

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01395

研究課題名(和文) コモンマーモセットの体外卵子産生系の構築

研究課題名(英文) Reconstitution of common marmoset oogenesis from pluripotent stem cells

研究代表者

林 克彦 (Hayashi, Katsuhiko)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：20287486

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,400,000円

研究成果の概要(和文)：コモンマーモセットES細胞から始原生殖細胞様細胞(cj-PGCLCs)を分化誘導する培養系を確立した。この方法で得られるcj-PGCLCsのトランスクリプトームおよびエピゲノムの特徴はヒトPGCLCsと極めてよく似ていた。またこのトランスクリプトームの結果から、cj-PGCLCsに特異的に発現する表面抗原を同定した。これらを抗体により認識させることにより様々なコモンマーモセットES細胞からcj-PGCLCsを単離することが可能となった。得られたcj-PGCLCsはマウス胎仔卵巣の体細胞との共培養により、生殖細胞系列の後期へと分化したことから、配偶子に分化する能力を有していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精子や卵子に至る生殖細胞系列の形成過程の解明は生物学および医学的に極めて大きい意義をもつが、解析のために利用できる生体内(胎仔内)の生殖細胞系列は量的および質的に不足している。本研究により、ヒトに近いコモンマーモセットのES細胞から始原生殖細胞を分化誘導する培養系を確立したことにより、その発生過程における機能的な遺伝子の同定などが飛躍的に進むことが期待される。これらの機能的な遺伝子はヒトにおいても保存されていると考えられることから、本研究の成果はヒトの不妊原因や発生異常の原因究明に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We established a culture system to induce primordial germ cell-like cells (cj-PGCLCs) from common marmoset ES cells. The transcriptomic and epigenetic features of cj-PGCLCs were quite similar to those of human PGCLCs. Based on the transcriptome analysis, we identified surface marker antigens that are specifically expressed on cj-PGCLCs. By recognizing these antigens with antibodies, we were able to isolate cj-PGCLCs from a variety of common marmoset ES cell lines. The obtained cj-PGCLCs were differentiated into the late germ cell lineage by co-culture with mouse embryonic ovarian somatic cells, suggesting that they have the ability to differentiate into gametes.

研究分野：生殖細胞

キーワード：多能性幹細胞 コモンマーモセット

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵子形成過程の解明は生物学および医学的に極めて大きい意義をもつが、解析のための卵子およびそれに至る卵母細胞系列は量的および質的に不足している。胎子や個体から定期的かつ十分量の採取が難しい卵子や卵母細胞系列を得る方法のひとつは、体のあらゆる細胞になれる多能性幹細胞から体外培養で卵子を作り出すことである。本研究の開始当初において、我々の研究室は世界に先駆けて、マウスの胚性幹細胞(ES細胞)や人工多能性幹細胞(iPS細胞)から卵母細胞系列を体外培養で分化誘導することに成功していた。この培養系におけるES/iPS細胞から卵子までの分化過程は体内での過程を良く踏襲しており、得られた卵子は精子と受精させることにより個体にまで発生した。これらの成果は他の動物における体外培養による卵子産生系の構築に期待をもたせた。体外培養による卵子産生系の構築は、生体内から卵子の得難い大型の哺乳類に適用されることにより、その価値が飛躍的に向上する。それがヒトを含めた霊長類などへの応用であれば尚更であり、マウスを用いた研究によってその機運が高まっていた。

卵子産生系を体外で構築する上で最も重要な基準は得られた卵子の質である。卵子の評価基準は細胞形態、遺伝子発現、エピゲノムなど多岐にわたるが、最もシンプルかつ重要なことは機能評価すなわち個体発生の評価である。しかしながら体外培養で得られた卵子、とりわけ多能性幹細胞から分化誘導した卵子の発生の検討をヒトで行うことは倫理上困難であり、ヒト以外の霊長類を用いて検討するのが妥当である。本研究では霊長類の中から、実験動物としてのコロニーが確立されていること、ゲノム配列などのデータベースが充実していること、繁殖能力が高く(2-3匹/分娩、妊娠期間145-148日)、性成熟期間が短い(1年)、ヒトと生殖細胞系列の分化機構が似ていることなどの理由からコモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)のES細胞を用いた卵子産生系の構築を目指した。コモンマーモセットは受精卵を用いた遺伝子改変動物の作製やES細胞の樹立など、発生工学的な手法も確立していることから、霊長類の体外卵子産生系を構築するためには最適な動物種であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究はコモンマーモセットのES細胞(cj-ES細胞)を用いて体外培養における卵子産生系を構築することを目的とした。具体的には、まず生殖細胞系列および卵胞を形成する生殖巣体細胞系列に特異的なレポーターをもつcj-ES細胞を樹立する。それらから始原生殖細胞(卵子や精子の母細胞)および生殖巣体細胞をそれぞれ分化誘導する条件を検討する。その後、cj-ES細胞から誘導した始原生殖細胞および生殖巣体細胞を再凝集して再構成卵巣を作製する。これらを体外培養試験に供して、卵母細胞への分化(減数分裂、卵胞形成など)や卵子の形成を支持する培養条件を検討する。

