

— 総説 —

特集：加齢と生殖

# Senescence Associated Secretory Phenotype (SASP) 因子に着目した胚の老化とその対策

## Anti-aging approaches focusing on senescence-associated secretory phenotype (SASP) induced embryo aging

川越 雄太・河村 和弘\*

Kawagoe Yuta and Kazuhiro Kawamura\*

順天堂大学大学院医学研究科産婦人科学 〒113-8421 文京区

*Department of Obstetrics and Gynecology, Juntendo University Faculty of Medicine, 2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421, Japan*

**要旨：**世界的な不妊患者の高齢化により、老化に伴う卵子・胚の質の低下が課題となっている。卵子・胚の質の低下は、主にDNA損傷の蓄積、ミトコンドリア機能障害による酸化ストレスの増加などによって誘発される。その結果、細胞増殖能の低下と染色体の不安定性が増大し、胚の発生能の低下や染色体異数性の増加が起きる。しかし、効果的な治療法は未だ確立されていない。最近、種々のストレスによって細胞老化が誘発され、細胞周期が不可逆的に停止した老化細胞が、炎症性サイトカインやケモカインなどを分泌し、自己および周囲の細胞で炎症反応、細胞周期の停止を誘発する Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる現象を引き起こすことが報告されている。我々は最近、卵子・胚の SASP に伴って分泌される SASP 因子を同定し報告した。本稿では、細胞老化と老化に伴う卵子・胚の質の低下について概説し、特に SASP 因子の卵子・胚の質への影響と SASP 因子の抑制によるアンチエイジングについて紹介する。

**キーワード：**SASP, 卵子老化, 胚老化, CXCL5, 高齢不妊

**Abstract:** The trend of increasing age in infertile patients is becoming more common worldwide. In this situation, the deterioration of oocyte/embryo quality due to aging has become an issue in infertility treatment. Quality decline of oocytes/embryos is mainly caused by factors such as mitochondrial dysfunction, accumulation of oxidative stress and DNA damage. These factors cause a decline in cellular function, resulting in a reduction in cell proliferative capacity and an increase in chromosome instability, leading to a decline in embryo developmental potential and increasing chromosome aneuploidy. However, there is no effective treatment and it's difficult for infertility patients of advanced age to achieve pregnancy with their own oocytes. Recently, it has been reported that cellular aging is induced by various stresses, and senescent cells that irreversibly arrested their cell cycles secrete inflammatory cytokines, chemokines and growth-factors, giving rise to the senescence-associated secretory phenotype (SASP). This phenotype induces inflammatory responses and cell cycle arrest in itself and surrounding cells in autocrine and paracrine manners. We recently reported that SASP factors are also present in oocytes/embryos and are one of the causes of oocyte/embryo quality decline. This review outlines cellular senescence and the deterioration of oocyte/embryo quality associated with aging, and introduces the effect of SASP factors on oocyte/embryo quality as well as anti-aging countermeasures by suppressing the SASP factors.

**Key words:** SASP, Oocyte aging, Embryo aging, CXCL5, Infertility of advanced age

---

(受付 2022年10月5日 / 受理 2022年10月7日)

別刷請求先：〒113-8421 順天堂大学大学院医学研究科産婦人科学

\*To whom correspondence should be addressed.

e-mail: k.kawamura.aq@juntendo.ac.jp

## はじめに

社会構造の変化に伴い女性の社会進出が活発になった昨今では、日本だけでなく世界中で女性の晩婚化が進んでおり、その結果として高齢不妊患者が急増している<sup>1,2)</sup>。高齢不妊の原因として、卵巣内に残存している卵子数の減少と老化に伴う卵子の質の低下が挙げられる。特に、卵子の質の低下は受精能や胚発生の低下にも繋がる。卵子の「質・量」が共に低下することが特徴である高齢不妊患者は、自らの卵子で妊娠することは非常に困難である。

