

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：特別推進研究

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06098

研究課題名(和文) ヒト生殖細胞発生機構の解明とその試験管内再構成

研究課題名(英文) Mechanism and Reconstitution In Vitro of Human Germ Cell Development

研究代表者

齋藤 通紀 (Saitou, Mitinori)

京都大学・高等研究院・教授

研究者番号：80373306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 439,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ヒト生殖細胞発生機構の解明とその試験管内再構成を目的に、マウス、カニクイザルをモデルとし、またヒトiPS細胞を用いた研究を推進した。マウス生殖細胞雌性化機構の解明、マウス雄性生殖細胞全発生過程の試験管内再構成、霊長類X染色体遺伝子量補正プログラムの解明、マウス・サル生殖巣体細胞発生機序の解明、ヒト始原生殖細胞様細胞形成機構の解明、ヒト始原生殖細胞様細胞長期培養法の確立、ヒトiPS細胞からヒト初期卵母細胞の誘導、を含む成果を発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖細胞は、ヒトを含む多細胞生物の遺伝情報を次世代に継承し、その多様性を形成する、生命の根幹をなす細胞である。生殖細胞の発生機構の解明は、遺伝情報継承機構の解明や、その異常に起因する不妊や発生異常、遺伝病の発症機序解明、治療法の開発につながる。本研究により、ヒト生殖細胞試験管内再構成研究の基盤が形成され、ヒト生殖細胞発生機構の解明が進展した。本研究の成果は、生命科学の重要な礎となると同時に、生殖医学に新しい可能性を提示するものである。

研究成果の概要(英文)：This study aims at understanding the mechanism of human germ-cell development and promoting the in vitro reconstitution of human germ-cell development, using knowledges obtained from mice and cynomolgus monkeys as models and from human induced pluripotent stem cells (hiPSCs)-based in vitro systems. The key achievements include the elucidation of the mechanism for the female germ-cell sex determination in mice, in vitro reconstitution of entire male germ-cell development from PSCs in mice, elucidation of the X-chromosome dosage compensation program during the development of cynomolgus monkeys, elucidation of the ontogeny of the gonadal somatic cells in mice and monkeys, establishment of a method for long-term in vitro expansion of human primordial germ cell-like cells (hPGCLCs), and induction of human early oocyte-like cells from hiPSCs.

研究分野：細胞生物学、発生生物学、生殖生物学、幹細胞生物学、エピジェネティクス、再生医学

キーワード：生殖細胞 iPS細胞 エピゲノムリプログラミング 卵母細胞 試験管内誘導 ヒト発生生物学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

精子・卵子・その前駆細胞を総称して生殖細胞と呼ぶ。生殖細胞は、多細胞生物の遺伝情報・エピゲノム情報を次世代に継承し、また、その多様性を形成する。生殖細胞の発生機構の解明は、その異常に起因する不妊・遺伝病・エピゲノム異常の発症機序解明につながる。

我々は、マウスを用いて、始原生殖細胞 (primordial germ cells: PGCs) の形成機構を解明し、多能性幹細胞 [胚性幹細胞 (embryonic stem cells: ESCs) や人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPSCs)] から始原生殖細胞様細胞 (PGC-like cells: PGCLCs) を誘導、それらから精子・卵子、さらには健全な産仔を作製した。また、マウス PGCs/PGCLCs における転写・エピゲノム制御機構の詳細を解明した (review, *Cell Stem Cell*, **18**, 721-735, 2016)。

生殖細胞研究の次の重要な目標の一つに、ヒト生殖細胞の発生機構の解明があげられる。我々はヒト iPSCs からヒト PGCLCs を誘導することに成功した (*Cell Stem Cell*, **17**, 178-194, 2015)。一方、ヒト PGCs がエピゲノムリプログラミングを遂行し雌雄生殖細胞に分化開始するまでに、6-8 週間を要し、マウスにおいて同様の期間が 3-4 日であるのと大きく異なる。即ち、ヒト PGCLCs を卵母細胞や精原細胞に分化させるには、まず、ヒト発生 2 週から 10 週に相当するヒト生殖細胞の分化成熟 (エピゲノムリプログラミング及びそれに伴う雌雄生殖細胞への分化準備) を試験管内で再現することが必要となる。

非ヒト科霊長類の生殖細胞の発生機構を解明し、それを試験管内再構成して、誘導された細胞の特性を評価する研究は、ヒト iPSCs から誘導される生殖細胞系譜の特性を評価する際に、重要な指標を提供する。我々は、カニクイザル [cynomolgus monkeys (cy); *Macaca fascicularis*] を用いて、マウス・サル・ヒトにおける多能性スペクトラムの発生座標を解明し、カニクイザル・ヒト PSCs は着床後 1 週間のカニクイザル胚体外胚葉の特性を有すること (*Nature*, **537**, 57-62, 2016)、カニクイザル生殖細胞は初期羊膜にて形成されること (*Dev. Cell*, **39**, 169-185, 2016)、を証明した。