3. 研究の方法

(1) 始原生殖細胞特異的なレポーター遺伝子をもつcj-ES細胞の樹立と始原生殖細胞の分化誘導
雌のcj-ES細胞のPRDM1/BLIMP1、NANOS3遺伝子座にそれぞれ*tdTomato*、*Egfp*を挿入する。これらの遺伝子は哺乳類で広く保存されており、発生初期において始原生殖細胞特異的に発現する。それぞれのレポーター遺伝子をPRDM1/BLIMP1-*tdTomato*(BT)、NANOS3-*Egfp*(NG)とし、始原生殖細胞の分化をモニターするために用いる。これらのレポーターcj-ES細胞を用いて、これまでの我々の研究およびヒトES/iPS細胞から始原生殖細胞を誘導した先行研究に従い、コモンマーモセットの始原生殖細胞の誘導を試みる。レポーター遺伝子の発現をもとに得られた始原生殖細胞において、生殖細胞特異的な遺伝子発現をQ-PCRおよびRNA-seqにより解析する。

(2) 生殖巣細胞特異的なレポーター遺伝子をもつcj-ES細胞の樹立
雌のcj-ES細胞に生殖巣細胞に特異的なレポーター遺伝子を導入する。具体的にはT-GFP(初期中胚葉)、FOXF1-*tdTomato*(側板中胚葉)、OSR1-GFP(中間/側板中胚葉)およびNR5A1-*tdTomato*である。これらに細胞表面抗原であるPDGFRに対する抗体を組み合わせ、生殖巣に至る細胞系列を順序よく分化誘導する。まずはマウスES細胞を用いた予備実験を行い、それらを参考にしてcj-ES細胞からの分化誘導を試みる。レポーターcj-ES細胞から誘導した生殖巣体細胞の遺伝子発現をRNA-seqで解析し、胚から採取した生殖巣体細胞のものと比較して評価する。これと同時に誘導した生殖巣体細胞の機能性を解析する(3)に詳細を記載)。

(3) cj-ES細胞由来の始原生殖細胞と生殖巣体細胞の再凝集培養

1および2で得られたcj-ES細胞由来の始原生殖細胞と生殖巣体細胞を96well plate(U底)で培養して凝集塊を作製し、体外分化培養により卵胞の形成を評価する。具体的には凝集塊をGK15(GMEM+15%KSR)培地において10-14日間培養する。この培養における始原生殖細胞の減数分裂への移行と卵胞構造の形成を、免疫染色(Syp1/3、gammaH2AX(ともに減数分裂マーカー)、Foxl2、3bHSD(それぞれ顆粒膜細胞、莢膜細胞マーカー))により評価する。卵母細胞の分化が正常に進行する場合、増殖→減数分裂→アポトーシスによる数の減少→卵胞形成という順序で

進むはずである（減数分裂後のアポトーシスは通常の周産期の胎児／新生児の卵巣内でも起こる）。これらの分化過程を培養期間中にレポーター遺伝子の発現をもとに形態的に観察する。卵巣構造が認められた場合には、それらを体外成長培養（IVG）および成熟培養（IVM）に供して成熟卵子の作製を試みる。

