

性染色体異常の不妊マウスから産仔の作成に成功 —生殖細胞形成異常の原因究明や治療法開発の可能性—

ポイント

1. 性染色体^{注1}トリソミー^{注2} (XXY, XYY) 不妊マウスから iPS 細胞^{注3}を作成
2. iPS 細胞作成過程で余剰染色体が欠失し、正常な核型^{注4}を有する iPS 細胞を樹立
3. 得られた iPS 細胞から始原生殖細胞様細胞^{注5}・精子を経て健全な産仔の作成に成功

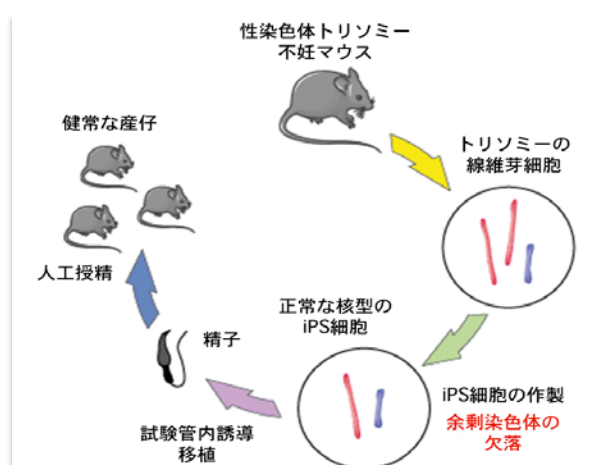
京都大学大学院医学研究科の斎藤通紀教授 [兼 科学技術振興機構 (JST) ERATO 斎藤全能性エピゲノムプロジェクト研究総括、京都大学物質－細胞統合システム拠点 (iCeMS＝アイセムス) 主任研究者、京都大学 iPS 細胞研究所研究員]、と同研究科の大田浩助教は、英国 Francis Crick 研究所の James M. A. Turner 博士、廣田孝幸博士らとの共同研究で、性染色体トリソミーを有する不妊マウスの線維芽細胞^{注6}から、正常な核型を有する iPS 細胞を作成し、それらから始原生殖細胞様細胞・精子・健全な産仔を作成することに成功しました。

本研究グループは、マウス多能性幹細胞^{注7}から始原生殖細胞様細胞を誘導し、生殖細胞欠損マウス新生仔の精巣に移植することで精子を作り、健全な産仔を得ることに成功してきました。

今回実験に用いたマウスは、性染色体トリソミー XXY 及び XYY を持ち、それぞれクラインフェルター症候群^{注8}とダブル Y 症候群^{注9}のモデルとなるマウスで、どちらのマウスも精子を作れません。本研究では、XXY マウス、XYY マウスの成体の線維芽細胞から iPS 細胞を樹立すると、その過程で余剰な性染色体欠損を起こし、一定の割合で核型の正常な XY 型 (正常な雄型) の iPS 細胞が樹立されることがわかりました。樹立された iPS 細胞は効率よく始原生殖細胞様細胞に分化し、生殖細胞欠損マウス新生仔の精巣に移植してできた精子からは健全な産仔が産まれました。また、クラインフェルター症候群やダウン症 (21 トリソミー^{注11}) の患者から得られた線維芽細胞から作成した iPS 細胞は、マウスに比べ低頻度ながら、核型の正常な iPS 細胞を含むことがわかりました。

今回の研究によって、染色体異常や遺伝子異常に伴う生殖細胞形成異常の原因究明や治療法の開発が進むことが期待されます。

本研究成果は、JST 戦略的創造研究推進事業の一環として行われ、アメリカ東部時間:2017 年 8 月 17 日 (木) 正午 [日本時間: 2017 年 8 月 18 日 (金) 午前 3 時] に米国科学誌 *Science* のオンライン速報版で公開されました。



1. 背景

生殖細胞は精子や卵子に分化し、融合することで新しい個体を形成する細胞です。本研究チームはマウスを用いて、精子や卵子の起源となる始原生殖細胞の発生機構を研究してきました。その知見に基づき、マウスから作った ES 細胞や iPS 細胞から、培養ディッシュ上でマウス始原生殖細胞様細胞を誘導し、精巣や卵巣への移植や、培養ディッシュ上で適切に培養することで、精子や卵子さらにはそれら由来の健全な産仔を産生することに成功してきました。さらに、ヒト iPS 細胞からヒト始原生殖細胞様細胞を誘導することや、カニクイザルの生殖細胞形成機構解明にも成功しています。

