

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏 名	上 條 慎 太 郎
主 論 文 題 名				
MicroRNAs secreted by human preimplantation embryos and IVF outcome (ヒト着床前胚から分泌されるマイクロRNAと体外受精成績の関係)				
(内容の要旨)				
<p>体外受精 (In vitro fertilization: IVF) において、多胎リスクの軽減のために単一胚移植が世界的なトレンドになるに従い、有効な胚選択法の重要性が増している。現在一般的な胚の評価方法には、ガードナー分類などの鏡検による形態評価と、受精卵の一部を採取して各細胞に含まれる染色体を解析する着床前遺伝学的検査がある。しかし、形態評価は主観的検査であるため定量性に乏しく形態学的特徴が胚の生理学的特徴を完全に反映しているとは言えないため着床結果を予測するには不十分なものとなっており、着床前遺伝学的検査は受精卵への侵襲があり胚損傷のリスクを伴う。そこで、非侵襲的で定量的な胚の質的評価を可能とするバイオマーカーが求められている。</p> <p>近年、細胞内コミュニケーションを担う物質として細胞外小胞 (Extracellular vesicles: EV) が注目されており、その伝達物質の一つに非コードRNAであるマイクロRNA (microRNA: miRNA) がある。本研究ではIVFにおいて培養液に含まれるmiRNAであるに着目し、胚培養液中のmiRNAと胚の着床能の相関について検討した。</p> <p>顕微授精後の受精卵を5日間培養した培養液を実験群として臨床妊娠の有無で妊娠群と非妊娠群の2群に分類し、胚を入れずに5日間培養したものを対照群とした。各サンプルに含まれるmiRNAについてSmall RNA Sequencingライブラリーを作成し妊娠結果との関連が示唆されるmiRNAを選定し、それらのmiRNAについて定量PCR (quantitative PCR: qPCR) を用いて個々の胚の培養中の発現量を検討した。各サンプルのCt値を測定し妊娠結果と対応させたデータを元にin silico解析を施行し、ロジスティック回帰分析によって各miRNAの発現量から妊娠結果を予測する予測モデルを作成した後、着床に関与すると思われるmiRNAについてデータベース解析を施行した。</p> <p>Small RNA Sequencingにより21のmiRNAが妊娠・非妊娠群で有意に発現の差を認め、それらのqPCRの各Ct値についてロジスティック回帰分析を施行しところ5-fold Cross Validationで平均 Accuracy 0.82の予測モデルを作成し得た。そこから妊娠に対して寄与の高い10個のmiRNAを抽出し、データベース検索をしたところ細胞接着や細胞間結合に関する経路への関与が示唆された。</p> <p>本研究は、受精卵の培養液に含まれるmiRNAが臨床妊娠の有無と関連していることを示し、妊娠・着床に対して寄与の高いmiRNAを抽出することによって、これらのmiRNAの解析が非侵襲的な胚の質的診断の一助となりうることを示した。</p>				