### 2. 研究の目的

本研究では、ヒト生殖細胞発生過程の試験管内再構成を進展させ、ヒト生殖細胞の発生機構とその異常に関する特段の知見を得る基盤を形成することを目的に、以下の研究を推進した。

#### 1. 規定条件に基づくマウス PGCLCs の雌雄生殖細胞への分化制御法の開発

マウス PGCLCs を成熟卵子や精原細胞に分化させるには、マウス生殖巣細胞との凝集培養が必須である。一方、生殖巣細胞との凝集培養では、体細胞より生起する事象が不明で、その解析が困難となる。我々は、サイトカイン等存在下、マウス PGCLCs を平面培養し、最大 50 倍に増殖、エピゲノムリプログラミングを完遂し、雌雄分化直前の状態に分化させる方法論を開発した (*EMBO J.*, **36**, 1888-1907, 2017; 本研究期間中に accept)。本研究では、マウス PGCLCs を、生殖巣細胞を用いず、雌雄生殖細胞に分化誘導する方法論の開発を行った。

#### 2. カニクイザル PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄 (特に雌性) 生殖細胞への分化法開発

本研究では、カニクイザル PSCs を PGCLCs に誘導、それらにエピゲノムリプログラミングを誘導し、さらに、雌性生殖細胞に分化させる方法論の開発を行った。

#### 3. ヒト PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄 (特に雌性) 生殖細胞への分化法開発

本研究では、ヒト PGCLCs にエピゲノムリプログラミングを誘導し、次いで、雌性生殖細胞へ分化させる方法論の開発を行った。

#### 4. ヒト iPSCs からのヒト生殖巣細胞系譜の誘導法の開発

ヒト PGCLCs を成熟卵子や精原細胞に分化させるには、ヒト生殖巣細胞との凝集培養が必要となる可能性が高い。しかしながら、適切な発生時期のヒト生殖巣細胞の恒常的な入手は、技術的にも倫理的にも容易ではない。本研究では、ヒト iPSCs からヒト生殖巣細胞を誘導する方法を開発し、hPGCLCs と凝集培養させることで、ヒト生殖細胞を分化成熟させる基盤形成を行った。

### 3. 研究の方法

#### 1. 規定条件に基づくマウス PGCLCs の雌雄生殖細胞への分化制御法の開発

*Blimp1*, *Stella*, mVH (*Ddx4*) もしくは *Nanos2* 制御下にそれぞれ mVenus, ECFP, RFP/tdTomato を発現するマウス ESCs [*Blimp1-mVenus:Stella-ECFP:mVH-RFP* or *Nanos2-tdTomato* (BVSCVR or BVSCNT) ESCs] を樹立、これら由来 PGCLCs に、サイトカインや化合物を加え、マウス PGCLCs の雌雄生殖細胞分化法を確立、マウス雌雄生殖細胞分化機構の解明を行った。

#### 2. カニクイザル PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄 (特に雌性) 生殖細胞への分化法開発

*BLIMP1*, *TFAP2C* 制御下にそれぞれ tdTomato, EGFP を発現する雌雄カニクイザル PSCs を樹立 [*BLIMP1-tdTomato:TFAP2C-EGFP* (BTAG)], それらを PGCLCs に誘導、さらに、卵原細胞にて発現する *DAZL* 及び cyVH(*DDX4*) 制御下に tdTomato を発現する雌性カニクイザル PSCs [AG を有する PSCs に *DAZL*- or cyVH(*DDX4*)-tdTomato (DT or VT) を導入し、AGDT/VT とする] を樹立し、

カニクイザル PGCLCs にエピゲノムリプログラミング及び雌性分化を誘導する方法論の開発を行った。

### 3. ヒト PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄（特に雌性）生殖細胞への分化法開発

高効率でヒト PGCLCs が誘導される雌雄ヒト iPSCs の選定、ヒト PGCLCs 形成に関する転写制御機構の解明、雌性ヒト AGDT/VT iPSCs を樹立し、ヒト PGCLCs にエピゲノムリプログラミング及び雌性分化を誘導する方法論の開発を行った。ヒト PGCLCs を増殖・分化させる条件を検討し、誘導細胞を詳細に解析、ヒト生殖細胞の分化成熟機構解明を目指した。

#### 4. ヒト iPSCs からのヒト生殖巣体細胞系譜の誘導法開発

ヒト iPSCs [Epiblast (EPI)に相当] を起点に、初期後方中胚葉 [nascent posterior mesoderm (PSM)], 中間中胚葉 [intermediate mesoderm (IM)], 体腔上皮 [coelomic epithelium (CE)], 生殖原器 [gonad primordium (GP)] の順に誘導を進めるため、本分化過程における主なマーカーとなる *T*, *OSRI*, *GATA4*, *WT1*, *SF1*, *FOXL2* の発現をレポートするヒト iPSCs/カニクイザル ESCs を作製し、iPSCs→PSM→IM→CE→GP と分化させる条件を検証した。2., 3. の研究で誘導されたカニクイザル及びヒト雌性生殖細胞と、本研究で誘導したカニクイザル及びヒト生殖巣体細胞を凝集培養し、ヒト雌雄生殖細胞を卵母細胞に成熟させる条件検討を行う基盤形成を目指した。