老化に伴う卵子・胚の質の低下は、DNA損傷の蓄積や、ミトコンドリアの機能障害に伴う酸化ストレスの増加など様々な因子が複雑に関与して引き起こされる<sup>3,4)</sup>。これまでに、老化による卵子・胚の質の低下を改善する方法として、卵子細胞質中へのミトコンドリアの移植<sup>5)</sup>や、培養液への成長因子の添加<sup>6)</sup>、抗酸化作用のあるサプリメントの摂取<sup>7)</sup>など様々な方法が試みられている。しかし、その効果について懐疑的な見解も多く<sup>8)</sup>、未だに確立された治療法がないのが現状である。高齢不妊症患者の治療法として最も臨床成績の良い方法は、若齢女性の提供卵子を用いた体外受精胚移植 (IVF-ET) であるが、倫理的問題や免疫不適合による妊娠合併症の増加などの医学的問題があるため、優れた治療法とは言い難い<sup>9)</sup>。したがって、高齢不妊症患者の効果的な不妊治療の開発のためには、患者自身の卵子・胚の質を改善させることが極めて重要である。

種々の要因によって質が低下した卵子・胚では、細胞機能が低下し、細胞増殖能の低下や染色体の不安定性を招く<sup>10)</sup>。特に、老化による染色体異数性卵子の増加は、胚の発生の低下による着床率の減少や流産率の増加の主因である<sup>11)</sup>。実際、40歳以上の高齢不妊患者では60%以上の胚に染色体異数性が検出され、着床率は15.4%に減少し、流産率は約50%に増加する<sup>12)</sup>。また、マウスの胚でも老化に伴う染色体異数性卵子の増加が見られるが、ヒトと比較してマウスではその割合は少なく、40週齢以上の高齢マウスでは20%程度と言われている<sup>13)</sup>。しかしヒトと同様に、高齢マウス由来胚の着床率自体は低下、流産率は増加する<sup>13)</sup>。このように、老化に伴い染色体異数性の卵子は増加するが、染色体数が正常な胚でも老化に伴い妊娠率が低下すること<sup>12,14)</sup>、染色体異数性の割合自体が低いマウスでも老化に伴う妊娠率の低下が見られることから、染色体異数性以外の何らかの原因が老化卵子の着床率の低下を招いていると推察される。しかしその原因は未だ完全には解明されていない。

近年、老化と慢性炎症の関係性が報告されており、老化した細胞はSASP因子と呼ばれる炎症性のサイトカインを放出し、それがオートクライン、パラクライン作用により自らあるいは周囲の細胞の老化を促進することが示唆されている<sup>15)</sup>。したがって、卵巣内でも同様の機構により老化が促進すると考えられ、卵子・胚などの生殖細胞の質の低下を引き起こす一因と考えられる。本稿では、筆者らのグループが最近明らかにした卵子・胚における主要なSASP因子である

CXCL5を中心に、SASP因子の卵子・胚への影響とSASP因子を抑制するアンチエイジング対策について紹介する。

## Senescence Associated Secretory Phenotype (SASP) 因子

細胞老化とは細胞周期が不可逆的に停止する現象であり、Hayflickによるマウス線維芽細胞の長期間培養実験により見出された<sup>16)</sup>。細胞は分裂を重ねるにつれ、染色体を保護しているテロメアが短縮し染色体末端を保護できなくなり、持続的なDNA損傷応答を引き起こす<sup>17)</sup>。その結果、p16やp21などの細胞周期阻害タンパクが発現し、その下流のRbタンパク質が恒常的に活性化され細胞周期の進行が阻害される<sup>18)</sup>。これは本来、複製限界に到達した細胞で起きる老化現象であった。しかし近年、複製限界に達する前の段階でも、過剰なストレスを受けた細胞では細胞老化が起きることが確認されている<sup>19)</sup>。このような細胞老化はストレス誘導性の細胞老化と呼ばれている。細胞老化を引き起こす刺激は様々ではあるが、老化細胞では共通して細胞周期阻害タンパク質 (p21, p16等) の発現上昇、細胞周期の恒常的停止、細胞の巨大化・扁平化、細胞老化特異的β-ガラクトシダーゼ (Senescence-associated β-Galactosidase : SA-β-GAL) 活性の上昇やヘテロクロマチンの形成などが共通して観察される<sup>20)</sup>。また、細胞周期を停止するとともに様々な炎症性因子を分泌する現象、すなわちSenescence Associated Secretory Phenotype (SASP) と呼ばれる現象を引き起こすことが最近報告されている<sup>15,21)</sup>。

