

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

小澤 南

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題目 体外受精マウス胚に使用した培養液中の cell free DNA 量の検討

掲載誌 聖マリアンナ医科大学雑誌 2022 ; 50 (印刷中)

主査 小池 淳樹

副査 小泉 宏隆

副査 杉下 陽堂

[論文の要旨・価値] <背景>本邦では約6万人/年の新生児が生殖補助医療によって出生している一方、体外受精によって誕生した胚の状態を評価する方法は確立されていない。現在、着床前遺伝子検査として臨床応用されているのは胚生検であるが、この方法にはその侵襲による胚変性やそれに伴うエピゲノム異常が増加する可能性が指摘されている。このことを踏まえ、申請者らは、着床前遺伝子診断の非侵襲的方法を確立するための端緒を開くことを目的として、胚培養液から cell free DNA (cfDNA) の抽出・定量が可能かどうかを検討した。<方法>体外受精によって得られたマウス胚の5日間培養液からエタノール沈殿法で cfDNA を抽出し、インターカレーター法を用いたリアルタイム PCR による DNA の定量を行った。PCR の標的遺伝子は β -actin (141bp) で、検量線作成のためのコントロールは正常マウス脳組織が用いられた。<結果>cfDNA の抽出は 40 胚中 10 胚 (25%) で成功し、それらのうちの 5 胚で cfDNA の定量が可能であった。5 胚の cfDNA 量の平均値は 911.5 ± 1217.70 pg で、1 細胞に含まれているゲノム DNA 量 6-7pg から算出される cfDNA の由来細胞数は 130-150 個と推計された。<考察>エタノール沈殿法を用いることにより胚培養液から cfDNA の抽出が可能であることが証明された。DNA 収量から推定される cfDNA の由来細胞数は 130-150 個で、標的遺伝子の 260-300 コピーを検索することが可能であると考えられた。<結論>cfDNA を用いた検索で 260-300 コピーの遺伝子検査が可能で、倍数体異常や遺伝子メチル化の頻度などの検討に用いることができると考えられた。本研究の成果は胚選択等の臨床応用の可能性を示す価値の高い論文である。

[審査概要] 審査は主査および副査2名と3名の陪席者の出席を得て行われた。PCを用いた約20分間のプレゼンテーションとそれに引き続く質疑応答が行われた。質疑では、胚培養時間の妥当性、cfDNAの抽出方法としてエタノール沈殿法を採用した理由、cfDNA抽出失敗例の原因、培養液量の違いがcfDNA抽出量に与える影響などについて議論され、申請者は、質問に対して概ね適切に回答することができた。また、本研究の成果を踏まえた、今後の生殖医療研究の方向性についても示された。

最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] プレゼンテーションの内容は、生殖医療の現在の問題点から胚における遺伝子異常の診断の実際が説明され、本研究の目的や意義がわかり易くまとめられていた。また、本研究の課題についても示され、申請者は十分な専門的知識と研究能力を有していると判断された。申請者は、発表・質疑応答を通して常に礼儀正しく真摯な態度で臨まれ、学位授与に値する人物であると判断された。外国語試験では、申請論文で引用された英語論文の一部をその場で音読・翻訳させることで評価し、十分な語学力を有していることが確認された。