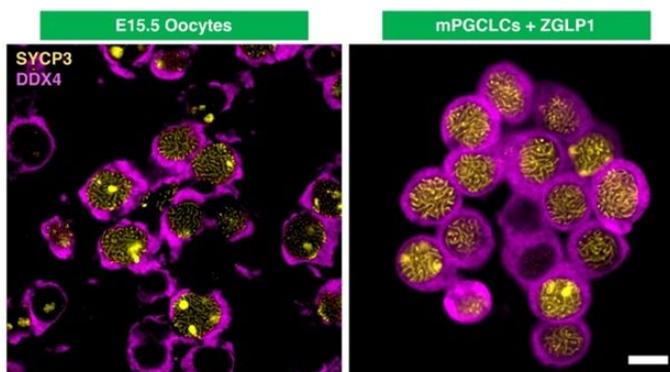
## 4. 研究成果

### [ ① 本研究課題による研究成果 ]

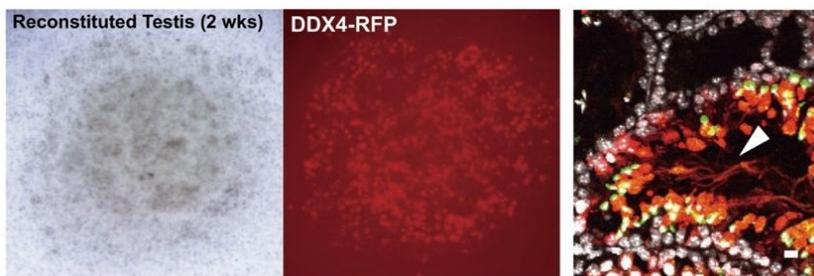
#### 1. 規定条件に基づくマウス PGCLCs の雌雄生殖細胞への分化制御法の開発

トランスジェニックマウス由来胚盤胞より、BVSCVR ESCs を樹立、それを起点に誘導した PGCLCs (*EMBO J.*, **36**, 1888-1907, 2017; *Biol. Reprod.*, **104**, 344-360, 2021) に、bone morphogenetic protein (BMP) と RA を加えることで、PGCLCs を卵母細胞様細胞に誘導出来ることを証明した (*EMBO J.*, **36**, 3100-3119, 2017)。雌性化を制御する卵巣顆粒膜細胞は BMP2 を高発現することから、本研究は、生殖細胞の雌性化シグナル機構を解明した成果である。

本系を用い、雌性化を誘導する転写制御因子の解析を行った。その結果、PGCLCs に ZGLP1 (Zinc-finger, GATA-like protein 1) を発現することで卵母細胞様細胞を誘導出来ることを証明した。Zglp1 ノックアウトマウスは雌雄ともに不妊、特にメスの減数分裂導入が完全に障害されること、ZGLP1 は BMP 下流で機能し、生殖細胞の雌性化・減数分裂導入に中心的な役割を果たすことを証明した (*Science*, **367**, eaaw4115, 2020)。本研究は、生殖細胞の雌性化・減数分裂導入機構を解明した成果である (図 1: マウス発生 15 日目の卵母細胞 (左) と PGCLCs に ZGLP1 を発現させて誘導した卵母細胞 (右)。SYCP3 と DDX4 により染色)。



ゲノム編集により BVSCNT ESCs を樹立、BVSCVR/NT ESCs を用いて PGCLCs を雄性化するサイトカインをスクリーニングした。一方、増殖培養した PGCLCs と改善した再構成精巣法を用いて、精子形成・産仔に高い効率で寄与する精原幹細胞を樹立する方法論を確立した (*Cell Stem Cell*, **28**, 2167-2179, 2021) (図 2: 培養 2 週間目の再構成精巣の明視野 (左) と DDX4-RFP 蛍光像 (中)。PGCLC 由来 GSCLCs を新生仔精巣に移植後培養した精巣内で分化した精子 (矢頭) (右)。DDX4 (赤) と PNA (緑) を染色)。



さらに、Klinefelter 症候群モデルを含む性染色体異常マウスから iPSCs を作製し PGCLC を介して精子・産仔を得ることに成功した (*Science*, **357**, 932-935, 2017: 本研究により accept)。