SASPでは、炎症性サイトカイン (インターフェロン (IL)-1α/β, IL-6, IL-8, TNF-α) やケモカイン (CCL, CXCL), 細胞外マトリックス分解酵素 (Matrix metalloproteinases : MMPs), 増殖因子 (EGF, VEGF, PGDF), 細胞外マトリックス (フィブロネクチン, コラーゲン) など多様な因子、すなわちSASP因子を老化細胞が分泌する<sup>15)</sup>。分泌因子の種類は細胞種や老化を誘導するストレスの種類によって異なるが、炎症性サイトカインやケモカインはほとんどの老化細胞で分泌されることが知られている<sup>22)</sup>。SASP因子は老化の促進や、がん化の促進および抑制など、その作用は多岐にわたる。特にSASP因子の中でも受容体CXCR2に作用するリガンドは、オートクライン作用によって自身の細胞老化を促進する効果を有することが報告されている<sup>23)</sup>。また、老化細胞から産生されたSASP因子は、老化細胞の周囲にある特異的受容体を発現している非老化細胞にパラクライン的に作用し、細胞老化を引き起こす作用もある (図1)。

細胞老化は、本来は組織の修復やリモデリングなど、組織の恒常性を保つ機構として細胞に備わっている。そのため、老化細胞は通常は免疫システムによって速やかに排除されるが、老化に伴う免疫機能の低下などにより、組織の中で生存し続ける老化細胞が存在する<sup>24)</sup>。そのような老化細胞が蓄積することでSASP因子を継続的に分泌し、組織内に慢性炎症性の微小環境を作り出すことで組織の機能低下をもたらすと考えられている。

