


【特別推進研究】

試験管内再構成系に基づくヒト卵母細胞発生機構の解明とその応用

	研究代表者	京都大学・高等研究院・教授 齋藤 通紀 (さいとう みちのり)	研究者番号: 80373306
	研究課題 情報	課題番号: 22H04920 キーワード: ヒト発生、生殖細胞、卵母細胞、iPS細胞	研究期間: 2022年度～2026年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●研究の全体像

生殖細胞は、精子・卵子に分化し、その融合により新しい個体を形成、我々の遺伝情報やエピゲノム情報（遺伝子の発現を制御する情報）を次世代に継承する。生殖細胞の発生機構の解明は、遺伝情報を継承・多様化（進化）する機構やエピゲノム制御機構の解明に直結し、幹細胞の増殖・分化制御技術の開発、不妊や遺伝病・エピゲノム異常発症機序の解明につながる。

我々の研究グループは、培養ディッシュ上で、マウス多能性幹細胞（ES細胞やiPS細胞）から、精子・卵子・さらには健全な産仔に貢献する能力を有する始原生殖細胞様細胞を誘導する技術を開発した。本培養系を用いて、エピゲノムリプログラミングの分子機構や卵母細胞分化・減数分裂誘導機構など、生殖細胞の発生に必須の現象の分子機構を解明した。

我々は、これら成果を基盤に、ヒトiPS細胞からヒト始原生殖細胞様細胞を誘導する技術を開発した。また、ヒト生殖細胞の試験管内誘導技術を発展させるため、実験動物として使用しうる霊長類の中でヒトに最も近縁のカニクイザルを用いた研究を推進し、マウス・サル・ヒトにおいて多能性の特性が発生過程でどのように変化するかを解明、霊長類生殖細胞系譜が初期羊膜を起源とすることを見出し、また、霊長類胚におけるX染色体遺伝子量補正プログラムを明らかにした。

さらに、ヒト始原生殖細胞様細胞にエピゲノムリプログラミングを誘導し、卵原細胞に分化させることや、ヒト始原生殖細胞様細胞を試験管内で～10⁶倍に増幅することに成功した。

本研究は、これまでの研究成果を特段に発展させることを目的とし、ヒト・サル・マウスを用いた統合的な研究を推進し、ヒトiPS細胞を起点としてヒト卵母細胞の発生過程を試験管内再構成し（卵胞期に相当する卵母細胞を誘導する）、その系を用いて、ヒト卵母細胞発生機構の解明とその応用基盤を確立する。

試験管内再構成に基づくヒト卵母細胞発生機構の解明とその応用

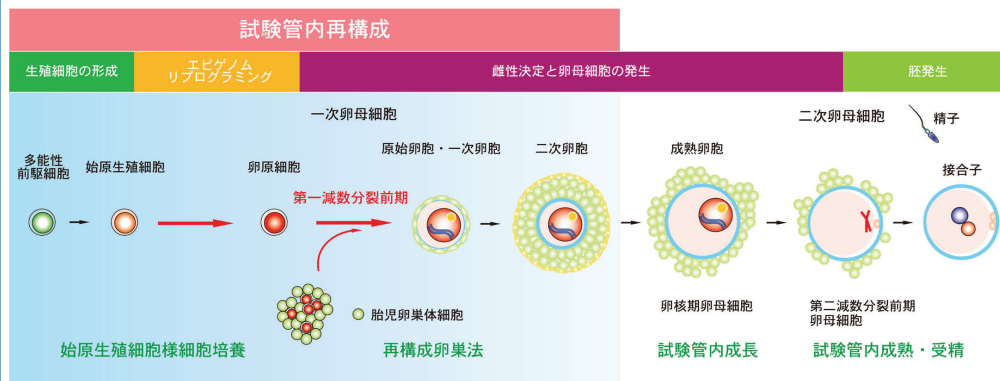


図1 ヒト卵母細胞の発生過程の概要とその試験管内再構成。本研究ではヒトiPS細胞を起点とし、卵胞を誘導し、その発生機構を解明することを目指す。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

