



マウス卵母細胞^{注1}の形成機構を解明

—多能性幹細胞^{注2}から卵母細胞を液性因子^{注3}のみで誘導することに成功—

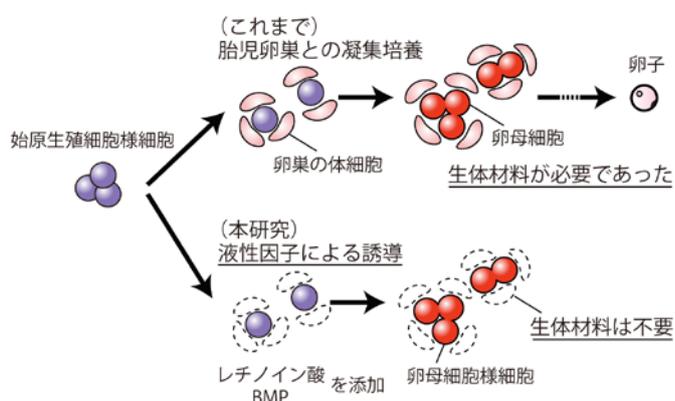
ポイント

1. マウス卵母細胞の誘導に必要な十分な因子を同定
2. マウス多能性幹細胞から卵母細胞を液性因子のみで誘導することに成功
3. 誘導された卵母細胞は胎児卵母細胞の特性を獲得

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] と同研究科の宮内英孝技術補佐員は、マウス卵母細胞の形成機構を解明し、マウス胚性幹細胞^{注2}から卵母細胞を液性因子により誘導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から始原生殖細胞様細胞^{注4}を誘導し、生殖細胞欠損マウスの精巣に移植することで精子を、胎児卵巣の体細胞と凝集培養することで卵子を作成し、それらから健全な産仔を得ることに成功してきました。しかし、これらの方法では生殖細胞の分化に生殖巣 (精巣や卵巣) の体細胞を必要としてきました。

本研究では、マウス卵母細胞の形成機構を解析し、始原生殖細胞から卵母細胞への分化を誘導する因子として、骨形成因子 (bone morphogenetic protein: BMP) ^{注5} とレチノイン酸^{注6} を同定しました。研究グループは、ES細胞から始原生殖細胞様細胞を誘導し、これまでに開発した方法を用いて始原生殖細胞様細胞を増殖させ、BMP とレチノイン酸を加え、始原生殖細胞様細胞をほぼ全て卵母細胞に分化させることに成功しました。誘導された卵母細胞はその最も際立った特徴である減数分裂^{注7}を開始し、またその遺伝子発現は生体内の胎児卵母細胞に酷似していました。



本研究は、多能性幹細胞から生体材料を用いず卵子を形成する方法開発のさきがけとなります。今回の研究によって、卵母細胞が誘導される詳細な分子機構の解明が促進され、また、ヒト多能性幹細胞からヒト卵母細胞を誘導する研究が促進される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、中央ヨーロッパ時間: 2017年9月19日 (火) 正午 [日本時間: 2017年9月19日 (火) 午後8時] に欧州分子生物学機構の科学誌 *The EMBO Journal* 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・卵子に分化し、それらが融合することで新たな個体を作りあげる唯一の細胞です。精子・卵子はともに始原生殖細胞から分化します。始原生殖細胞は、胎児期に、精巣あるいは卵巣の原器に定着し、精子の前駆細胞である前精原細胞、あるいは卵子の前駆細胞で

ある卵母細胞へと分化します。これら生殖細胞の性分化を誘導する分子機構は不明でした。一方、近年マウス多能性幹細胞から始原生殖細胞様細胞を誘導し、生殖細胞欠損マウスの精巣に移植することで精子を、胎児卵巣の体細胞と凝集培養することで卵子を作成し、それらから健全な産仔を得る方法が開発されました。しかし、これらの方法では生殖細胞の分化に生殖巣（精巣や卵巣）の体細胞を必要としてきました。また、それら体細胞からどのような因子が作用して生殖細胞の分化が進むのか不明でした。