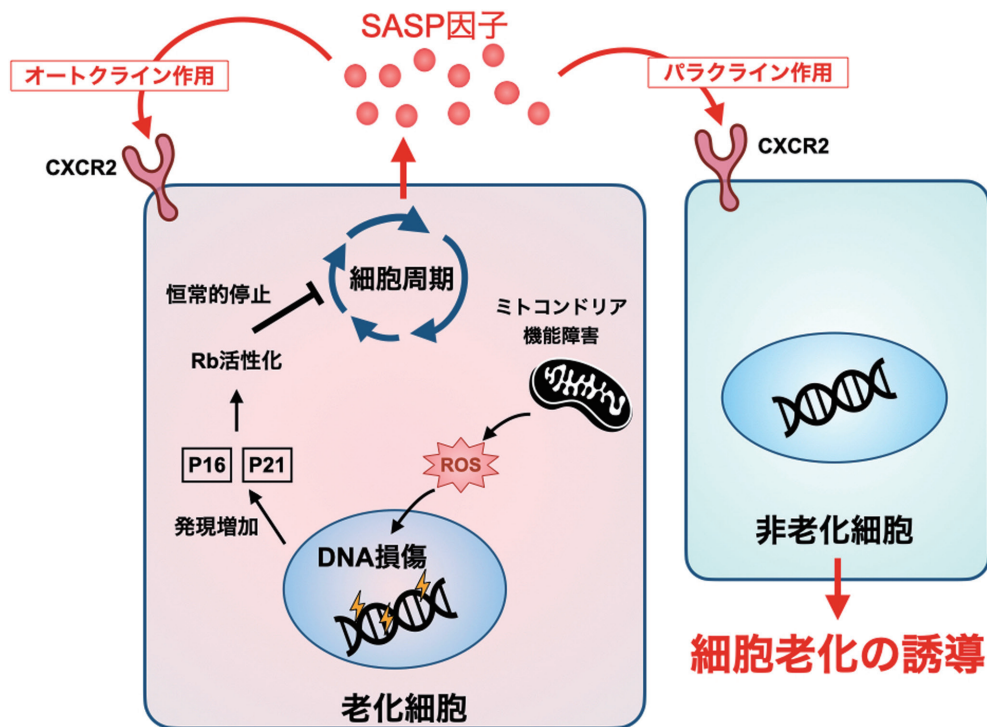


図1 SASP現象による炎症性因子 (SASP因子) の分泌と細胞老化の誘導

ミトコンドリアの機能不全や酸化ストレスの蓄積、DNA損傷のストレスによって持続的なDNA損傷応答が引き起こされる。その結果、p16やp21などの細胞周期阻害タンパクの発現が増加し、その下流のRbタンパク質が活性化し細胞周期が阻害される。この際、細胞周期を停止するとともに様々な炎症性の因子を分泌するSASP現象が起きる。SASPによって分泌される因子はオートクライン、パラクライン作用によって自身および周囲の細胞の老化を誘導する。

### SASP因子のマウス卵巣への影響

これまで、SASP因子が卵巣に及ぼす影響に関する研究は、わずかしかない。最近高齢マウスにおいて、SASP因子の一つであるC-C motif chemokine 5 (CCL5)の莖膜細胞での発現量の増加と、それに伴う卵胞発育、卵子成熟の抑制が報告されている<sup>25)</sup>。老化に伴い莖膜細胞で高発現するCCL5によって、転写因子であるNuclear factor-kappa B (NFκB)のリン酸化が促進され、さらにPI3K/AKT経路も阻害されることで卵巣内の顆粒膜細胞のアポトーシスが誘導され、顆粒膜細胞の減少によるエストラジオール分泌の低下が認められた。さらに、透明体タンパクであるZP3の発現と、顆粒膜細胞の増殖を促進する卵子由来因子であるGrowth differentiation factor-9 (GDF9)の発現量の低下も認められた。従って、CCL5は卵巣局所においてSASP因子として作用し、高齢マウスで認められる卵胞発育および卵子成熟障害の原因の一つとなっている可能性が示唆された。

他には、マウス卵子を用いた試験において、主要なSASP因子の一つであるIL-6が高濃度で卵子に作用すると、染色体分離異常が増加することが報告されており、老化で増加したIL-6が高齢マウスで高頻度に認められる染色体の異数性

に関与している可能性が考えられる<sup>26)</sup>。また高齢のマウス卵巣では、SASP因子であるIL-1α/βやIL-6、TNF-αの発現が亢進することが報告されており<sup>27)</sup>、老化に伴う卵子・胚の質の低下が、卵巣内で高発現するSASP因子によって誘導される炎症性微小環境に起因する可能性が考えられる。

我々は、形態学的に良好なヒト胚盤胞の遺伝子発現プロファイルを若齢患者と高齢患者で比較したところ、高齢患者の胚盤胞でSASP因子の一つであるC-X-C motif chemokine 5 (CXCL5)が高発現していることを見出した<sup>28)</sup>。しかし高齢患者由来の胚盤胞では、そのほかの主要なSASP因子の発現の増加を認めたものの、CXCL5は7.7倍と最も顕著に発現が増加していた。またCXCL5の発現増加は、ヒトのみならず高齢マウス由来の卵子・胚でも認められた<sup>28)</sup>。そこで我々は、CXCL5を卵子・胚における主要なSASP因子の最終候補とし、若齢マウスの胚にCXCL5を作用させ、胚の老化誘導作用を検証した。

若齢マウスの胚の培養液にCXCL5を添加し、胚盤胞まで培養したところ、胚盤胞への発生率には影響は見られなかったものの、栄養外胚葉の細胞増殖能、細胞進展能が抑制され着床時に胚盤胞が子宮に浸潤する能力が低下することが示唆された。実際にCXCL5を添加培養した若齢マウス胚盤胞

