

# Three-dimensional visualization of intrauterine conceptus through the uterine wall by tissue clearing method.

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: eng<br>出版者:<br>公開日: 2018-09-07<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者:<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/2297/00052111">http://hdl.handle.net/2297/00052111</a>       |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第 152 号 氏名 鏡 京介  
論文審査担当者 主査 大黒 多希子  
副査 絹谷 清剛  
尾崎 紀之

### 学位請求論文

題 名 Three-dimensional visualization of intrauterine conceptus through the uterine wall by tissue clearing method.  
掲載雑誌名 Scientific reports 第 7 巻第 1 号 5964 頁～5972 頁  
平成 29 年 7 月掲載

ヒト胎盤形成において重要な役割を担う絨毛外栄養膜細胞 (Extravillous Trophoblast: EVT) は、脱落膜から子宮筋層に向かって浸潤していくが、この浸潤する EVT と周囲の細胞、血管組織との関係性を解明する上で、3 次元における空間的解析が有用とされる。しかし、従来の方法である組織をまたぐ多様の切片を用いた 3 次元画像構築は、多くの労力と時間を要することから、3 次元空間での細胞の分布および組織学的解析は非常に困難であった。そこで、今回申請者らは、最近新たに発表された組織透明化技術を用いて、マウスの妊娠子宮の 3 次元画像構築を行い、浸潤する EVT が分布する **feto-maternal interface** を 3 次元的に観察可能か、また、3 次元空間の中から同定した任意の部位に対して組織学的解析が可能か検証を行った。

その結果、まず、組織透明化法の一つである **modified-CUBIC** 法を用いて作成した、**embryonic day 9.5 (E9.5)** から **E14.5** の透明化した妊娠子宮組織は、光シート顕微鏡で切片化することなく単細胞解像度で深部まで観察可能であり、任意の断面を描出することが明らかとなった。また、野生型のメスマウスと **GFP** オスマウス (全身が蛍光緑で修飾されているマウス) を交配させることによって、胎仔・胎盤のみが蛍光緑に修飾される妊娠マウスが作成可能であるが、このマウスの妊娠子宮組織を上記と同様に透明化することにより、これまで 2 次元像でしか捉えられなかった **feto-maternal interface** を容易に 3 次元像として構築することを可能とただけでなく、これまで困難であった浸潤する **trophoblast giant cell (EVT の一部)** の単細胞解像度で観察をも可能とした。さらに、これらの透明化組織切片は、ヘマトキシリン・エオジンによりよく染色でき組織学的解析が可能であるだけでなく、含まれるタンパク質が抗原性を維持していることを、免疫組織化学によって証明した。

本論文では、これまで組織から作成した切片を用いた染色等の方法で、2 次元的にしか知り得なかった着床から胎盤・胎児の発生過程を、組織透明化法を用いることによって、3 次元空間的関連性を保持しつつ、特定細胞を単細胞解像度で観察できる新たな手法を提示しているという点で大変重要な報告である。**CUBIC** 法と光シート顕微鏡での観察は、生殖・発生生物学の進展に寄与しうる手法であるとともに、腫瘍学などを含む臨床病理学的分野への応用も期待される。以上から、当該論文は本学の学位論文として適格であると判断する。