2. 研究手法・成果

研究グループは、生殖巣の体細胞を用いずに始原生殖細胞様細胞を分化誘導する方法を確立するため、分化誘導因子の探索を行いました。研究グループが開発した始原生殖細胞様細胞の増殖培養法を用いて、胎児精巣・卵巣から分泌される液性因子に対する始原生殖細胞様細胞の分化反応を観測しました。その結果、雌性（卵母細胞）分化因子とされてきたレチノイン酸単独では分化誘導に不十分であること、レチノイン酸と BMP を同時に作用させることで卵母細胞様細胞が誘導されることを発見しました。分化誘導された卵母細胞様細胞は卵母細胞と同様な減数分裂像を示し、また網羅的遺伝子発現解析の結果、その遺伝子発現は胎児期の卵母細胞に酷似していることがわかりました。更に、この方法を用いると、90%以上の始原生殖細胞様細胞細胞が卵母細胞様細胞へと分化することがわかりました。これらの成果から、レチノイン酸と BMP は卵母細胞の形成に必要な因子であり、それらを用いることで、生殖巣の体細胞を用いずにマウス多能性幹細胞から卵母細胞様細胞を誘導することが可能であることが示されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、卵子形成開始となる性分化（卵母細胞の分化）を理解する基礎となり、その応用として生体材料を用いない多能性幹細胞からの卵子形成法の開発のさきがけとなるものです。今後は卵母細胞から機能的な卵子形成までの分化機構の理解とその応用、ヒト始原生殖細胞様細胞の分化促進、ひいては卵子形成への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。
J S T 戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究 (E R A T O)

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: 卵母細胞：胎児期に始原生殖細胞から分化する雌性の生殖細胞のこと。始原生殖細胞は雌雄の区別がない細胞であるが、生殖巣からの因子の影響で、雄では前精原細胞に、雌では卵母細胞に分化する。

注 2: 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。受精卵から発生する胚盤胞を培養することで樹立される胚性幹細胞 (Embryonic stem cells: ESCs) や、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人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent stem cells: iPSCs) の総称。

注 3: 液性因子：細胞から分泌され、他の細胞の運命決定などに影響するタンパク質や小分子のこと。

注 4: 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。マウスの場合には胚齢 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 日目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。

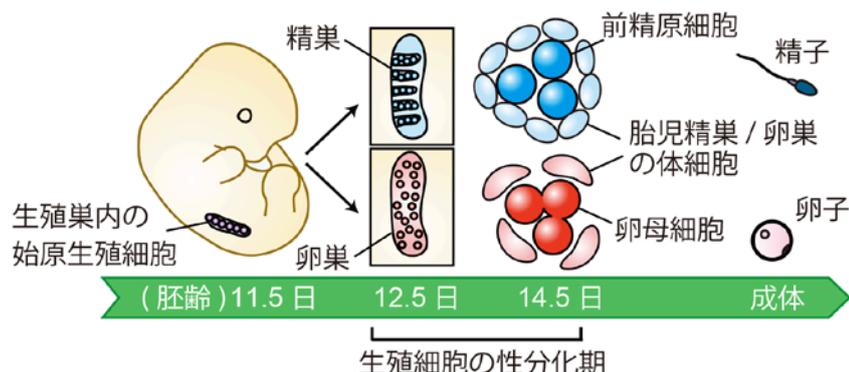
注 5: 骨形成因子 (bone morphogenetic protein: BMP)：細胞から分泌され、他の細胞の運命決定などに影響するタンパク質の一つ。骨の形成を促進する因子として同定されたが、その後、様々な細胞の分化に重要であることがわかった。

注 6: レチノイン酸: ビタミン A のこと。脂溶性の小さな化学物質でレチノールが細胞内で代謝されることにより生成される。様々な細胞の増殖や分化に重要なことがわかっている。

