは胚盤胞への発育に影響はしませんでした(表2-1)。しかし、10mg/mlのRU486との培養では、8細胞および胚盤胞への発育が有意に減少しました(表2-2)。20mg/mlのRU486との培養では、8細胞発育率を減少させ、胚盤胞への発育は阻害されました。

表 2-1. 2 細胞胚への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	卵割率 (%)	胚盤胞率 (%)
0	49.8	36.2
0.4	41.2	31.6
4	36.6	33.0
8	32.4	27.9

表 2-2. 2 細胞胚への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	8 細胞率 (%)	胚盤胞率 (%)
0	64.4	30.8
10	38.1	17.8
20	16.3	0.0

同様に、8細胞胚の培養では10mg/ml以下の濃度のRU486は胚盤胞率に影響しませんでした。しかし、15または20mg/mlの濃度では胚盤胞へ発育したものはほぼ皆無でした。

表 3-1. 8 細胞胚への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	胚盤胞率 (%)
0	49.0
0.4	45.5
4	45.8
10	40.7
15	0.9

表 3-2. 8 細胞胚への RU486 の添加

濃度 (mg/ml)	胚盤胞率 (%)
0	40.5
5	32.9
10	32.2
20	0.0

まとめると、プロゲステロンとグルココルチコイドのレセプターの拮抗薬であるRU486の培養メディウムへの添加は明確なステージ特異性と濃度依存性の影響を牛胚の発育にもたらしめました。また、これはより早い発育ステージでより明確な結果となりました。

この結果より牛胚に対してプロゲステロンが直接作用していることがわかります。また、初期胚ほどプロゲステロンの作用が重要であることが明らかとなりました。つまり初期胚に十分なプロゲステロンを与えなければ、胚の発育が進まないことがわかります。胚の生産においても採卵性と血中プロゲステロン濃度との関連を調べれば、効率的な胚生産につながるかもしれません。

ウシにおいて食餌性のCLA(脂肪酸の一種)補給は黄体の遺伝子発現と血中プロジェステロン濃度に影響する

DIETARY CLA SUPPLEMENTATION AFFECTS LUTEAL GENE EXPRESSION AND PERIPHERAL BLOOD PROGESTERONE CONCENTRATION IN CATTLE

H. Stinshoff^A, E. Onnen-Luukkainen^A, S. Wilkening^A, A. Hanstedt^A, H. Bollwein^A, and C. Wrenzycki^{A, B}

^AClinic for Cattle, University of Veterinary Medicine, Hanover, Germany;

^BUnit for Reproductive Medicine, University of Veterinary Medicine, Hanover, Germany

分娩の直後、高泌乳牛の代謝の状態は負のエネルギーバランスによって支配されることが多くなります。これらの影響はすべての動物種の、とりわけ生殖器で検出され、その受胎性を損なわせています。経口での食餌脂肪の補給は乳脂量の低下に対して用いられることが多く、動物に多くのエネルギーを供給します。この研究では経口での共役リノール酸(CLA)の給与による黄体機能への影響を評価しました。

健康なホルスタイン種経産牛および未経産牛を2つの処置群(グループ1: 50gCLA 日/1頭、未経産牛2頭および経産牛6頭。グループ2: 100CLA 日/1頭、未経産牛2頭および経産牛6頭)と1つの対照群(Ct1: 0g CLA 未経産牛3頭および経産牛4頭)へランダムに振り分けました。サプリメントの給与は分娩直後から開始しました。分娩後、すべての動物は一般的な発情同期化処置を施され、分娩後59±3日にAIをおこないました。AI後、妊娠牛(グループ I :n=4; グループ II :n=4; コントロール:n=4)および非妊娠牛(グループ I :n=4; グループ II :n=4; コントロール:n=3)の黄体のバイオプシーをAIの6、13および20日後に経膈でおこないました。授精後28日目に妊娠と診断された牛は授精後42日目に再度バイオプシーをおこないました。採取した黄体組織からは、遺伝子の転写産物の相対存在量をRT-qPCRにより解析しました。

結果、CLA添加により、遺伝子転写産物 (ECE1, PTGS2, PTGFR, STARおよびHSD3B1)のダウンレギュレーションが occurred。CLAの経口補給による影響は、早期の黄体期(Day6)で示され、1日あたり100gのCLAを与えた場合は1日50gもしくはCLAがない場合に比べ、血中プロジェステロン濃度が有意に低くなりました。

まとめると、食餌性のCLA補給は黄体の遺伝子発現と機能に影響を及ぼしました。

ECE1は血管新生、PTGS2、PTGFRはプロスタグランジンの合成、STAR、HSD3B1はステロイド合成に関与している遺伝子ようです。そのため、これらの遺伝子発現の低下が黄体の機能つまりプロジェステロンの合成を低下させる可能性が考えられます。このように給与する添加剤がホルモン濃度さらには受胎性に関係する可能性があるかもしれません。

文責 白澤