



Title	精巢組織培養における至適酸素濃度の検討と化学合成培地の開発
Author(s)	永田, 紫野
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105589
rights	
Note	

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 (永田 紫野)

論文題名 精巣組織培養における至適酸素濃度の検討と化学合成培地の開発

論文内容の要旨

男性不妊症の主因である造精機能障害は、精子形成過程の異常によって引き起こされる。しかし、ヒトの精子形成機構は十分に解明されていないため、男性不妊に対する診断・治療法は限定的である。このため、哺乳類の精子形成に対する理解を深めることが求められている。哺乳類の精子形成過程を理解するための基盤技術として、*in vitro* 精子形成系は極めて有用である。2011年に確立されたマウス精巣組織培養法により、精原細胞から半数体細胞までの分化誘導が可能となったが、従来法では生体由来成分を含む培地に依存しており、再現性や作用機序解析の点で課題が残されていた。これを克服するため、近年、組成の明らかな化学合成培地（chemically defined medium: CDM）の需要が高まっている。これまでに、従来使用していた培地の解析を踏まえて開発されたCDMを用いて精巣組織を培養することで、精子形成を円形精子細胞の段階まで誘導することが可能となった。しかし、CDM培養では精子形成が進行している精細管に限られ、減数分裂期以降へと分化を進める生殖細胞が少数である。また、誘導される半数体細胞は円形精子細胞の段階にとどまり、伸長精子細胞の誘導には至っていない。精子形成効率を向上させるためには、より多くの精原細胞を分化型へ移行させ、かつ分化段階を進める培養条件の最適化が必要である。本研究では、CDMを用いた精巣組織培養系の改良を目的とし、培養環境の最適化および後期精子形成を促進させる因子の探索を行った。

第一章ではまず、培養環境の改善を目的とし、至適酸素濃度条件の検討を行った。従来用いられてきた大気と同等の酸素濃度（O₂ 20%）に加え、低酸素条件（O₂ 15%、10%、7%）で培養を行った結果、低酸素条件下で精子形成活性を示す精細管の割合が増加し、それに伴って円形精子細胞数も増加した。これらの結果は、低酸素環境が生殖細胞の維持と分化を促進し、精子形成効率を向上させることを明らかにした。一方で、低酸素条件下では組織の成長が抑制され、伸長精子細胞も検出されなかった。精子形成効率の向上と組織成長維持の両立を考慮して、O₂ 10%条件が最も安定した培養条件であると判断した。

第二章では、低酸素条件下における高い精子形成活性を維持しながら組織成長を促進させるため、CDMにグルコースおよびインスリンを添加した。その結果、組織サイズは増大したものの、精子形成効率や円形精子細胞数の増加は認められなかった。また、組織成長は主としてセルトリ細胞の増殖によるものであり、生殖細胞の増加を伴わないことを明らかにした。これらの結果から、組織成長と精子形成の促進は独立に制御される可能性が示唆された。

第三章ではCDM条件下で欠如している可能性のある因子としてスフィンゴ糖脂質（ガングリオシド）に着目し、その添加効果を検討した。ガングリオシドもしくはその前駆体をCDMに添加した結果、低頻度ながら核伸長を伴う初期伸長精子細胞が誘導されることを確認した。免疫染色および組織学的解析から、糖脂質の添加が円形精子細胞から伸長精子細胞への分化を部分的に促進することが示された。

以上の結果から、CDMを用いた精巣組織培養系において、（1）低酸素環境が精子形成活性を高めること、（2）組織成長と精子形成が異なる制御機構に依存すること、（3）糖脂質が後期精子形成の制御に関与する可能性があることを明らかにした。本研究は、培養条件の検討を通じて精子形成の各段階に関与する精細管微小環境要因を示したものである。これらの知見は、*in vitro*精子形成研究の進展や将来的な男性不妊症研究への応用に寄与すると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (永 田 紫 野)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	伊 川 正 人
	副 査	教授	橋 本 均
	副 査	教授	深 田 宗 一 朗

論文審査の結果の要旨

本研究は、化学合成培地（CDM）を用いたマウス精巣組織培養系の改良を通じて、in vitro精子形成効率の向上および後期精子形成誘導の可能性を検討したものである。

I. 精巣組織培養に適した酸素濃度条件を明らかにするため、O₂ 20%、15%、10%、7%条件下で培養を行い、比較検討した。その結果、O₂ 10%条件においてGFP陽性面積率および円形精子細胞数が有意に増加することを明らかにした。一方で、低酸素条件下では組織成長が抑制されることを示し、精子形成効率と組織維持の両立の観点から至適酸素条件を提示した。

II. 低酸素条件下でCDMにグルコースおよびインスリンを添加し、その影響を検討した。その結果、組織成長は促進されたが、その主因はセルトリ細胞の増殖であり、生殖細胞の増加や分化促進には直結しないことを明らかにした。これにより、組織成長と精子形成効率が必ずしも相関しないことを示した。

III. CDMに欠如している可能性のある因子としてスフィンゴ糖脂質（ガングリオシド）に着目し、その添加効果を検討した。その結果、低頻度ながら伸長精子細胞の誘導を確認した。この結果は、糖脂質が後期精子形成の制御に関与する可能性を示すものである。

以上、本論文は、CDMを用いた精巣組織培養系の培養条件を体系的に検討し、精子形成制御に関わる微小環境因子の一端を明らかにしたものであり、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。