4. 研究成果

(1) 始原生殖細胞特異的なレポーター遺伝子をもつ cj-ES 細胞の樹立と始原生殖細胞の分化誘導
cj-ES 細胞におけるレポーター遺伝子の導入は高効率で成功し、薬剤耐性を示した cj-ES 細胞クローンのうち半数以上で PRDM1/BLIMP1-*tdTomato* (BT)、NANOS3-*Egfp* (NG)のノックインが認められた（得られたダブルレポーター細胞を BTNG-cjES 細胞とする）。次に、これらのクローンを用いてトランスクリプトーム解析を行ったところ、ヒトやマウスの ES/iPS 細胞との比較により、cj-ES 細胞は Primed 型の多能性状態であることがわかった。ヒト ES/iPS 細胞では Primed 状態から BMP4、SCF、LIF、EGF の添加により始原生殖細胞が誘導されていることから、BTNG-cjES 細胞を同様の成長因子により刺激したが、始原生殖細胞の誘導は認められなかった。そこで、まず BTNG-cjES 細胞における始原生殖細胞への分化能（コンピテンス）の有無を調べるために、転写因子 SOX17 を強制発現させることにした。SOX17 はヒト ES/iPS 細胞からの始原生殖細胞の分化誘導に必要かつ十分である。SOX17 を強制発現した BTNG-cjES 細胞は BMP4、SCF、LIF、EGF の添加依存的にレポーター遺伝子陽性の始原生殖細胞様細胞（Primordial germ cell-like cells: PGCLCs）に分化した。すなわち cjES 細胞からの PGCLCs の分化には SOX17 と成長因子カクテルの双方が必要であった。得られた BTNG 陽性の PGCLCs がもつトランスクリプトームはヒト PGCLCs と極めてよく似ていた（コモンマーモセットの初期始原生殖細胞のトランスクリプトームは明らかでないためヒト PGCLCs と比較した）。また、重要なことに、PGCLCs ではこの時期の周囲の細胞と比較して、WNT シグナル経路が減弱している可能性が示唆された。この知見をもとに、BMP4、SCF、LIF、EGF の添加に加えて WNT アンタゴニストを加えると、SOX17 を強制発現せずとも BTNG-cjES 細胞から PGCLCs が発生することが明らかになった。これにより培養液中の成分を改変するだけで BTNG-cjES 細胞から PGCLCs (cj-PGCLCs) を得ることが可能になった。得られた cj-PGCLCs がもつトランスクリプトームはヒト PGCLCs と極めてよく似ていた。またエピゲノムの特徴などもヒトやカニクイザルの PGCLCs とよく似ていた。またこのトランスクリプトームの結果から、cj-PGCLCs に特異的に発現する表面抗原を同定した。これらを抗体により認識させることによりレポーター遺伝子をもたない cj-PGCLCs の同定も可能となった。以上の一連の成果により、cjES 細胞から PGCLCs を分化誘導する培養系を確立した（論文作成中）。

(2) 生殖巣細胞特異的なレポーター遺伝子をもつ cj-ES 細胞の樹立

BTNG-cjES 細胞の作製と同様の方法で、雌の cj-ES 細胞に生殖巣細胞に T-GFP と FOXF1-*tdTomato*、OSR1-GFP と GATA4-CFP、NR5A1-*tdTomato* と FOXL2-GFP をそれぞれ導入した。これらの cj-ES 細胞を用いて生殖巣の体細胞の分化誘導を様々な方法で試みたが、T-GFP 陽性の初期中胚葉様細胞には分化するものの、OSR1-GFP 陽性の中間中胚葉様の細胞への十分な分化は認められなかった。そこで、マウス ES 細胞を用いた生殖巣細胞の分化誘導系を完成させるとともに、それから得られる分化誘導シグナルの作用機序と応用について考察することとした。それまでにマウス ES 細胞を用いた分化誘導系では、NR5A1 陽性の細胞を得るところまで進んでいたが、その機能性（卵母細胞を成熟させる支持能）は不明なままであった。そこで、マウス ES 細胞から分化誘導した NR5A1 陽性細胞（Fetal Ovarian Somatic cell-Like Cells: FOSLCs）をマウス ES 細胞から分化誘導した PGCLCs と凝集培養して、PGCLCs が成熟した卵子になるか検討した。その結果、培養条件を最適化した FOSLCs で構成される体細胞環境下では、PGCLCs が機能的な卵子に成熟することがわかった（論文受理）。これらのことからマウス ES 細胞から機能的な生殖巣細胞が分化誘導できることが明らかとなった。この分化過程では、キーとなる様々な培養条件が明らかとなった。その中でも WNT シグナルとレチノイン酸の強度は生殖巣細胞の前駆体を特定する過程に極めて重要であることが明らかとなった。特にマウス FOSLCs の分化誘導における WNT アゴニストの濃度と作用期間は、これまでの cj-ES 細胞を用いた分化誘導方法では試されておらず、今後の分化誘導実験において検討されるべきものとなった。

