

## カニクイザル始原生殖細胞の検出と培養の試み

土屋英明<sup>1</sup>、中川佳子<sup>2</sup>、岡田浩典<sup>3</sup>、下澤律浩<sup>3</sup>、高田達之<sup>1</sup>、鳥居隆三<sup>1</sup>、  
桑名 貴<sup>2</sup>、山海 直<sup>3</sup>（<sup>1</sup>滋賀医大・動物センター、<sup>2</sup>国立環境研・環境研究基盤ラボ、<sup>3</sup>国立感染研・霊長類センター）

### 【目的】

哺乳動物の始原生殖細胞 (primordial germ cell ; PGC) に関する研究はマウスにおいてはいくつかの報告がなされている。PGC は遺伝子保存、個体作出技術としての利用だけではなく、ヒト胎児に由来する PGC を用いた研究は遺伝子治療、再生医療等の医療分野での応用が期待されている。しかし、ヒト胎児を用いて生殖細胞の基礎的研究を行うことは困難であり、ヒトにもっとも近縁な哺乳動物であるサル類を用いた研究が重要であると考えられる。本研究を遂行するためには、発生ステージが明確な胎児を用いることが重要である。そこでカニクイザルを用いて、妊娠日の判定、妊娠診断について検討し、さらに 30、33 および 36 日齢のカニクイザル胚を用いて胚中の PGC を採取することが可能か否かについて検討を加えた。

### 【材料および方法】

性成熟メスカニクイザルのメンス出血確認初日から数えて 10~14 日目までの 3 日間に性成熟オスカニクイザルと同居交配を行った。交配期間の前後 5~7 日間にメス血液中の estradiol-17 (E2) の濃度を測定し排卵日を推定した。推定排卵日から 21 および 28 日目に血液を採取し beta-subunit of macaque chorionic gonadotropin( -mCG) の血中濃度測定により妊娠診断を行った。妊娠個体の推定排卵日から 30、33 および 36 日に胚を摘出し胚中の PGC を採取し体外培養することが可能か否かについて検討を行った。

### 【結果および考察】

同居交配を実施した個体について排卵日を推定した。これらの個体において排卵日から約 3 週目に妊娠診断を実施したところ妊娠個体を確認し、胚の摘出を行った。36 日齢胚では左右の生殖巣が形成されていたため、右生殖巣を短期培養後アルカリフォスファターゼ染色し、左生殖巣をロスマン固定後 PAS 染色した。その結果、生殖巣の細胞がアルカリフォスファターゼ活性陽性、PAS 染色陽性を示すことが確認された。30 日齢胚では生殖隆起が形成されていなかったため、予定生殖巣部域と腸間膜および尿膜基部腸管を培養した。33 日齢胚では生殖隆起が形成されており、生殖隆起と腸間膜を採取して培養した。30 日齢胚の尿膜基部腸管の細胞を約 2 ヶ月培養した場合と 33 日齢胚の生殖隆起と腸間膜を約 1 ヶ月培養した場合において、SSEA1 弱陽性、AP 活性陽性、PAS 染色陽性を示す細胞の存在が確認できた。このことから、カニクイザル PGC が体外培養で維持できる可能性が示唆された。