

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 藤村 大志

〔題名〕

Establishment of an in vitro implantation model using a newly developed mouse endometrial organoid

(新規子宮内膜オルガノイドを用いた in vitro 着床モデルの樹立)

〔要旨〕

着床とは、子宮内腔に到達した胚盤胞が子宮内膜に接着、浸潤する過程であり、妊娠の成立に不可欠な現象である。マウスの着床過程は、胚盤胞の接着、子宮内膜の陥凹、胚盤胞による上皮細胞の貪食、胚盤胞の浸潤の 4 つの段階に分類されるが、その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。その要因の一つとして、着床過程を体外で再現するモデルが確立されていないことが挙げられる。近年、三次元培養技術を用いた子宮内膜オルガノイドが樹立、報告され、子宮内膜の構造や機能を模倣するモデルとして注目されている。しかし、子宮内膜上皮細胞の頂端側がオルガノイドの内側を向いており、かつ子宮内膜間質細胞を含まない構造であるため、このオルガノイドを用いても in vitro で着床現象を再現することは不可能であった。そこで、本研究では子宮内膜上皮細胞の頂端側がオルガノイドの外側を向き、かつ子宮内膜間質細胞が上皮の内側に存在する新たなマウス子宮内膜オルガノイドを作成し、マウス胚盤胞と共培養することで体外で着床現象を再現するモデルを樹立することを目的とした。

マウスから子宮内膜上皮細胞と子宮内膜間質細胞を分取、混合し、単層培養に続き浮遊培養を行ったところ、培養 10 日間でオルガノイドの形成を認めた。このオルガノイドは E-cadherin 陽性の上皮細胞が外側を覆っており、Vimentin 陽性の間質細胞が上皮の内側に充満していた。さらに、上皮の頂端側を示す MUC1 はオルガノイドの外側を向いていた。次に、このオルガノイドとマウス胚盤胞を共培養し、着床の 4 段階を確認した。また、着床期に必要な女性ホルモン添加群と非添加群に分けて共培養を行ったところ、ホルモン添加群において有意に高い着床率を認めた。そして、着床後の胚盤胞由来細胞は Proliferin 陽性であり、周囲の間質細胞は Cox-2 陽性であることから、それぞれ栄養膜細胞、脱落膜化細胞へと分化したことを確認した。以上より、本モデルが体外で着床過程を再現することのできるモデルであることを示した。

作成要領

1. 要旨は、800 字以内で、1 枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

令和 7 年 8 月 6 日

報告番号	医博甲第 1742 号	氏名	藤村 大志		
論文審査担当者	主査教授	朝霧 成孝			
	副査教授	白石 晃司			
	副査教授	杉野 法広			
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)					
Establishment of an in vitro implantation model using a newly developed mouse endometrial organoid (新規子宮内膜オルガノイドを用いた in vitro 着床モデルの樹立)					
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)					
Establishment of an in vitro implantation model using a newly developed mouse endometrial organoid (新規子宮内膜オルガノイドを用いた in vitro 着床モデルの樹立)					
掲載雑誌名 Development					
第 152 巻 第 9 号 P.1-12 (2025 年 5 月 掲載)					
著者 (全員を記載) Taishi Fujimura, Isao Tamura, Azumi Yoshimura, Toshihide Yoneda, Hitomi Takasaki, Anon Shiroshita, Yuichiro Shirafuta, Shun Sato, Norihiro Sugino					
(論文審査の要旨)					
マウスの着床過程は、胚盤胞の接着、子宮内膜の陥凹、胚盤胞による上皮細胞の貪食、胚盤胞の浸潤の 4 つの段階に分類されるが、その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。その要因の一つは着床過程を体外で再現するモデルが確立されていないことである。近年、子宮内膜オルガノイドが樹立され、子宮内膜の構造や機能を模倣するモデルとして注目されているが、上皮細胞の頂端側がオルガノイドの内側を向いており、かつ間質細胞を含まない構造であるため、このオルガノイドを用いても in vitro で着床現象を再現することは不可能であった。そこで、本研究では子宮内膜上皮細胞の頂端側がオルガノイドの外側を向き、かつ子宮内膜間質細胞が上皮の内側に存在する新たなマウス子宮内膜オルガノイドを作製し、マウス胚盤胞と共培養することで体外で着床現象を再現するモデルを樹立することを目的とした。 マウスから子宮内膜上皮細胞と間質細胞を分離、混合し、単層培養に続き浮遊培養を行ったところ、培養 10 日でオルガノイドの形成を認めた。このオルガノイドは E-cadherin 陽性の上皮細胞が外側を覆っており、Vimentin 陽性の間質細胞が上皮の内側に充満していた。さらに、上皮の頂端側を示す MUC1 はオルガノイドの外側を向いていた。次に、このオルガノイドとマウス胚盤胞を共培養し着床の 4 段階を確認した。また、着床期に必要な女性ホルモン添加群と非添加群に分けて共培養を行ったところ、ホルモン添加群において有意に高い着床率を認めた。以上より、本モデルが体外で着床過程を再現することのできるモデルであることを示した。 本研究は、新規の子宮内膜オルガノイドと胚盤胞を共培養することによって目で見える in vitro 着床モデルを確立したものであり極めて独創的であり、また、不妊症の原因である着床不全の病態解明に繋がるものであり、学位論文として価値あるものと認めた。					