

(海外) 国内) インターンシップ報告書

2015 年 12 月 28 日提出

| | |
|--|---|
| 氏名 | 永井 克尚 |
| 所属 | 診断治療学講座 繁殖学教室 |
| 学年 | 博士課程 4 年 |
| 活動先名 | IVF lab., Lyons research farm, University College Dublin, Ireland |
| 期間 ① (出発日―帰札日) ② (インターンシップ 実施開始日―終了日) | ① 2015 年 11 月 20 日-12 月 11 日 ② 2015 年 11 月 23 日-12 月 9 日 |

・活動目的及びインターンシップ先を選択した理由

アイルランドは北海道と同等の面積しかない小国でありながら、ヨーロッパ有数の酪農・畜産国であり乳肉ともに国内自給率を優に充足し、多くを国外に輸出している。これを可能にしているのは、放牧を主とした季節繁殖を導入した飼養方法および限られた期間内に家畜を受胎させる高度な人工繁殖技術にあると考える。気候・土壌の違いはあれど、わが国における今後の酪農・畜産業の進むべき方向として参考とすべき国の 1 つであり、大学付属および近隣の農場を見学してその状況を自身の目で確認したいと考える。また、受け入れ先の Patrick Lonergan 教授は、牛の人工繁殖技術、特に体外胚生産において多くの業績を挙げており、現在この領域における世界の第一人者である。同教授は体外培養系により産生した牛胚を用い、胚の生存および発育に対する胚自身あるいは母体側が産生する因子の影響を研究している。今回は、Lonergan 教授の研究室および UCD の付属農場に滞在させて頂き、現在実施している体外卵子発育培養 (IVG) に関する研究への助言および指導を頂くと同時に、本研究室の培養系とは異なる牛の体外胚生産方法を学んでくる。UCD の研究グループは、生体および実験モデルを巧みに組み合わせて牛の繁殖生理を解明し、その結果を臨床応用可能な技術・理論にまで発展させる研究手法を得意としている。

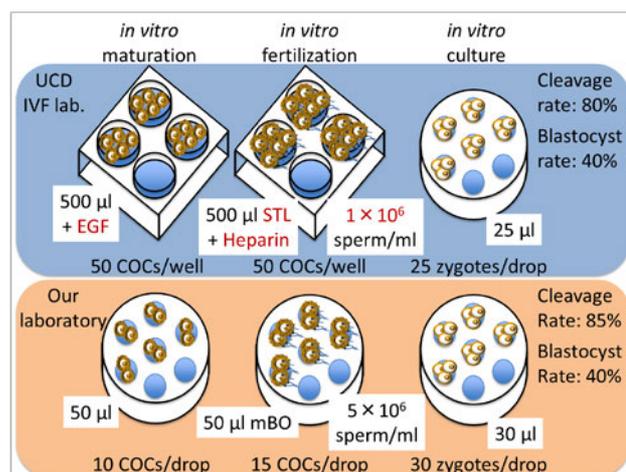
学位論文のキーワードである『家畜 (牛) の卵巣予備能』に関する研究は、この UCD のチームがイニシアティブをとり、世界中に多くのフォロワーを生み出した分野であり、今も多くの研究者が多方面からアプローチを続けている。これまで Lonergan 教授との間には個人そして教室間での繋がりにはなかったが、大学院間で学生の交換留学制度が締結されたことから北大・UCD 双方の教員にご協力頂いて受入れを認めて頂くことができた。

- ・ 活動内容・成果（2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい）

本研究室の培養系とは異なる牛の体外胚生産方法の修得

まず最優先の目的であった本研究室の培養系とは異なる牛の体外胚生産方法を学んできた。経腔採卵卵子および体外発育培養（IVG）卵子、いずれにおいても移植可能胚を作出する為には成熟培養、体外受精および発生培養の異なる 3 つの培養行程を経なければならない。成熟および発生培養に関しては、培養に供する卵子の数に影響を受けない個別培養技術を本研究室でも確立しているが、体外受精に関しては培養に用いる卵子の数を減らす検討を試みてはいるもののまだ個別および安定した培養系の確立には至っていない。Lonergan 博士および彼の研究室の研究として、各培養行程の卵子数を増減し移植可能胚への発生能を検討したものが数編あることから、本研究室よりも個別あるいは少数卵子での体外受精に関する知見を有しているのではと考えていた。

計 2 回の培養実験を行う機会があったが、いずれも 80% の卵割率、35~40% の胚盤胞率であり、割り当てられた卵巣数および培養に供した卵子の選抜をしていないことを考慮すると本研究室と同等あるいはそれ以上の成績が得られた。牛のと殺からの時間、輸送時の温度など諸条件の違いもあるため、本研究室においても再現実験を行う予定である。



