

審査の結果の要旨

氏名 葉山智工

本研究は雌胎児由来の始原生殖細胞(PGC)を免疫不全動物の腎臓被膜下に異種移植して卵巣組織を再生する研究の成果をまとめたものである。

配偶子形成不全症のような卵巣内に卵が無い患者は現在の不妊症治療では治療法がない。一方でマウスでは多能性幹細胞からの機能的な雌の PGC 誘導法が近年報告された。この新たな方法は不妊治療や、絶滅危惧種の保存などへ応用されることが期待されるが、一方で、この方法をマウス以外の動物種に適応し、生殖細胞を得る為には *in vitro* で誘導した PGC を異種の動物に移植し、性腺様構造を作成しなければならない。しかしながら、これまでに PGC を異種の動物に移植し、性腺様構造を作成した例は無く、異種体内で PGC が性腺様構造を構築できるかは明らかではない。

そこで論文提出者は、マウスとラットという異種動物を利用し PGC の異種間移植による性腺様構造作成およびその性腺様構造より得た生殖細胞を成熟させ産仔を得ることで生殖細胞再生治療の小動物モデルを作成し、proof of concept(POC)を確立することを目的として研究し、成果として以下の結果を得ている。

1、ラット PGC の免疫不全マウスへの移植によるラット性腺様構造の構築：

ラット PGC を単純移植法または再凝集法で NOD-SCID マウスまたは NOG マウスの腎皮膜下に移植し、性腺様組織が得られた。それぞれの効率や組織の性質を解析し異種での卵巣様構造の作成には、再凝集法で NOG マウスの腎皮膜下へ移植する方法が適していると分かった。組織学的解析では卵巣様組織は正常卵巣組織との類似性が認められた。卵巣様組織より採取した GV 期卵様細胞(GV-OLC)と、正常卵巣組織由来 GV 期卵における遺伝子発現パターンを解析したところ両者は類似していた。ラットでは IVM が確立されていない為、十分に卵細胞を成熟させられず、産仔を得るに至らなかったが、遺伝子発現プロファイルが正常卵母細胞と非常に良く似た GV-OLC が得られており、IVM の精度を上げることが出来れば産仔を得られる可能性がある。

2、マウス PGC の免疫不全ラットへの移植によるマウス性腺様構造の構築：

GFP マウス PGC を再凝集法で IL-2RgKO ラットの腎皮膜下に移植し、性腺様組織が得

られた。組織学的解析では卵巣様組織は正常卵巣組織との類似性が認められた。卵巣様組織から GV-OLC を採取し機能解析を行ったところ、IVM-ICSI を経て PGC 由来の産仔を得ることが出来た。以上の結果から、マウス PGC を再凝集法でラットの腎皮膜下へ移植することで、正常に近い発生過程が進み、機能的な卵細胞が得られることが確認できた。

以上により、雌胎児の減数分裂前の始原生殖細胞は性腺間質細胞との共培養、異種への共移植、試験管内成熟培養を経れば、同種の体内という環境がなくとも正常の減数分裂を経て機能的卵を産生可能となりえることが分かった。そして、研究の目的である生殖細胞再生の小動物モデルを作成し、proof of concept (POC) を示すことができた。

本研究が論理証明した技術は大動物やヒトの PGC から小型の免疫不全動物を用いて生殖細胞を再生できる技術であり、将来の生殖技術や不妊治療の研究にも応用できる画期的な技術であると考えられ、生物学的にも価値のある内容である。従って、論文提出者は学位の授与に値するものと考えられる。