氏 名 魏 興強

授与した学位 博士

専攻分野の名称 学 術

学位授与番号 博甲第 6940 号

学位授与の日付 2023年 9月 25日

学位授与の要件 環境生命科学研究科 農生命科学専攻

(学位規則第4条第1項該当)

学位論文の題目 体外受精における妊娠率向上に寄与する要因および不妊原因に関する研究

論文審查委員 教授 木村 康二 准教授 大月 純子 教授 辻 岳人

学位論文内容の要旨

体外受精では通常 1 前核 (1PN) 形成や 3 つ以上の前核形成は異常受精と判断され廃棄されるが、異常受精の一種である 1PN 接合子に由来する胚盤胞移植により正常な健康な新生児が生まれることが報告されており、正常 2 倍体 1PN 形成のメカニズム解明が必要である。一方、不妊の約 10-20%は原因不明であり、原因解明が求められている。本研究では体外受精において見られる異常受精のメカニズム解明および不妊原因となる遺伝子変異の解明を目的とした。

体外受精後、通常は雌雄の 2 前核 (2PN) を形成するが、約 3-6%に 1PN 形成が起こることが報告されており、1 倍体 1PN と 2 倍体 1PN が混在する。第 2 極体放出直下に形成される雌性前核、受精丘および卵細胞質内の Cytoplasmic Wave (CW) を起点として形成される雄性前核をベースに 1PN 形成の動態解析を経時的自動連続観察システムにて行った。結果、第 2 極体放出起点から半径 18μm 以内に精子が侵入した際に雌雄合体 1PN 形成が起こることが本研究にて判明した。また、雌雄両方のゲノムを含む 1PN の理論的発生率(半径 18μm 地点の表面積/全体の表面積)は 2.7%であり、自然妊娠においても同程度の確率で雌雄両方のゲノムを含む 1PN 形成は起こっていると推測される。

体外受精後に 2PN が確認され正常受精と判断されるも 3 倍体である胚が存在し、3 倍体胚は流産に至ることがあり母体にとっての負担が大きい。よって経時的自動連続観察システムにより検出する方法の確立を試みた。本研究において極体放出失敗後に 2 つの雌性前核が融合し 1 つの大きな前核を形成することにより、3 倍体の 2PN 形成が起こることが判明した。3 倍体 2PN 形成胚の判別が可能となった。

不妊の約 10-20%は原因不明であり、原因解明が求められている。本研究では体外受精反復不成功患者を対象とし、次世代シーケンシングによる遺伝子変異の網羅的解析を行い、自然妊娠出産者 10 人に存在しない High impact な変異((フレームシフト変異など塩基の挿入や欠失により、作られたタンパク質のほとんどが機能しなくなる変異)が 57 遺伝子において抽出され、このうち患者群と 8.3KJPN データベースの対照群間のアレル頻度に有意差が検出された 7 遺伝子、完全不妊が存在しない状態でハーディワインベルグ平衡 (HWE) が成立すると仮定した場合、対象患者における実測値と Human Genetic Variation Database からの算出値に乖離が生じている 9 遺伝子が抽出された。このうち 3 遺伝子の重複を除いた 13 遺伝子の変異が不妊原因の候補となった。

本研究の成果により 2 倍体 1PN および 3 倍体 2PN の判別が可能となり、妊娠可能な 1PN 胚、染色体倍数性異常により流産に至る胚の選別法が確立され、生殖補助医療に直ちに役立つ結果となった。また、本研究において 13 の不妊原因候補遺伝子変異が判明し、今後の生殖医療の発展に貢献することが期待される。

論文審査結果の要旨

Xingqiang WEI 氏は、体外受精における妊娠率向上に寄与する要因および不妊原因に関する研究として、ヒト体外受精時の異常受精が起こるメカニズムを経時的自動連続観察システムを用いた動態解析により明らかにし、体外受精反復不成功患者における遺伝子変異の網羅的解析により、原因となる遺伝子変異を明らかにしたにすることを目的とした研究を行った。本研究において、これまで多くは異常受精と判断され多くが廃棄となっていた1前核胚のうち、雌雄両方のゲノムを含む1前核形成は第二極体放出地点から半径18μm 以内に精子が侵入した際に起こることが判明し、その理論的発生率(半径18μm 地点の表面積/全体の表面積)は2.7%であり、着床前診断により解析した既報の二倍体一前核胚の発生率と一致することが判明している。また、受精胚の経時的自動連続観察システムにより、雌雄二前核受精卵に存在する三倍体胚の検出方法開発に着手し、極体放出失敗後に2つの雌性前核が融合し1つの大きな前核を形成するという現象を捉え、三倍体である二前核形成胚の判別が可能となった。一方、体外受精反復不成功患者における遺伝子変異の網羅的解析により、13の不妊原因候補遺伝子変異が判明した。

以上、本研究の成果によりこれまで未知であった二倍体の一前核胚形成と三倍体の二前核胚形成機序が明らかになり、染色体倍数性異常により流産に至る胚の選別が可能になったことは臨床に大きく貢献できる。また、本研究で明かになった遺伝子解析結果は遺伝子変異を原因とする不妊の解明に重要な知見を与えるものである。従ってXingqiang WEI氏の業績を博士の学位に値するものと判定する。