これらの成果は、生殖細胞の発生機構を詳細に解明する基盤になるのみならず、遺伝子異常などが原因で生殖細胞が形成されない不妊個体から iPS 細胞を樹立し、原因となる異常を修復し、そうした iPS 細胞から生殖細胞を誘導することで、不妊の詳細な原因究明やその治療法を開発出来る可能性を示しています。

2. 研究手法・成果

性染色体トリソミー XXY 及び XYY を有するマウスを、クラインフェルター症候群及びダブル Y 症候群のモデルとして研究を行いました。どちらも精子を形成する際の異常が原因で、精子形成を行えず、不妊となります。本研究では、第一に、生殖細胞の分化を観察でき、XXY 及び XYY の核型を有するマウスを樹立し、それらのマウスが不妊であることを確認しました。

次に、それぞれのマウスの線維芽細胞から iPS 細胞を樹立しました。その核型を検査すると、iPS 細胞樹立過程で性染色体欠失を起こし、核型の正常な XY 型（正常な雄型）の iPS 細胞が一定の割合で樹立されることがわかりました。樹立された iPS 細胞は、これまでに確立された方法論を用いることで効率よく始原生殖細胞様細胞に分化し、それらは生殖細胞欠損マウス新生仔の精巣に移植すると精子を形成し、それら精子は健全で妊孕性のある産仔に貢献しました。また、クラインフェルター症候群及びダウン症候群（21 番染色体のトリソミーを有する）の患者から得られた線維芽細胞から iPS 細胞を作成すると、マウスに比べ低頻度ながら、それら iPS 細胞は核型の正常な iPS 細胞を含むことがわかりました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、染色体異常や遺伝子異常に伴う生殖細胞形成異常の原因究明や新しい治療法の開発の可能性を示す、proof-of-concept となる研究です。今後は、ヒト始原生殖細胞様細胞の分化を促進する方法論の開発を推進します。

4. 研究プロジェクトについて

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。
JST 戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）

研究プロジェクト：「斎藤全能性エピゲノムプロジェクト」

研究総括：斎藤 通紀（京都大学 大学院医学研究科 教授）

研究期間：平成23年度～平成28年度

日本学術振興会 科学研究費 特別推進研究

「ヒト生殖細胞発生機構の解明とその試験管内再構成」

研究代表者：斎藤 通紀（京都大学 大学院医学研究科 教授）

研究機関：平成29年度～平成33年度

<用語解説>

注 1: 性染色体：雌雄によってその形態や数が異なる染色体。性染色体以外の雌雄で共通な染色体を常染色体と呼ぶ。哺乳類では、一般に、性染色体として、オスは X 染色体と Y 染色体を有し、メスは X 染色体を2本有する。

注 2: トリソミー：通常は、父親由来・母親由来の2本ずつの染色体を有するが、減数分裂^{注10}の異常などにより、特定の染色体を3本有する状態のこと。ヒトの場合、21番染色体を3本有するとダウン症候群となる。

注 3: iPS 細胞：人工多能性幹細胞（induced Pluripotent Stem Cells）のこと。皮膚などの体細胞に特定の因子（Oct4, Sox2, cMyc, Klf4 など）を導入することにより作製される。無限に増殖し、生殖細胞を含むほぼ全ての組織に分化することができる。一方、ES 細胞とは、受精卵から作製される胚性幹細胞（Embryonic Stem Cells）のこと。マウスの場合は受精後3-4日目の胚盤胞の内部細胞塊から、培養により得られる。体外培養により無限に増殖し、生殖細胞を含むほぼ全ての組織の細胞に分化することができる。ヒト ES 細胞も胚盤胞の内部細胞塊から樹立されるが、マウス ES 細胞とは異なる性質を有することが知られている。

注 4: 核型：それぞれの生物種に固有な、染色体の数および形態による類型。例えば、ヒトは常染色体を22対（44本）と性染色体を1対（2本）有し、マウスは常染色体を19対（38本）と性染色体を1対（2本）有する。