(3) cj-ES 細胞由来の始原生殖細胞と生殖巣細胞の再凝集培養

cj-ES 細胞由来の生殖巣細胞の分化誘導実験が予想よりも遅れたため、BTNG-cjES 細胞から誘導した PGCLCs をマウスの生殖巣細胞と凝集させることにより、cj-PGCLCs の機能性を検討した。マウス生殖巣細胞と凝集された cj-PGCLCs は増殖を開始し、後期の始原生殖細胞のマーカージン遺伝子である *Vasa* を発現した。また一部の細胞は減数分裂への移行が認められた。一方でロバスタな減数分裂の進行は認められなかった。これらのことから、BTNG-cjES 細胞から誘導した PGCLCs は生殖細胞としての運命決定を受けていることが明らかとなったと同時に、マウス生殖巣細胞を用いた凝集培養では、cj-PGCLCs から機能的な配偶子への分化誘導には不十分であることも明らかとなった。今後は(2)で得られた材料と知見をもとに cj-ES 細胞から体細胞を分化誘導する培養系の確立が極めて重要であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hamada N, Hamazaki N, Shimamoto S, Hikabe O, Nagamatsu G, Takada Y, Kato K, Hayashi K.	4. 巻 16
2. 論文標題 Germ cell-intrinsic effects of sex chromosomes on early oocyte differentiation in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS Genet	6. 最初と最後の頁 e1008676
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1008676	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 Nagamatsu G, Shimamoto S, Hamazaki N, Nishimura Y, Hayashi K.	4. 巻 5
2. 論文標題 Mechanical stress accompanied with nuclear rotation is involved in the dormant state of mouse oocytes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Adv	6. 最初と最後の頁 eaav9960
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aav9960	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 Shimamoto S, Nishimura Y, Nagamatsu G, Hamada N, Kita H, Hikabe O, Hamazaki N, Hayashi K.	4. 巻 116
2. 論文標題 Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A	6. 最初と最後の頁 12321-12326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1817223116	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 Hayashi K, Shimamoto S, Nagamatsu G.	4. 巻 62
2. 論文標題 Environmental factors for establishment of the dormant state in oocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dev Growth Differ	6. 最初と最後の頁 150-157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12653	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 Hayashi K.	4. 巻 101
2. 論文標題 In vitro reconstitution of germ cell development †.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biol Reprod	6. 最初と最後の頁 567-578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/ioz111	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 Hildebrandt TB, Hermes R, Colleoni S, Diecke S, Holtze S, Renfree MB, Stejskal J, Hayashi K, Drukker M, Loi P, Groitz F, Lazzari G, Galli C.	4. 巻 9
2. 論文標題 Embryos and embryonic stem cells from the white rhinoceros.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 2589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04959-2	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 Adashi EY, Cohen IG, Hanna JH, Surani AM, Hayashi K.	4. 巻 25
2. 論文標題 Stem Cell-Derived Human Gametes: The Public Engagement Imperative.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Trends Mol Med.	6. 最初と最後の頁 165-167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmed.2019.01.005	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 Nagamatsu G, Hayashi K.	4. 巻 154
2. 論文標題 Stem cells, in vitro gametogenesis and male fertility	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Reproduction	6. 最初と最後の頁 F79-F91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/REP-17-0510	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 Miyachi H, Ohta H, Nagaoka S, Nakaki F, Sasaki K, Hayashi K, Yabuta Y, Nakamura T, Yamamoto T, 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 EMBO J	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 Hayashi K, Hikabe O, Obata Y, Hirao Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Reconstitution of mouse oogenesis in a dish from pluripotent stem cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Protoc.	6. 最初と最後の頁 :1733-1744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nprot.2017.070	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 Hamazaki N, Nakashima K, Hayashi K, Imamura T.	4. 巻 1605
2. 論文標題 Detection of Bidirectional Promoter-Derived lncRNAs from Small-Scale Samples Using Pre-Amplification-Free Directional RNA-seq Method.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 83-103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-6988-3_6	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38件 (うち招待講演 37件 / うち国際学会 22件)