#### 2. カニクイザル PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄（特に雌性）生殖細胞への分化法開発

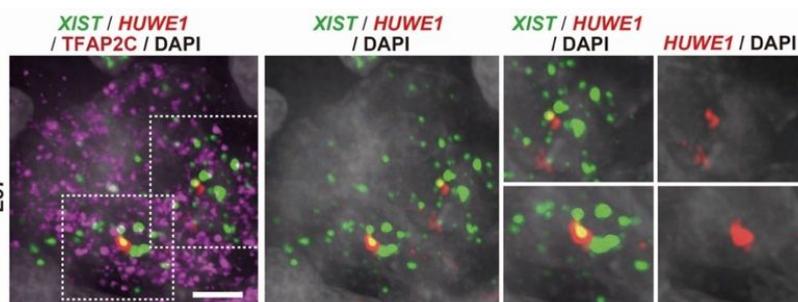
カニクイザル ESCs を安定して培養する条件を開発し、ゲノム編集法により BTAG カニクイザル ESCs を樹立、カニクイザル PGCLC 誘導法を確立した。本実験系を用いて、カニクイザル PGCLCs がサル初期 PGCs に相当する細胞であること、ヒト・サル・マウスにおける PGC(LC)誘

導過程の共通点と相違点を明らかにした (*Biol. Reprod.*, **102**, 620-638, 2020)。

BTAG 及び AGVT 雌カニクイザル ESCs を複数株樹立し、誘導したカニクイザル雌 PGCLCs をマウス胎児卵巣体細胞と凝集培養 (サル・マウス異種間再構成卵巣) することで、VT 陽性、その一部は減数分裂マーカー陽性の初期卵母細胞様細胞が分化することを明らかにした (manuscript in preparation)。本成果は、カニクイザル多能性幹細胞を起点とする卵母細胞誘導系の基盤を形成する成果である。

ヒト及びカニクイザル PSCs から雌性生殖細胞系譜を誘導する上で、X 染色体のエピゲノム情報が正しく制御されることは極めて重要である。その観点から、カニクイザル着床前・後胚、生殖細胞系列における X 染色体の詳細な動態を解析した。その結果、メス胚では、栄養膜外胚葉、それに由来する細胞性栄養膜細胞では、両 X 染色体が、*XIST* (X-inactive specific transcript) に覆われ、抑制性ヒストン修飾を有し凝縮した形態を呈するものの活性状態を保った中間体を経て、着床直後に、一方の X 染色体が不活化を起こし、もう一方は完全な活性型となること、羊膜・胚体外胚葉・胚体外内胚葉では、同活性中間体が長く維持され、着床後 1 週間程で X 染色体不活化が起こること、オス胚では、1 本の X 染色体が同活性中間体を経た後に完全な活性型となることを解明した。一方で、PGCs は、X 染色体不活化過程と逆の素過程を遂行することで、X 染色体再活性化を起こすことを証明した (*Science*, **374**, eabd8887, 2021)。本成果は、霊長類における X 染色体動態を包括的に解明した成果である (図 3:カニクイザル発生 57 日目卵原細胞における *XIST/HUWE1* の発現の RNA-FISH (fluorescence in situ hybridization) 像。TFAP2C と DAPI 染色も合わせて行っている)。

ヒト及びカニクイザル PSCs から雌性生殖細胞系譜を誘導する上で、X 染色体のエピゲノム情報が正しく制御されることは極めて重要である。その観点から、カニクイザル着床前・後胚、生殖細胞系列における X 染色体の詳細な動態を解析した。その結果、メス胚では、栄養膜外胚葉、それに由来する細胞性栄養膜細胞では、両 X 染色体が、*XIST* (X-inactive specific transcript) に覆われ、抑制性ヒストン修飾を有し凝縮した形態を呈するものの活性状態を保った中間体を経て、着床直後に、一方の X 染色体が不活化を起こし、もう一方は完全な活性型となること、羊膜・胚体外胚葉・胚体外内胚葉では、同活性中間体が長く維持され、着床後 1 週間程で X 染色体不活化が起こること、オス胚では、1 本の X 染色体が同活性中間体を経た後に完全な活性型となることを解明した。一方で、PGCs は、X 染色体不活化過程と逆の素過程を遂行することで、X 染色体再活性化を起こすことを証明した (*Science*, **374**, eabd8887, 2021)。本成果は、霊長類における X 染色体動態を包括的に解明した成果である (図 3:カニクイザル発生 57 日目卵原細胞における *XIST/HUWE1* の発現の RNA-FISH (fluorescence in situ hybridization) 像。TFAP2C と DAPI 染色も合わせて行っている)。



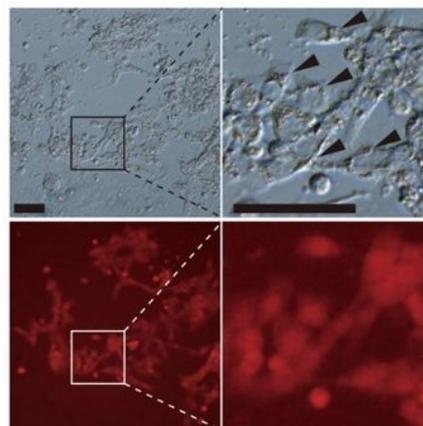
カニクイザル ESC 由来生殖細胞をさらに分化・成熟させる基盤を形成するため、卵原細胞が主な生殖細胞である発生 8-9 週齢のカニクイザル卵巣を、原始卵胞が主な生殖細胞である発生 18-19 週齢の卵巣に成熟させる培養法の検討を行った。