注 5: 始原生殖細胞様細胞：始原生殖細胞とは、卵子もしくは精子の起源となる細胞。マウスの場合は胚齢6.5日前後に、胚体外胚葉（エピブラスト）内に誘導される。胚齢12日前後に体細胞の性によって、卵子もしくは精子へと分化する。始原生殖細胞様細胞は、多能性幹細胞から、試験管内で誘導した、始原生殖細胞に非常によく似た性質を持つ細胞。マウスの受精後8.5～9.5日齢の始原生殖細胞に相同であることが、様々な解析から示されている。

注 6: 線維芽細胞：結合組織を構成する代表的な細胞。真皮などに豊富に存在する。コラーゲン・エラスチン・ヒアルロン酸などを合成する。

注 7: 多能性幹細胞：自己複製能力と、身体を構成するほぼ全ての細胞に分化する能力を持つ細胞のこと。胚性幹細胞 (Embryonic stem cells: ESCs) や人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent stem cells: iPSCs) の総称。

注 8: クラインフェルター症候群：男性の性染色体に X 染色体が一つ以上多いことで生じる一連の症候群（女性化、不妊症、学習障害などを呈する。その程度は様々）。通常の男性の性染色体は XY であるが、これに X 染色体が1つ多く XXY となっている。さらに X 染色体が二つ以上多い XXXY 等もある。

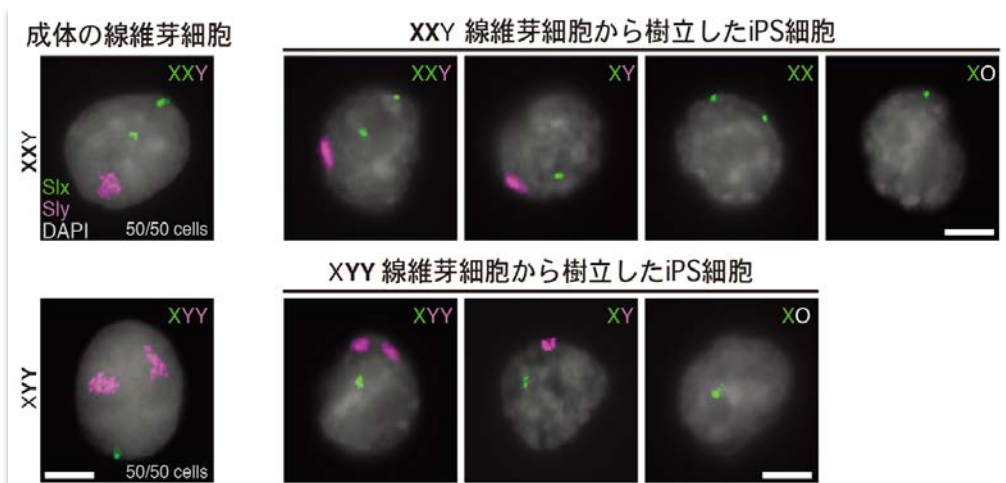
注 9: ダブル Y 症候群：正常男性核型が XY であるのに対し、Y 染色体が過剰である (XYY、XYYY など) ことによる症候群。染色体数に応じて XYY 症候群などとも呼ばれる。

注 10: 減数分裂：通常の細胞分裂（有糸分裂）では、父親由来・母親由来の 1 対 (2n) の染色体がそれぞれ複製され、1 回の分裂でそれぞれが娘細胞に分配され、もとの細胞と同じ染色体構成 (2n) を獲得する。一方、精子や卵子が形成される際に起こる分裂では、複製された染色体が 2 回の分裂で 1 本ずつ (1n) 精子もしくは卵子に分配される。このような分裂を減数分裂と呼ぶ。

注 11: ダウン症候群：21 番染色体が 1 本余分に存在し、計 3 本となることで発症する、先天性症候群。知的障害、先天性心疾患、低身長、肥満、眼科的諸問題、難聴などを呈する。