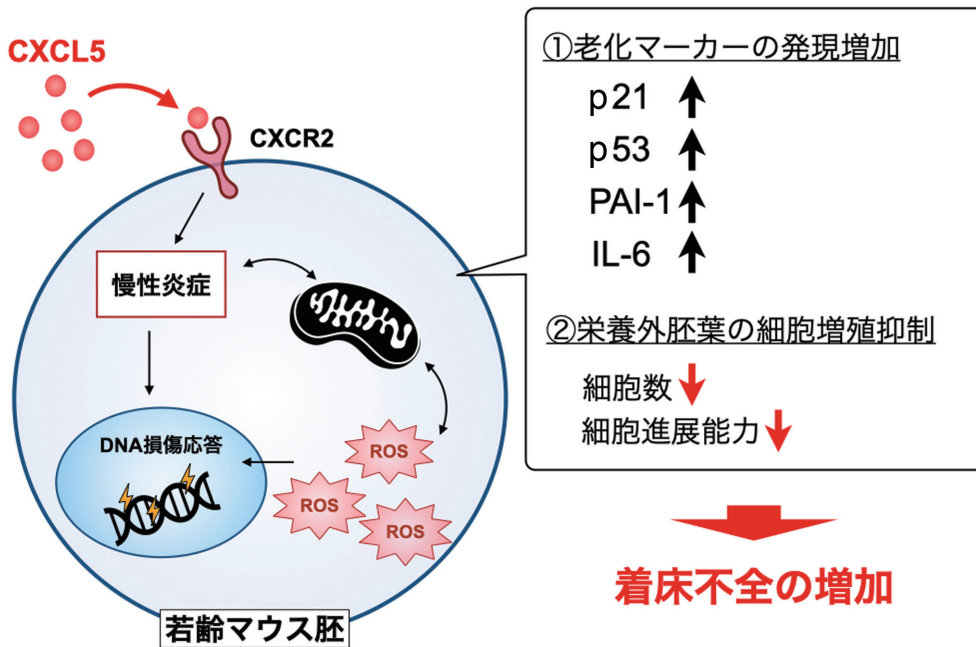


図2 CXCL5による若齢マウス胚の老化誘導と着床不全の増加

若齢マウス胚にSASP因子の一つであるCXCL5を作用させると、老化マーカー (p21, p53, PAI-1, IL-6) の発現が増加する。また、栄養外胚葉の細胞数が減少し、着床時の細胞伸展能が抑制される。その結果、着床率、産仔獲得率が低下する。

を偽妊娠マウスの子宮内に移植したところ、着床率の有意な低下が認められた。さらに、CXCL5添加培養を行った若齢マウス胚では、代表的な老化マーカー (p21, p53, PAI-1, IL-6) の発現レベルが上昇していた。以上から、卵子・胚では、SASP因子の一つであるCXCL5が高発現し、特に栄養外胚葉の細胞増殖が抑制されることで着床不全が増加することが示唆された<sup>28)</sup> (図2)。これら一連の研究により、我々は卵子・胚の質の低下を引き起こすSASP因子がCXCL5であることを初めて明らかにした。

### SASP因子の抑制による 高齢マウス胚の着床率の改善

CXCL5が老化に伴う卵子・胚の質の低下を引き起こすSASP因子であるならば、高齢マウス由来胚におけるCXCL5の受容体であるCXCR2を介したシグナルを抑制することで、着床率の改善が期待される。そこで、高齢マウス由来胚をCXCL5の中和抗体とCXCR2アンタゴニストを単独もしくは同時に添加した培養液で胚盤胞まで培養し、CXCL5-CXCR2シグナルを抑制した。また、CXCL5-CXCR2シグナルを抑制した高齢マウス由来胚を偽妊娠マウスの子宮内に移植したところ、胚の着床率および出生率が大幅に改善した。またCXCL5-CXCR2シグナルを抑制した高齢マウス由来胚の遺伝子発現プロファイルを、若齢マウス由来胚とCXCL5を抑制していない高齢マウス由来胚と比較したところ、若齢マウス由来胚の遺伝子発現パターンに類似す

