

助成研究発表

〈1〉 TNFによるマウス着床前期胚のアポトーシス誘導とTGF/PI3K経路によるその抑制のメカニズム

河村 和弘

秋田大学医学部生殖発達医学講座産婦人科分野

TNFは卵管および子宮上皮より産生され、その受容体を発現している着床前期胚に作用し、アポトーシス促進因子として働くことが知られているが、その分子生物学的機構は未だ不明である。生体内では、TNF以外にもTGF alphaを含め、いくつかの成長因子が着床前期胚の発育調節に関与しており、それらの相互作用を明らかにすることが、生体内における母体由来パラクライン因子による着床前期胚の発育調節を解明するために重要と考えられる。そこで本研究では、TNFによる着床前期胚のアポトーシス誘導の分子機構を解明し、TNFによるアポトーシス誘導に対するTGF alphaの抑制作用について検討を行った。定量的real-time RT-PCRによる測定では、着床前期胚におけるTNF, TNFR2 mRNAの発現量は非常に低く、TNFR1 mRNAは未受精卵から発現しており、2細胞期で増加し、胚盤胞期から急増した。一方、定量的real-time RT-PCRおよびELISAによる子宮でのTNFの発現量はHMG投与により減少し、hCG投与でも変化せず、妊娠2（2細胞期に相当）、4日目（胚盤胞期に相当）でも低値であった。着床前期胚へのTNFの作用は、初期胚盤胞までは明らかでなく、拡張期胚盤胞以降で発育抑制、細胞数の減少が認められ、caspase 3 assayによりアポトーシスの増加が認められた。また、TNFにてアポトーシスが誘導された胚盤胞にはミトコンドリア膜電位の低下およびシトクロームCのミトコンドリアからの放出が認められた。TNFによるアポトーシス誘導はcaspase 3, 8, 9のそれぞれの抑制剤により阻害された。TGF alphaは単独で胚盤胞のアポトーシスを抑制し、TNFによるアポトーシス誘導も抑制した。TGF alphaによるTNFのアポトーシス誘導抑制作用はPI3K抑制剤により抑制された。TNFによる着床前期胚のアポトーシス誘導作用は、胚の発育段階により差があり、それは受容体であるTNFR1の発現量に依存することが推測された。また、正常妊娠子宮でのTNFの発現量は低値であり、in vivoでのTNFの胚発育への影響は少ないと考えられた。TNFはcaspase 8を介したdeath receptor外因経路およびcaspase 9を介したミトコンドリア内因経路の双方によりアポトーシスを誘導し、その作用はTGF alpha/PI3K経路により抑制されることが明らかとなった。

参考文献

- 1 . Kawamura K, et al. Tumor necrosis factor regulation of apoptosis in mouse preimplantation embryos and its antagonism by transforming growth factor alpha/phosphatidylinositol 3-kinase signaling system. *Biology of Reproduction*, 76(4): 611-618, 2007.