<参考図>

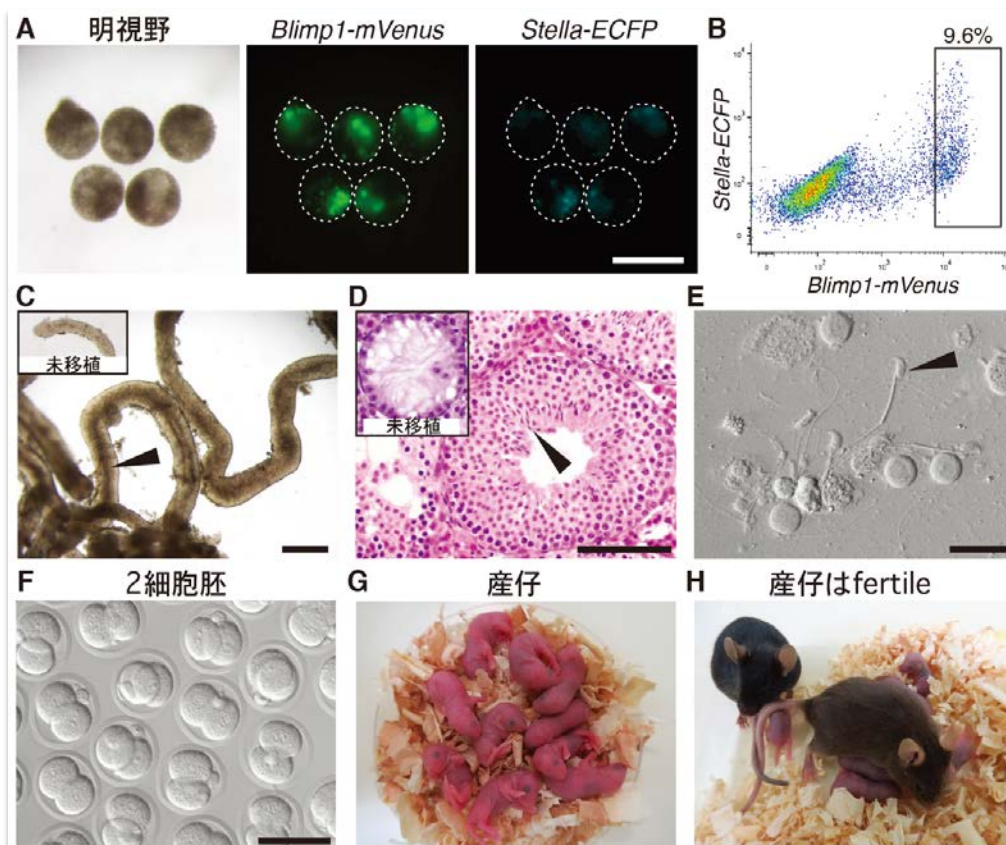
図 1. 性染色体トリソミーマウスの線維芽細胞から樹立した iPS 細胞



(上) XXY マウス（クラインフェルター症候群のモデル）の線維芽細胞（左）とそれらから樹立した iPS 細胞（右）。それぞれの核を染色し、X 染色体、Y 染色体を標識した。XXY 型の線維芽細胞から、XXY 型、XY 型、XX 型、XO 型の iPS 細胞が樹立された。

(下) XYY マウス（ダブル Y 症候群のモデル）の線維芽細胞（左）とそれらから樹立した iPS 細胞（右）。XYY 型の線維芽細胞から、XYY 型、XY 型、XO 型の iPS 細胞が樹立された。

図 2. XXY 線維芽細胞から樹立した XY 型 iPS 細胞からの生殖細胞の誘導とその産仔



(A, B) XXY 線維芽細胞から樹立した XY 型 iPS 細胞からの始原生殖細胞様細胞の誘導。始原生殖細胞様細胞は *Blimp1-mVenus*; *Stella-ECFP* 陽性となる。(C, D, E) 生殖細胞を欠損する精巣に上記の始原生殖細胞様細胞を移植すると精子に分化した。(F, G, H) 得られた精子は顕微授精により健全な産仔に貢献した。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Fertile offspring from sterile sex chromosome trisomic mice

著者 : 廣田 孝幸、大田 浩、Benjamin E. Powell、Shantha K. Mahadevaiah、Obah A. Ojarikre、齋藤 通紀、James M. A. Turner

掲載誌 : *Science*