### 3. ヒト PGCLCs のエピゲノムリプログラミング誘導・雌雄 (特に雌性) 生殖細胞への分化法開発

雌雄ヒト iPSCs の PGCLC 分化効率 clonal variance の原因の一端を解明し、高効率でヒト PGCLCs に分化する雌雄ヒト iPSCs を選定した (*Biol. Reprod.*, **96**, 1154-1166, 2017; 本研究期間中に accept)。さらに、雌雄ヒト iPSCs の epigenetic heterogeneity を詳細に解析し、常染色体の 1/4 に及ぶ領域が epigenetic heterogeneity を有し、promoters/CpG islands には H3K27me3/H2AK119ub1 の、進化的に若い転移因子には H3K4me3 の heterogeneity が濃縮すること、100 kb 以上に及び H3K9me3 の differential enrichment を呈する 145 の常染色体領域を同定し、それらが体細胞の核ラミナ結合領域に由来することを解明した。また、雌性ヒト iPSCs において、一方の X 染色体全体を H3K9me3 が修飾し X erosion を防ぐ新規の X 染色体のエピゲノム状態を同定した (*Cell Rep.*, **37**, 109909, 2021)。

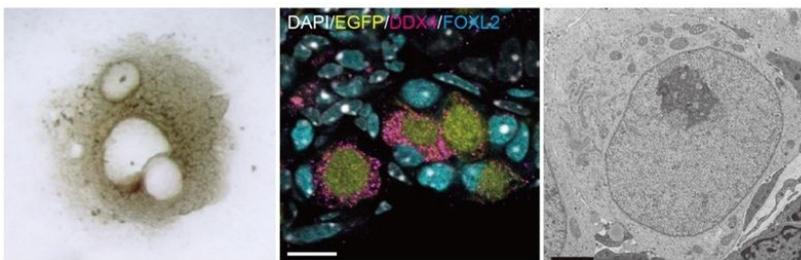
ヒト PGCLC 形成過程では、マウスと異なる転写因子が機能し、マウスと保存された転写因子もその作用の階層性が異なることを証明、生殖細胞形成機構の進化的多様性を明らかにした (*Cell Stem Cell*, **21**, 517-532, 2017)。ヒト PGCLCs を誘導する十分な転写因子を同定し、ヒト PGCLC 形成過程の転写制御機構を高解像度で解明した (*Life Science Alliance*, **4**, e202000974, 2021)。

ヒト PGCLCs を分化成熟させ、エピゲノムリプログラミング及び、特に雌性生殖細胞への分化誘導法を開発するため、雌性ヒト AGDT 及び AGVT iPSCs を樹立した。第一に、マウス PGCLCs の培養条件を基盤に、様々なサイトカイン及び化合物、基礎培地を比較検討し、BTAG 陽性細胞を少なくとも 120 日間培養し 100 万倍まで増殖させる方法論を開発した。本方法論にて増殖させた BTAG 陽性細胞は、ヒト初期 PGCs のトランスクリプトームを維持し、また、増殖培養したマウス PGCLCs と異なり、DNA メチロームを維持することを証明した (*EMBO J.*, **39**, e104929, 2020)。本研究は、転写制御機構のみならず、増殖能力・エピゲノムリプログラミング誘導機構のヒト・マウス間における差異を明らかにした成果である (図 4: 培養 30 日目のヒト PGCLCs (矢頭: 右) の明視野 (上) と BT 蛍光像 (下)。四角で囲った領域 (左) の拡大像 (右))。



ヒト PGCLCs を分化成熟させ、エピゲノムリプログラミング及び、特に雌性生殖細胞への分化誘導法を開発するため、雌性ヒト AGDT 及び AGVT iPSCs を樹立した。第一に、マウス PGCLCs の培養条件を基盤に、様々なサイトカイン及び化合物、基礎培地を比較検討し、BTAG 陽性細胞を少なくとも 120 日間培養し 100 万倍まで増殖させる方法論を開発した。本方法論にて増殖させた BTAG 陽性細胞は、ヒト初期 PGCs のトランスクリプトームを維持し、また、増殖培養したマウス PGCLCs と異なり、DNA メチロームを維持することを証明した (*EMBO J.*, **39**, e104929, 2020)。本研究は、転写制御機構のみならず、増殖能力・エピゲノムリプログラミング誘導機構のヒト・マウス間における差異を明らかにした成果である (図 4: 培養 30 日目のヒト PGCLCs (矢頭: 右) の明視野 (上) と BT 蛍光像 (下)。四角で囲った領域 (左) の拡大像 (右))。

