

#### 〈4〉細胞シート工学再生医療技術を用いた *in vitro* における子宮内膜組織三次元構築と受精卵着床・浸潤解明のための新規実験系の開発に関する研究

##### Development of a Novel Experimental Method of *in Vitro* Embryo-Endometrium Interactions Systems with Three-Dimensional Assembled Endometrium Tissue using Cell-Sheet Engineering

東京女子医科大学産婦人科学講座 藏本 吾郎

生殖補助医療は、様々な不妊症の原因に対応すべく様々な方法が開発されてきた。その方法として排卵誘発法や胚培養法が年々改善され、胚移植率は向上したものの良好な受精卵を移植しても一定の確率で受精卵が着床しないことが問題となっている。そのため、受精卵着床率の向上のためにも子宮内膜と胚との因果関係を明らかにすることが課題である。これまでの *in vitro* 研究の報告では、培養子宮内膜細胞は単層培養などの薄い構造であり、受精卵が一定の厚みを浸潤する過程までの観察はできていない。我々の研究室で開発された細胞シートは、細胞をシート状に回収することができ複数の細胞シートを積層させ厚みのある組織を作製することが可能である。この技術を用いて本研究では子宮内膜・受精卵の相互作用解明のための実験系を作成することを目的とする。

3週齢SDラットの子宮内膜細胞より子宮内膜上皮、間質細胞シートを回収し積層化することによって正常子宮内膜様の3次元子宮内膜組織を構築した。受精卵移植のためこれを安定的に保持するため、接着用足場の作成を行った。コラーゲンの足場に積層化子宮内膜細胞シートを設置したところ剥離してしまい安定しなかったが、コラーゲンとフィブリンを等量で使用して足場を作成したところ細胞シートは安定して接着した。

次にSDラットの受精卵作成を行った。一般的にラットの受精卵はマウスよりも困難であるが、採取方法、培養方法などの検討により胚盤胞までの成長を確認した。今後さらに良好な胚盤胞達成率とするため改善していく予定である。

現在は、上記で作成した3次元子宮内膜組織に対して胚盤胞の移植を行うことができおり、経時的な変化を正確に観察する方法を検討中である。具体的にはタイムラプス顕微鏡を用いて胚の3次元子宮内膜組織に対する浸潤の観察を試行中である。明確な描出のために受精卵と子宮内膜に対して蛍光色素染色を行い観察を行っていく予定である。