ることも確認している。また、パスウェイ解析により高齢マウス由来CXCL5-CXCR2シグナル抑制胚では、細胞増殖に関係しているシグナル経路に参与する遺伝子で発現が変動していたため、CXCL5の抑制により高齢マウス由来の胚盤胞で細胞増殖能が回復し、着床率の改善につながった可能性が考えられた<sup>28)</sup>。

本法の臨床応用を目指して、胚のCXCL5-CXCR2シグナルを抑制することの安全性に関しては、CXCL5ノックアウトマウスは、胎児期や出生直後には特に異常を認めないことから<sup>29)</sup>、少なくともzygotic genome activation (ZGA) 以降の着床前胚のCXCL5-CXCR2シグナルを抑制することの安全性は高いと考えられる。また、CXCL5-CXCR2シグナルを抑制した高齢マウス胚を移植して得られた仔や胎盤に形態的異常は観察されず、若齢マウス由来胚の体外培養中に生理学的なレベルのCXCL5-CXCR2シグナルをCXCL5中和抗体およびCXCR2アンタゴニストを用いて抑制しても胚盤胞到達率、着床率、産仔獲得率、流産率への影響は見られなかったことから、着床前胚の培養期間中にCXCL5-CXCR2シグナルを抑制しても、ZGA以降の着床前胚のみならず、ZGA以前の着床前胚の発育とその後の個体発生において影響はない可能性が示唆された。老化に伴う胚のCXCL5の発現増加はヒトの胚盤胞から見出した知見であり、高齢患者由来胚でも培養中のCXCL5-CXCR2シグナル抑制はマウスと同様の着床率改善効果が期待できる (図3)。

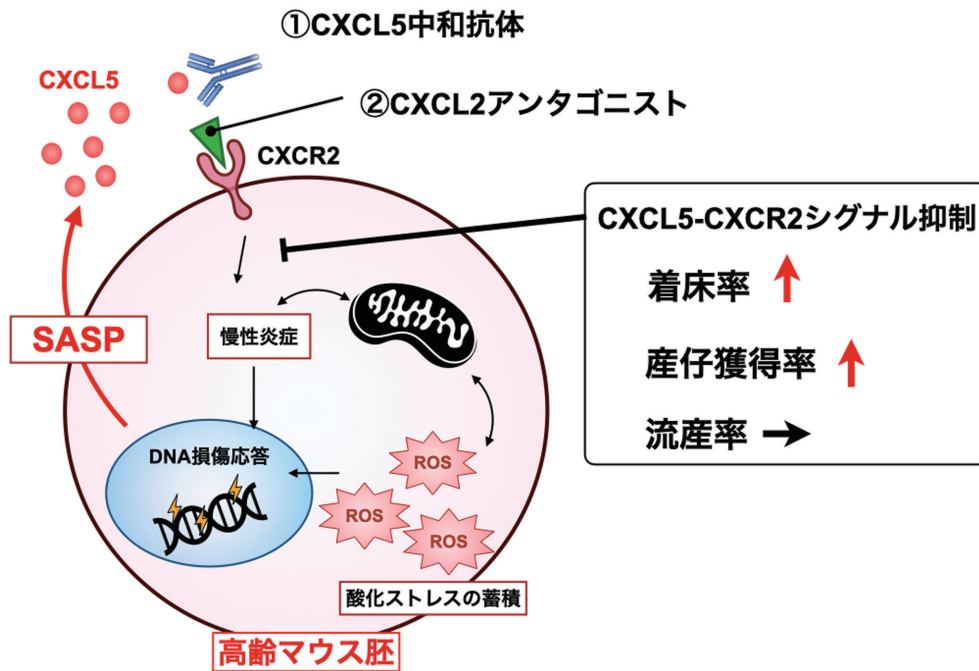


図3 CXCL5シグナルの抑制による高齢マウス胚の着床率の改善  
 高齢マウス胚ではSASP現象によりCXCL5が高発現している。初期胚から胚盤胞期胚までの体外培養中にCXCL5の中和抗体と受容体であるCXCR2のアンタゴニストを用いてCXCL5-CXCR2シグナルを抑制することで、細胞増殖能が回復し、着床率、産仔獲得率が改善した。