第二に、ヒト PGCLCs をマウス胎児卵巣体細胞と凝集培養(ヒト・マウス異種間再構成卵巣)することで、ヒト PGCLCs が分化成熟するかを検証した。その結果、異種間再構成卵巣内で、ヒト PGCLC 由来細胞は少なくとも 120 日間生存し、ゲノムワイドな DNA 脱メチル化・インプリントの消去を含むエピゲノムリプログラミングを起こし、ヒト卵原細胞に類似する細胞に分化することを証明した。特に雌性ヒト iPSCs を異種間再構成卵巣内で 120 日目培養すると、減数分裂を開始した初期卵母細胞に分化することを示した (*Science*, **362**, 356-360, 2018; *Nat. Protoc.*, **15**, 1560-1583, 2020)。この成果は、ヒト PGCLCs が生殖細胞として分化可能なことを初めて示した成果である(図 5: 培養 77 日目のヒト・マウス異種間再構成卵巣(左)と分化したヒト卵原細胞の免疫蛍光染色(中)と電子顕微鏡写真(右))。



ヒト iPSC 由来生殖細胞をさらに分化成熟させる基盤を形成するため、卵原細胞が主な生殖細胞である発生 11 週のヒト胎児卵巣を成熟させる培養法の検討を行った(ヒト遺伝子解析研究・承認済み)。

#### 4. ヒト iPSCs からのヒト生殖巣体細胞系譜の誘導法の開発

マウスを用いて、*T/Osr1/Wt1* 発現細胞の細胞系譜追跡実験を行い、胚体外胚葉から生殖巣体細胞が誘導される過程で鍵となる機能的な転写因子は、*T→OSR1→WT1→GATA4/LHX9/SF1* と推移することを証明した。さらに、マウス・カニクイザル試料を用いて、PSM→IM→CE→GP 発生過程で発現する鍵となる転写因子の免疫染色による詳細な発現解析、マウス・カニクイザル CE 及び GP を構成する細胞の時系列 single-cell RNA-seq data を取得・詳細な解析を行い、マウス・カニクイザルにおける生殖巣体細胞形成機構を提唱した (*Cell Rep.*, **35**, 109075, 2021)。

1., 2., 3. で得られた成果及び特に卵母細胞を誘導する研究を発展させるため、本研究ではヒト及びカニクイザル PSCs から雌性生殖巣体細胞を誘導する方法論の開発に焦点を絞り、ゲノム編集技術を用いて、*T-EGFP/OSR1-tdTomato* (TGOT), *NR5A1(SF1)-EGFP/FOXL2-tdTomato* (NGFT) (*FOXL2* は顆粒膜細胞のマーカー)ヒト及びカニクイザル雌性 PSCs を作成した。さらに、ヒト及びカニクイザル雌性 PSCs を起点として、PSM、IM、CE を介し、胎児卵巣体細胞様細胞を誘導する方法論の検討を行った。

#### [ ② 当初に予見していなかった新たな展開等によって得られた研究成果 ]

3. の研究において、ヒト PGCLCs が長期培養可能となることは当初予見していなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計46件（うち査読付論文 46件 / うち国際共著 14件 / うちオープンアクセス 24件）

