



Title	アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子組換えマウス作製法の開発
Author(s)	中川, 達哉
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101946
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名（中川達哉）	
論文題名	アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子組換えマウス作製法の開発
論文内容の要旨	
<p>遺伝子改変動物は遺伝子機能の解析、疾患モデルの研究・治療法の開発など様々な研究に利用されている。ゲノム編集技術Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-Associated Proteins 9 (CRISPR/Cas9) システムの発見によって、様々な動物の前核期胚に直接遺伝子改変を施すことが容易になった。前核期胚ゲノム編集はマイクロインジェクション法やエレクトロポレーション法を用いることが主流だが高額機器や熟練の技術が必要である。前核期胚は発生が進むと、内部細胞塊 (Inner cell mass : ICM) 、原始内胚葉 (Primitive endoderm : PrE) 、栄養外胚葉 (Trophectoderm : TE) からなる胚盤胞期胚へと分化する。TE細胞は ICM細胞の維持・分化に必須であり、子宮内膜細胞に接着して着床を担保するだけでなく、着床後に胎盤を形成する。胎盤は哺乳類特有の臓器として、母体と胎仔の間で栄養の供給、ガス交換、ホルモンの産生などを担い、胎仔の発育に欠かせない。TEと胎盤の遺伝子機能を研究することは、正常な着床・妊娠過程とその機能障害を理解する上で重要であるが、前述のように一般的な遺伝子改変マウスは前核期胚に直接遺伝子改変を施すことため、胎仔と胎盤の両方のゲノムが改変されてしまう欠点があった。当研究室では以前、レンチウイルス (lentivirus : LV) ベクターで胚盤胞期胚を処理することで、TE細胞/胎盤組織特異的な遺伝子改変に成功した。しかしながら、LVベクターは透明帯を通過できないため、透明帯を除去する必要があった。そこで本研究では新たな遺伝子改変法の確立を目指し、脂質粒子やウイルスベクターによる胚への遺伝子導入の可否とその効率を検討した。脂質粒子は、多くの研究室で培養細胞のトランスフェクションなどにも用いられているリポソームと近年新型コロナウイルス (COVID-19) 感染症に対するmRNAワクチンにも応用されたLipid Nanoparticle (LNP) を用いた。ウイルスベクターは、遺伝子治療などにも広く使用されており、透明帯を通過することが報告されているアデノ随伴ウイルス (Adeno-associated virus : AAV) ベクターを用いた。第一章ではリポソームとLNPを用いて前核期胚へ遺伝子導入の有無を検討した。リポソームを用いた場合、透明帯の除去が必須であったが、LNPは透明帯を除去せずとも遺伝子導入が可能であった。第二章では前核期胚へ遺伝子導入が可能であることがすでに報告されているAAV1, AAV6, AAV9, AAV-DJに加え、新たにAAV-DJ/8, AAV-PHP.eB を追加し、6種類のAAVベクターの遺伝子導入効率を検討した。その結果、AAV1, AAV6ベクターが、前核期胚へ最も高い遺伝子導入効率を示した。第三章ではAAVベクターの胚盤胞期胚への遺伝子導入効率を検討し、AAV1ベクターがTE細胞/胎盤組織特異的な遺伝子導入が可能であることを示した。さらに第四章では、AAV1によるTE細胞特異的遺伝子導入を応用し、着床不全モデルにおける治療の可能性を検討し、一定の改善が見られた。以上の結果から、AAV1ベクターはTE細胞/胎盤組織特異的な遺伝子改変法として有用であり、着床や妊娠のメカニズム解明、着床能力の改善への応用が期待されることを示した。本研究は着床と胎盤研究の進歩に貢献し、新たな生殖補助医療技術の開発につながるものであると考える。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

	氏名 (中川 達哉)	氏名
論文審査担当者	(職)	
	主査 教授	伊川 正人
	副査 教授	水口 裕之
	副査 教授	橋本 均

論文審査の結果の要旨

本研究は脂質粒子やアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた初期胚への遺伝子導入法の開発を試みたものである。

I. 脂質粒子（リポフェクション・ssPalm-LNP）を用いて前核期胚への遺伝子導入の可否を検討した。その結果、リポフェクションは透明帯を除去することで遺伝子導入が可能であり、ssPalm-LNP は透明帯を有する前核期胚への遺伝子導入が可能であることを示した。

II. 前核期胚を6種類のAAVベクターで処理し、前核期胚への遺伝子導入能力を検討した。その結果、AAV1、AAV6ベクターが最も高い遺伝子導入効率を示した。

III. 胚盤胞期胚を6種類のAAVベクターで処理し、胚盤胞期胚への遺伝子導入能力を検討した。その結果、AAV1ベクターが栄養外胚葉 (TE) 特異的に遺伝子を導入できることを示した。

IV. TEにAAV1ベクターを用いて一過性に活性型AKTを導入し、母体のCOX-2の阻害により誘導した着床不全を改善した。このことは、母体のCOX-2 と胚のAKT を介した新規の母体-胚間相互作用の存在を示すと共に、AAV ベクターを用いた着床障害の治療法の可能性を示唆した。

以上、本論文は、AAV1ベクターによるTE細胞特異的な遺伝子導入法を開発したことにより、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。