哺乳類の生殖細胞の発生機構の研究は主にマウスをモデル生物として進められてきた。しかしながら、近年の研究により、マウスとヒトの生殖細胞の発生機構は多くの点で異なることが明らかとなりつつある。従って、ヒト生殖細胞の発生機構を理解し、その異常に起因する様々な病態を解明するには、ヒトを用いた研究を行う必要がある。本研究では、ヒト・サル・マウスを用いた統合的な研究を推進し、ヒト多能性幹細胞（ヒトiPS細胞）を起点としてヒト卵母細胞（卵胞期に相当する卵母細胞）（図1参照）の発生過程を試験管内再構成し、ヒト卵母細胞発生過程に伴う重要な現象、例えば、エピゲノムリプログラミング、X染色体の動態とその卵母細胞発生への影響、卵母細胞決定機構、減数分裂誘導機構、nucleome programmingとその全能性への関与、これら過程の進化的多様性、を解明する基盤を形成することを目的とする。

具体的には以下の研究を統合的に推進する。

1. ヒト始原生殖細胞様細胞の培養法の改善

ヒトiPS細胞から誘導されるヒト始原生殖細胞様細胞は、ヒト卵母細胞の発生過程を試験管内再構成する起点となる。本研究では、ヒト始原生殖細胞様細胞の誘導法・培養法を改善し、ヒト卵母細胞誘導の基盤を確立する。

2. ヒト胎児卵巣培養法の確立

卵原細胞が主な生殖細胞である発生初期のヒト胎児卵巣を長期培養し、卵胞が効率よく発生・分化する培養条件を確立、その過程を詳細に解析する（図2参照）（ヒト胎児卵巣は中絶胎児より単離。京都大学医の倫理委員会承認）。

3. ヒト胎児卵巣体細胞の誘導と再構成卵巣法の確立

ヒトiPS細胞を起点にヒト胎児卵巣体細胞様細胞を誘導する方法論を確立し、その分化過程を詳細に解析する。また、誘導されたヒト胎児卵巣体細胞様細胞とヒト始原生殖細胞様細胞を共培養し（再構成卵巣）、ヒトの卵胞を誘導、その分化過程を詳細に解析する。

4. 規定条件によるマウス卵母細胞全発生過程の試験管内再構成

生殖細胞の発生過程を試験管内再構成する研究の大きな目標の一つは、その全過程を規定された条件で再構成することである。本研究では、マウスをモデルとして、胎児卵巣体細胞を用いず、多能性幹細胞を起点に卵母細胞の全発生過程の試験管内再構成を可能とする基盤を確立し、その過程を詳細に解析する。

ヒト在胎11週の胎児卵巣を100日間培養。

卵原細胞 → 減数分裂前期 → 原始卵胞

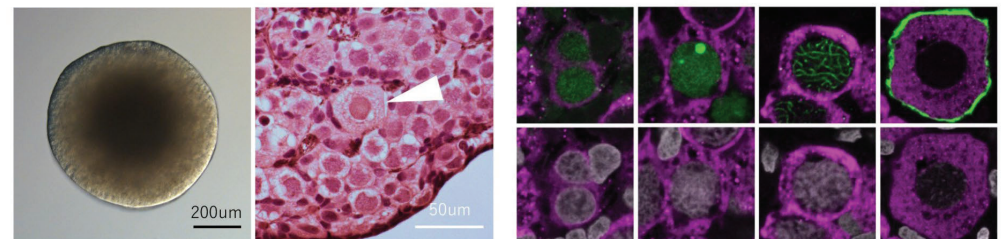


図2 ヒト胎児卵巣の培養。（左）在胎11週のヒト胎児卵巣（中絶胎児より単離。京都大学医の倫理委員会承認）を単一細胞に解離し、再凝集した後、100日間培養。原始卵胞（矢頭）を分化させることに成功。（右）培養中の卵巣組織の免疫染色像。卵原細胞が減数分裂前期を経て原始卵胞に分化する様子がわかる。