## おわりに

これまで他領域の研究から、老化に伴うSASP因子の発現増加が細胞機能に多大な影響を与えることが明らかにされてきたが、SASP因子の生殖細胞・組織に対する影響についての報告は少ない。我々はヒト胚盤胞の網羅的遺伝子解析により、卵子・胚における主要なSASP因子の一つとしてCXCL5を同定した。また、高齢マウス着床前胚のCXCL5-CXCR2シグナルの抑制により着床率が大きく改善することを示し、ヒト体外受精の際の胚培養への応用により高齢不妊患者の妊娠率の向上への寄与が期待される。しかし、高齢不妊のもう一つの大きな問題である流産率の増加に関しては、高齢マウス着床前胚の体外培養中のCXCL5-CXCR2シグナルの抑制では改善することはできていない。流産の主な原因であるヒ卵子・胚の染色体の異数性に関しては、その多くが卵子の段階で既に異数性になっている。主要なSASP因子の一つである高濃度のIL-6に曝された卵子では染色体の安定性が低下することと、高齢マウスの卵巣内でIL-6やTNF- $\alpha$ をはじめとするSASP因子の発現が増加していることを考えると、老化した卵巣内で既に卵子の質は低下していることが予測される。今後は、卵巣内の老化細胞から分泌されるSASP因子を抑制することで卵子の染色体異数性の発生予防を行い、着床率とともに流産率も改善するための治療法を開発する必要がある。

## 文献

- 1) Sauer, M.V. (2015): Reproduction at an advanced maternal age and maternal health. *Fertil. Steril.*, 103, 1136–1143.
- 2) Balasch, J. and Gratacós, E. (2011): Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy. *Fetal. Diagn. Ther.*, 29, 263–273.
- 3) Cimadomo, D., Fabozzi, G., Vaiarelli, A., Ubaldi, N., Ubaldi, F.M. and Rienzi, L. (2018): Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. *Front. Endocrinol.*, 9, 327.
- 4) Sasaki, H., Hamatani, T., Kamijo, S., Iwai, M., Kobanawa, M., Ogawa, S., Miyado, K. and Tanaka, M. (2019): Impact of Oxidative Stress on Age-Associated Decline in Oocyte Developmental Competence. *Front. Endocrinol.*, 10, 811.
- 5) Cohen, J., Scott, R., Schimmel, T., Levron, J. and Willadsen, S. (1997): Birth of infant after transfer of anucleate donor oocyte cytoplasm into recipient eggs. *Lancet.*, 350, 186–187.
- 6) Richter, K.S. (2008): The importance of growth factors for preimplantation embryo development and in-vitro culture. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 20, 292–304.
- 7) Liu, J., Liu, M., Ye, X., Liu, K., Huang, J., Wang, L., Ji, G., Liu, N., Tang, X., Baltz, J.M., Keefe, D.L. and Liu, L. (2012): Delay in oocyte aging in mice by the antioxidant N-acetyl-L-cysteine (NAC). *Hum. Reprod.*