1. 著者名 Okamoto Ikuhiro, Nakamura Tomonori, Sasaki Kotaro, Yabuta Yukihiro, Iwatani Chizuru, Tsuchiya Hideaki, Nakamura Shin-ichiro, Ema Masatsugu, Yamamoto Takuya, Saitou Mitinori	4. 巻 374
2. 論文標題 The X chromosome dosage compensation program during the development of cynomolgus monkeys	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eabd8887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abd8887	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokobayashi Shihori, Yabuta Yukihiro, Nakagawa Masato, Okita Keisuke, Hu Bo, Murase Yusuke, Nakamura Tomonori, Bourque Guillaume, Majewski Jacek, Yamamoto Takuya, Saitou Mitinori	4. 巻 37
2. 論文標題 Inherent genomic properties underlie the epigenomic heterogeneity of human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109909 ~ 109909
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109909	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishikura Yukiko, Ohta Hiroshi, Sato Takuya, Murase Yusuke, Yabuta Yukihiro, Kojima Yoji, Yamashiro Chika, Nakamura Tomonori, Yamamoto Takuya, Ogawa Takehiko, Saitou Mitinori	4. 巻 28
2. 論文標題 In vitro reconstitution of the whole male germ-cell development from mouse pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 2167 ~ 2179.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2021.08.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saitou Mitinori, Hayashi Katsuhiko	4. 巻 374
2. 論文標題 Mammalian in vitro gametogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eaaz6830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aaz6830	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Kotaro, Oguchi Akiko, Cheng Keren, Murakawa Yasuhiro, Okamoto Ikuhiro, Ohta Hiroshi, Yabuta Yukihiro, Iwatani Chizuru, Tsuchiya Hideaki, Yamamoto Takuya, Seita Yasunari, Saitou Mitinori	4. 巻 35
2. 論文標題 The embryonic ontogeny of the gonadal somatic cells in mice and monkeys	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109075 ~ 109075
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Murase Yusuke, Yabuta Yukihiro, Ohta Hiroshi, Yamashiro Chika, Nakamura Tomonori, Yamamoto Takuya, Saitou Mitinori	4. 巻 39
2. 論文標題 Long term expansion with germline potential of human primordial germ cell like cells in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e104929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2020104929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohta Hiroshi, Yabuta Yukihiro, Kurimoto Kazuki, Nakamura Tomonori, Murase Yusuke, Yamamoto Takuya, Saitou Mitinori	4. 巻 104
2. 論文標題 Cyclosporin A and FGF signaling support the proliferation/survival of mouse primordial germ cell-like cells in vitro†	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 344 ~ 360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/iaaa195	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kojima Yoji, Yamashiro Chika, Murase Yusuke, Yabuta Yukihiro, Okamoto Ikuhiro, Iwatani Chizuru, Tsuchiya Hideaki, Nakaya Masataka, Tsukiyama Tomoyuki, Nakamura Tomonori, Yamamoto Takuya, Saitou Mitinori	4. 巻 4
2. 論文標題 GATA transcription factors, SOX17 and TFAP2C, drive the human germ-cell specification program	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e20200974
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.20200974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Y, Nakamura T, Okamoto I, Gyobu-Motani S, Ohta H, Yabuta Y, Tsukiyama T, Iwatani C, Tsuchiya H, Ema M, Morizane A, Takahashi J, Yamamoto T, Saitou M.	4. 巻 102
2. 論文標題 Induction of the germ cell fate from pluripotent stem cells in cynomolgus monkeys†.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 620-638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/ioz205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagaoka SI, Nakaki F, Miyauchi H, Nosaka Y, Ohta H, Yabuta Y, Kurimoto K, Hayashi K, Nakamura T, Yamamoto T, Saitou M.	4. 巻 367
2. 論文標題 ZGLP1 is a determinant for the oogenic fate in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eaaw4115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aaw4115.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro C, Sasaki K, Yokobayashi S, Kojima Y, Saitou M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in culture.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 1560_1583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-020-0297-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro C, Sasaki K, Yabuta Y, Kojima Y, Nakamura T, Okamoto I, Yokobayashi S, Murase Y, Ishikura Y, Shirane K, Sasaki H, Yamamoto T, Saitou M	4. 巻 362
2. 論文標題 Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in vitro.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 356-360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aat1674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohta, H., Kurimoto, K., Okamoto, I., Nakamura, T., Yabuta, Y., Miyauchi, H., Yamamoto, T., Okuno, Y., Hagiwara, H., Shirane, K., Sasaki, H., and Saitou, M.	4. 巻 36(13)
2. 論文標題 In vitro expansion of mouse primordial germ cell like cells recapitulates an epigenetic blank slate	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 1888-1907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.201695862	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirota, T., Ohta, H., Powell, B. E., Mahadevaiah, S., K., Ojarikre, O. A., Saitou, M., and Turner, J. M. A.	4. 巻 357(6354)
2. 論文標題 Fertile offspring from sterile sex chromosome trisomic mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 932-935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aam9046	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyauchi, H., Ohta, H., Nagaoka, S., Nakaki, F., Sasaki, K., Hayashi, K., Yabuta, Y., Nakamura, T., Yamamoto, T., and Saitou, M.	4. 巻 36
2. 論文標題 Bone morphogenetic protein and retinoic acid synergistically specify female germ-cell fate in mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 3100-3119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.201796875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kojima, Y., Sasaki, K., Yokobayashi, S., Sakai, Y., Nakamura, T., Yabuta, Y., Nakaki, F., Nagaoka, S., Woltjen, K., Hotta, A., Yamamoto, T., and Saitou, M.	4. 巻 21(4)
2. 論文標題 Evolutionarily Distinctive Transcriptional and Signaling Programs Drive Human Germ Cell Lineage Specification from Pluripotent Stem Cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 517-532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2017.09.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii, T. and Saitou, M.	4. 巻 23(11)
2. 論文標題 Promoting In Vitro Gametogenesis Research with a Social Understanding.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Trends in Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 985-988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmed.2017.09.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計58件 (うち招待講演 57件 / うち国際学会 28件)