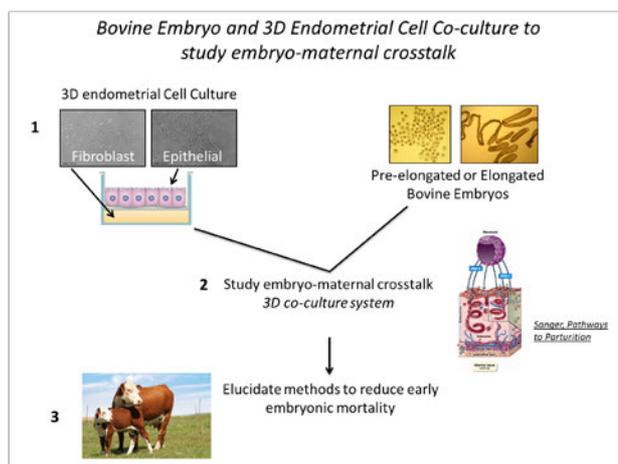
体外卵子発育培養（IVG）に関する研究への助言および指導

IVG 培養中の卵子顆粒層細胞複合体（OGC）の形態および分子マーカーの発現状況から OGC の発生ステージを推定するとともに、体内卵胞発育ステージの進行に応じた培養液組成および IVG による移植可能胚の生産性向上に繋げるため、体外および体内発育卵子の照合を行うための助言を求めた。先方は分子マーカーに関する知見は有しているものの、OGC の表面的な形態にミクロの形態を組み合わせることで比較を行うことを薦められた。Lonergan 博士の夫人である Trudee Fair 博士も UCD で講師を勤められている牛卵子の専門家であり、卵細胞質内の細胞小器官の形態、数および分布などを照合に用いるのが有用ではないかと彼女の研究業績を基に意見を頂いた。また現在 12 日間を要する IVG 期間を、卵子の老化および後の培養行程への悪影響を避ける

ためにさらなる培養期間の短縮にも挑戦するよう指摘を受けた。

IVF lab. の博士研究員および大学院生の実験見学

現在は移植可能胚の効率的な生産から、胚の生存および発育に対する胚自身あるいは母体側が産生する因子の影響、また逆に胚の存在による母体側の因子の発現の消長へと研究室の体制がシフトしており、多額の外部研究資金を獲得して大きなプロジェクトが動いていた。黄体の色および形から受精卵が下降してくるステージの牛と体子宮を用意し、前者では体外受精5日後の収縮桑実胚を子宮内膜組織と共培養することで胚発生能への母体側因子の影響を調べ、後者では体外受精7日後の胚盤胞を子宮内膜組織と共培養し子宮組織中の受胎関連因子（主に免疫系サイトカインや妊娠認識物質により発現が誘導される遺伝子など）の発現の消長を調べるとのことであった。



UCD 獣医学部学生の実験農場での実習への参加

農場に常駐しテクニカルアシスタントとして働く Pat Duffy 氏の好意により、牛の胚回収および経腔採卵の実習、馬の発情診断および子宮疾患診断の実習それぞれに参加してきた。牛に関しては、既に修得済みで学位論文研究においても実際に使用した手技ではあるが、教え方が非常に上手であり必要なキーワードを漏らさず伝えていた。これまでも、北大を訪れた海外からの研修生・実習生に対して指導的立場に立つことが多々あったが、今後は彼の指導法を参考にしてより分かり易い講義が出来ればと考えている。また、アイルランドはヨーロッパ有数の競走馬の馬産地であり、選択科目であるにも関わらず多くの学生が馬の実習を受講していた。直腸検査や超音波診断装置を用いた卵巣および子宮の描出は日本でも経験したことがあったが、腔鏡および子宮内腔液採取器具がディスプレイであるのには大変驚き、牛の潜在性子宮内膜炎の検査にも適応できるのではと考えた。



- ・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか。

牛の体外胚生産の第一人者である Patrick Lonergan 教授および彼の夫人であり発育卵胞中の卵子微細構造の研究者である Trudee Fair 講師と短期間ではあるが直接指導を受けることができ大変有意義であった。今後も継続して連絡を取り合うことができるのは、卵子に関する研究を続けて行く上で大きな支えになることと思う。

また、研究室に在籍する博士研究員および大学院生は国籍も背景も様々であり、彼らの優しさに感謝すると共に多くの時間を共有でき大変刺激になった。彼らはネイティブと遜色ない英語を話しており、今後の海外でのキャリアを考える上で、自身の英語力をさらに向上させる必要を感じた。一方で、自分の持つ技術および人物像をアイルランド人以外にも認知してもらえ良好な関係も築けたことは、今後の共同研究などを行う上で役立つものとする。そのためにも、現況および成果を発信し続けなければと改めて銘肝した。

さらに、Pat Duffy 氏による獣医学生に対する実習においては、その内容に UCD の牛に関する最新の研究成果が多分に盛り込まれており、深く印象に残った。国際協力もキャリアの1つとして考慮している自分にとっては、その教え方および常に最新の研究成果をフォローする姿勢は見習うべき点であった。また、研究および教育者としても、臨床を意識し社会へと研究成果が直接あるいは学生の教育を通して還元されることを意識しなければと再認識した。

- ・後輩へのアドバイス

現地において、実際に体外卵子発育培養の行程の実演およびこれまでの研究内容の発表機会を設けて頂き、細かい作業を短時間で行う姿に感嘆されると共に内容にも興味を持たれ、今後の展望や共同研究に適した他国の研究者の紹介など、予想以上に情報を提供して頂けた。海外での博士研究員を希望しているのであれば、3年の後期までに希望する研究室を訪ねておくことをお勧めします。3年時に渡航しておくことで、翌年の海外学振などに応募する機会やその Lab. で必要な知識・技術の修得の時間にも充てられるのではと思います。

| | |
|---------|---|
| 指導教員確認欄 | 指導教員所属・職・氏名 診断治療学講座 繁殖学教室 教授 片桐 成二 印 |
|---------|---|