- 27, 1411–1420.
- 8) Youssef, M.A., Abdelmoty, H.I., Elashmwi, H.A., Abduljawad, E.M., Elghamary, N., Magdy, A. Mohesen, M.N., Abdella, R.M., Bar, M.A. and Gouda, H.M. (2015): Oral antioxidants supplementation for women with unexplained infertility undergoing ICSI/IVF: randomized controlled trial. *Hum. Fertil (Camb)*, 18, 38–42.
  - 9) Englert, Y. and Govaerts, I. (1998): Oocyte donation: particular technical and ethical aspects. *Hum. Reprod.*, 2, 90–97.
  - 10) Eichenlaub-Ritter, U., Vogt, E., Yin, H. and Gosden, R. (2004): Spindles, mitochondria and redox potential in ageing oocytes. *Reprod. Biomed. Online*, 8, 45–58.
  - 11) Mikwar, M., MacFarlane, A.J. and Marchetti, F. (2020): Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. *Mutat. Res.*, 785, 108320.
  - 12) SART. Natinal Summary Report. 2017.
  - 13) Jones, K.T. and Lane, S.I. (2013): Molecular causes of aneuploidy in mammalian eggs. *Development*, 140, 3719–3730.
  - 14) Reig, A., Franasiak, J., Scott, R.T.Jr. and Seli, E. (2020): The impact of age beyond ploidy: outcome data from 8175 euploid single embryo transfers. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 37, 595–602.
  - 15) Coppe, J.P., Desprez, P.Y., Krtolica, A. and Campisi, J. (2010): The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu. Rev. Pathol.*, 5, 99–118.
  - 16) Hayflick, L. (1965): THE LIMITED IN VITRO LIFETIME OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS. *Exp. Cell. Res.*, 37, 614–636.
  - 17) Drissi, R., Wu, J., Hu, Y., Bockhold, C. and Dome, J.S. (2011): Telomere shortening alters the kinetics of the DNA damage response after ionizing radiation in human cells. *Cancer. Prev. Res.*, 4, 1973–1981.
  - 18) Herbig, U., Jobling, W.A., Chen, B.P., Chen, D.J. and Sedivy, J.M. (2004): Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21(CIP1), but not p16(INK4a). *Mol. Cell*, 14, 501–513.
  - 19) De Magalhães, J.P. and Passos, J.F. (2018): Stress, cell senescence and organismal ageing. *Mech. Ageing Dev.*, 170, 2–9.
  - 20) Campisi, J. and d’Adda di Fagagna, F. (2007): Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8, 729–740.
  - 21) Coppe, J.P., Patil, C.K., Rodier, F., Sun, Y., Munoz, D.P., Goldstein, J., Nelson, P.S., Desprez, P.Y. and Campisi, J. (2008): Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.*, 6, 2853–2868.
  - 22) Deursen, J.M.V. (2014): The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509, 439–446.
  - 23) Acosta, J.C., O’Loughlen, A., Banito, A., Guisjarro, M.V., Augert, A., Raguz, S., Fumagalli, M., Da Costa, M., Brown, C. and Popov, N. (2008): Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell*, 133, 1006–1018.
  - 24) Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S.A., Francis, R., Toussaint, W., Mitchell, J.R., Laberge, R.M., Vijg, J., Steeg, H.V., Dollé, M.E.T., Hoeijmakers, J.H.J., Bruin, A.D., Hara, E. and Campisi, J. (2014): An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev. Cell*, 31, 722–733.
  - 25) Shen, L., Chen, Y., Cheng, J., Yuan, S., Zhou, S., Yan, W., Liu, J., Luo, A. and Wang, S. (2019): CCL5 secreted by senescent theca-interstitial cells inhibits preantral follicular development via granulosa cellular apoptosis. *J. Cell Physiol.*, 234, 22554–22564.
  - 26) Banerjee, J., Sharma, R., Agarwal, A., Maitra, D., Diamond, M.P. and Abu-Soud, H.M. (2012): IL-6 and mouse oocyte spindle. *PLoS One*, 7, e35535.
  - 27) Lliberos, C., Liew, S.H., Zareie, P., La Grute, N.L., Mansell, A. and Hutt, K. (2021): Evaluation of inflammation and follicle depletion during ovarian ageing in mice. *Sci. Rep.*, 11, 278.
  - 28) Kawagoe, Y., Kawashima, I., Sato, Y., Okamoto, N., Matsubara, K. and Kawamura, K. (2020): CXCL5-CXCR2 signaling is a senescence-associated secretory phenotype in preimplantation embryos. *Aging Cell*, 19, e13240.
  - 29) Mei, J., Liu, Y., Dai, N., Favara, M., Greene, T., Jeyaseelan, S., Poncz, M., Lee, J.S. and Worthen, G.S. (2010): CXCL5 regulates chemokine scavenging and pulmonary host defense to bacterial infection. *Immunity*, 33, 106–117.