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Generating and modifying functional sperm and eggs from stem cells
3. 学会等名 De Snoo van 't Hoogerhuijs Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Stem Cells ~Regeneration of Oocytes~
3. 学会等名 World Congress of International Federation of Fertility (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Reconstitution and Understanding of Mammalian Oogenesis
3. 学会等名 浙江省医学会生殖医学分会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 実験動物における生殖細胞系列再構築系の展開
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Reconstitution and understanding of mammalian oogenesis
3. 学会等名 Stem Cell Symposium (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 原始卵胞の成立機序と人工的作製
3. 学会等名 生殖バイオロジー東京シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵母細胞系列の再構築系の現状と課題
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナー オルガノイド研究の現状と課題（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵母細胞の休止状態が保たれるメカニズム
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 生殖細胞誘導システムを構築するための動物細胞を用いた前衛的研究
3. 学会等名 第22回日本IVF学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Gametes from pluripotent stem cells
3. 学会等名 International Society of In Vitro Fertilization (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵子が長生きするしくみ -マウスの知見から-
3. 学会等名 第34回日本女性医学学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Reconstitution of mammalian oogenesis using pluripotent stem cells
3. 学会等名 International Society of Fertility Preservation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 個体の起源とその構築
3. 学会等名 第64回日本人類遺伝学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 A mechanism underlying sustainable oocyte production in mouse germ line
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Basic Research: In-Vitro Oogenesis from Pluripotent Stem Cells
3. 学会等名 ASPIRE 8th Masterclass (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 An In-vitro Model System to Study and Produce Oocyte
3. 学会等名 Asia Pacific Initiative on Reproduction (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 幹細胞による卵母細胞の分化過程の再構築
3. 学会等名 日本内分泌学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 in vitro gametogenesis from stem cells
3. 学会等名 Korean Society of Reproductive Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Oocytes from stem cells and back
3. 学会等名 The European Society of Human Reproduction & Embryology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 A mechanism ensuring a dormant state of oocytes in the ovary
3. 学会等名 Basel Stem Cell Symposium: Stem Cell Dynamics Throughout Life (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 A stem cell-based approach to reconstitution of mammalian oogenesis
3. 学会等名 5th Conference of Frontiers in Reproductive Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 A Novel Approach to Understanding oogenesis with in vitro reconstitution system
3. 学会等名 EMBO symposium: Molecular Mechanisms of Developmental and Regenerative Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 A stem cell-based approach to understanding of mammalian oogenesis
3. 学会等名 SY-stem symposium 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Reconstitution and Understanding of Mammalian Oogenesis
3. 学会等名 BDR symposium 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵母細胞分化培養系から得られる新知見
3. 学会等名 第13回生殖発生医学 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 In vitro reconstitution of oogenesis in the mouse; how to establish the culture system, mostly empirical
3. 学会等名 Asia-Pacific Bioinformatics Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Understanding of oogenesis by stem cell-based technologies
3. 学会等名 KEY Forum 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Development of a Model Culture System to Produce Eggs in Vitro
3. 学会等名 Ovarian Club X (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵母細胞の再構築系で見えてくるもの
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵子の再生技術から見えるもの
3. 学会等名 第62回日本生殖医学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Possibility of gametogenesis in vitro from stem cells; what we need for application
3. 学会等名 PSRM2017（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 皮膚からの卵子作製 ～ マウス知見をもとに～
3. 学会等名 日本IVF学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Understanding of PGC-oocyte differentiation using in vitro reconstitution system
3. 学会等名 World Congress of Reproductive Biology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林克彦
2. 発表標題 卵母細胞の形成機構の解明と再生;体内と培養系の狭間に見えてくるもの
3. 学会等名 第35回日本受精着床学会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Reconstitution As a Tool for a Better Understanding of Germ Cell Development
3. 学会等名 Society for the Study on Reproduction(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Verification of Artificial Oocytes from Stem Cells
3. 学会等名 Gordon Research Conference(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 FUNCTIONAL EGGS CREATED IN A DISH FROM MOUSE PLURIPOTENT STEM CELLS
3. 学会等名 ISSCR(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Hayashi
2. 発表標題 Molecular mechanisms underlying differentiation from primordial germ cells to oocytes
3. 学会等名 Japanese Society of Developmental Biologists (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Michael K. Skinner	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Academic Press Inc	5. 総ページ数 3868
3. 書名 Encyclopedia of Reproduction	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 始原生殖細胞を <i>in vitro</i> で原始卵胞に分化する方法	発明者 永松剛、西村洋平、 林克彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-117988	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

-

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
連携研究者	佐々木 えりか (Sasaki Erika) (70390739)	実験動物中央研究所・マーモセット医学生物学研究部・部長 (72611)	

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
---------	---------