

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	高 橋 司
論文審査担当者	主 査	医化学	末 松 誠	
産婦人科学	田 中 守	発生・分化生物学	久保田 義 顕	
解剖学	松 尾 光 一			
学力確認担当者：			審査委員長：田中 守	
			試問日：平成27年12月 4日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Birth of Healthy Offspring following ICSI in <i>In Vitro</i> -Matured Common Marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>) Oocytes (コモンマーモセットにおける体外成熟卵子を用いたICSIによる正常産仔獲得)				
<p>本論文ではコモンマーモセットにおいて初の顕微授精 (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection : ICSI) による産仔を獲得する技術を確立した。ICSIは体外成熟卵の核成熟後2時間以降に実施することがその後の胚の発生能を高めることを明らかにし、ICSIの授精率は従来法である体外受精 (<i>In vitro</i> fertilization : IVF) と比較して有意に高いことを示した。さらに、併せて開発したICSI胚を非侵襲的に行う経膈移植法を実施し、得られた個体のマイクロサテライト法による親子鑑定により、ICSI胚の個体発生能を明らかにした。</p> <p>審査ではまず使用した体外成熟培地の蓋然性や動物種差について問われた。基礎培地は、成熟培養の研究が最も進んでいるブタを参考にし、Porcine Oocyte Medium を用い、添加物として透明帯硬化を防ぐウシ胎児血清と、他の動物種で卵丘膨化促進効果が報告されているFSHを添加した旨回答された。マーモセットの卵子の体外成熟時間はヒトと同程度であったと回答された。さらにICSI後の授精能の動物種差についても問われ、マーモセットはヒトやマウスと同様にICSI後の授精能が高い動物種であるが、ウシやブタの授精能は低いこと。この差は、精子核内に存在する精子特有のタンパク質であるプロタミンの種差が関与する可能性が提示された。プロタミンは精子核内でDNAを巻きつけた状態でS-S結合で硬く束ねられた構造をとる。受精時にはS-S結合の切断、DNAの脱凝縮という過程を経る必要があるが、ウシやブタではICSI後この現象が起こりにくい。実際に還元型グルタチオンで精子を前処理し、S-S結合を脆弱化した状態でICSIをすることで授精能は向上することが経験的に知られている旨回答された。次にマカクザルではなくマーモセットを実験動物とする意義を問われた。マーモセットは新世界ザルであり、マカクザルと比較した場合ヒトとの相性は低いものの、これまでの研究からマーモセットでもヒトの疾患モデルとなりうる相性の高い遺伝子が同定され、標的遺伝子改変技術を実施する場合には、より繁殖効率の高いマーモセットが実験動物として有効である旨回答された。また、本実験系へのゲノム編集の応用の可能性も問われ、遺伝子ノックアウトによる免疫不全モデル確立が再生医療研究分野での移植実験に有用であると回答された。</p> <p>最後に胚盤胞まで成熟させた胚が、胚盤胞到達前の胚に比べて、胚移植後の個体発生能が低下する要因について質問がなされた。この産仔獲得率の低さは、経験的に確立したとされる現在の体外培養系がマーモセットに適合していないことを示唆している。特にマーモセットは他種よりも受精後の発生培養期間が長い。過去に報告されたサルの卵管の生理的酸素濃度は55 mmHg (8%)、子宮が11 mmHg (1.5%) であることを勘案すると、現在汎用されている5%の「低酸素条件」では、卵管で起こる受精と初期発生には適していると言えるものの、子宮内発育である8細胞期以降の後期胚はさらに低酸素条件が必要である可能性があるかと回答された。</p> <p>以上のように、本研究は検討すべき課題をのこしているものの、マーモセットにおいてICSIを確立し、マーモセット胚の特性を明らかとした点において、非常に有意義な研究であると評価された。</p>				