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 The X-chromosome dosage compensation program in cynomolgus monkeys
3. 学会等名 EMBO   Japan Virtual Lectures (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Mechanisms and In Vitro Reconstitution of Mammalian Germ Cell Development
3. 学会等名 CRH Reproduction Seminar Series(Hadson Institute) WEB (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 The X-chromosome dosage compensation program during the development of cynomolgus monkeys
3. 学会等名 ISSCR "Embryo Models" WEB (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and In Vitro Reconstitution of Mammalian Germ Cell Development
3. 学会等名 The 85th CSHL Symposium: Genome Stability & Integrity 延期(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 ISSCR Momentum Award Lecture
3. 学会等名 ISSCR WEB(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and In Vitro Reconstitution of Mammalian Germ Cell Development
3. 学会等名 RIKEN-BDR-CuSTOM Symposium WEB(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and In Vitro Reconstitution of Mammalian Germ-Cell Development
3. 学会等名 第19回国際小児脳腫瘍シンポジウム(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and reconstitution in vitro of human germ cell development
3. 学会等名 Organ regeneration and stem cells in animals (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and Reconstitution? In Vitro? of Human Germ Cell Development
3. 学会等名 Gordon Research Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 生殖細胞発生機構の解明とその試験管内再構成
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第38回学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and reconstitution in vitro of mammalian germ cell development
3. 学会等名 CiRA 2019 国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Epigenetic Reprogramming, Female Sex Determination and Meiotic Entry of Mouse Germ Cells In Vitro
3. 学会等名 117th From oocyte to embryo ? illuminating the origins of life, Titisee conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Epigenetic Reprogramming, Female Sex Determination and Meiotic Entry of Mouse Germ Cells In Vitro
3. 学会等名 BSDB Annual Spring Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Mechanism and Reconstitution In Vitro of Germ Cell Development in Mice, Monkeys, and Humans
3. 学会等名 Weinstein Cardiovascular Development & Regeneration Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Mechanism and Reconstitution In Vitro of Germ Cell Development in Mice, Monkeys, and Humans
3. 学会等名 The ISSCR annual meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Mechanism and In Vitro Reconstitution of Human germ cell development
3. 学会等名 From Stem Cells to Human Development (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤通紀
2. 発表標題 Mechanism and Reconstitution In Vitro of Germ Cell Development in Mice, Monkeys, and Humans
3. 学会等名 EPFL (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Female sex determination and meiotic entry of mouse germ cells in vitro
3. 学会等名 82nd Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Mechanism and Reconstitution In Vitro of Germ Cell Development in Mice, Monkeys, and Humans
3. 学会等名 ISSCR 2017 Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 In Vitro Reconstitution of Germ Cell Development
3. 学会等名 Germinal Stem Cell Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Specification of the Germ Cell Fate in Mice, Monkeys and Humans
3. 学会等名 The International Symposium of Germ Cell Development in vivo and in vitro (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Epigenetic Reprogramming, Female Sex Determination and Meiotic Entry of Mouse Germ Cells In Vitro
3. 学会等名 EMBL, Mammalian Genetics and Genomics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤 通紀
2. 発表標題 Epigenetic Reprogramming, Female Sex Determination and Meiotic Entry of Mouse Germ Cells In Vitro
3. 学会等名 CiRA 2017 International Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計9件

産業財産権の名称 多能性幹細胞から精子幹細胞を誘導する方法論	発明者 斎藤通紀、石蔵友紀 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、63/237,139	出願年 2021年	国内・外国の別 外国
産業財産権の名称 MAINTENANCE-AND-AMPLIFICATION METHOD FOR HUMAN PRIMORDIAL GERM CELLS/HUMAN PRIMORDIAL GERM CELL-LIKE CELLS	発明者 Mitinori Saitou, Yusuke Murase	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、63/066,914	出願年 2020年	国内・外国の別 外国
産業財産権の名称 MAINTENANCE-AND-AMPLIFICATION METHOD FOR HUMAN PRIMORDIAL GERM CELLS/HUMAN PRIMORDIAL GERM CELL-LIKE CELLS	発明者 Mitinori Saitou, Yusuke Murase	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、63/067,776	出願年 2020年	国内・外国の別 外国
産業財産権の名称 始原生殖細胞 / 始原生殖細胞様細胞の維持増幅及び分化誘導方法	発明者 斎藤通紀、大田浩、 宮内英孝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2017-231294	出願年 2017年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 多能性幹細胞から生殖系列幹細胞様細胞への分化誘導方法	発明者 斎藤通紀、石蔵友紀 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2017-113054	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>京都大学 医学研究科 生体構造医学講座 機能微細形態学  <a href="https://anat.cell.med.kyoto-u.ac.jp/index.html">https://anat.cell.med.kyoto-u.ac.jp/index.html</a>          京都大学 高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点  <a href="https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/">https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/</a>          京都大学 iPS細胞研究所  <a href="https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/msaitou_summary.html">https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/msaitou_summary.html</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	築山 智之  (TSUKIYAMA Tomoyuki)  (60612132)	滋賀医科大学・動物生命科学センター・特任准教授    (14202)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	中村 紳一郎  (NAKAMURA Shinichiro)  (50307980)	滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・准教授    (14202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関