注 7: 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。

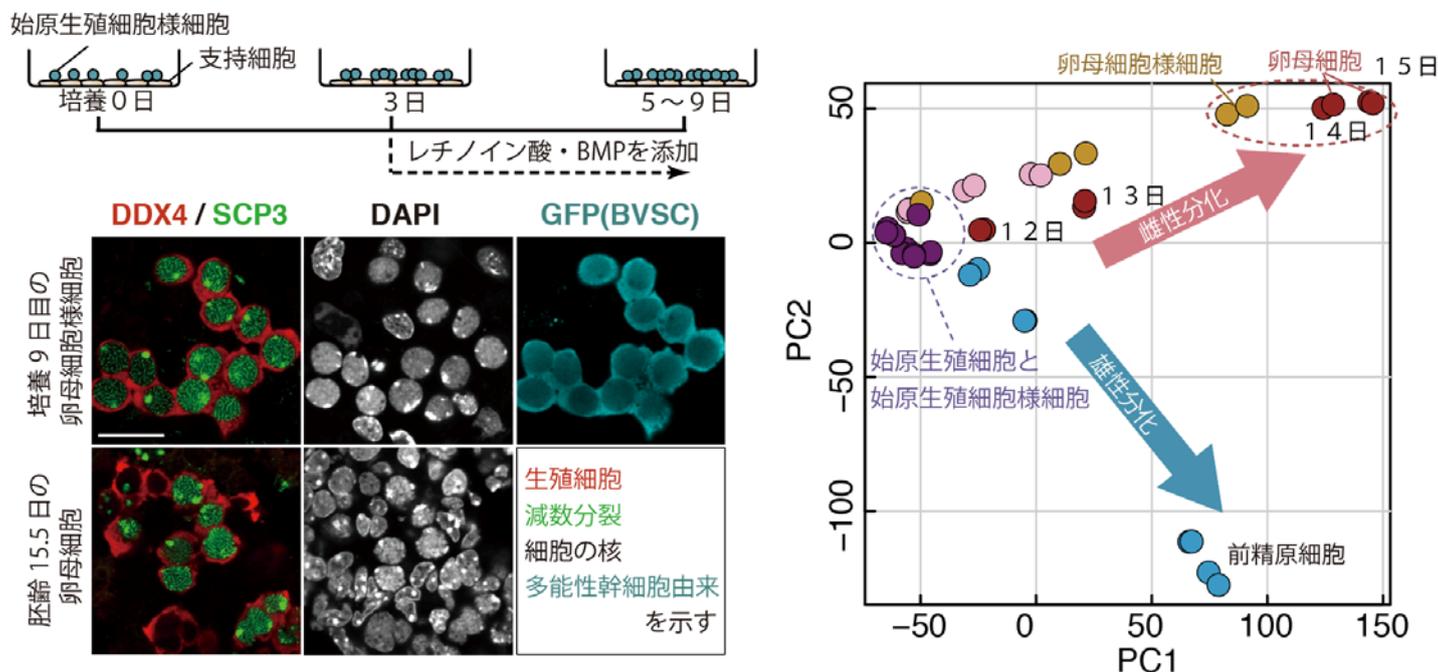
<参考図>

図 1. 始原生殖細胞とその分化の概略図



(上) 始原生殖細胞は胎児精巣・卵巣内にて、胎齢 12 日頃より性分化を開始する。雄では精子の元となる前精原細胞へ、雌では卵子の元となる卵母細胞へと分化し、その分化は胎齢 14 日目には完了している。

図 2. 始原生殖細胞様細胞の増殖培養法を用いた卵母細胞様細胞誘導



(上) マウス多能性幹細胞から誘導した始原生殖細胞様細胞を用いた増殖培養法と、レチノイン酸と BMP を用いた際の卵母細胞様細胞誘導法。(左下) 誘導された卵母細胞様細胞。減数分裂を開始していることを示す特徴的な染色体構造 (緑色のもの) が認められ、生体の卵母細胞によく似ていることがわかる。(右) 網羅的遺伝子発現解析から得られた発生的地図。生体の生殖細胞と多能性幹細胞から誘導した始原生殖細胞様細胞、卵母細胞様細胞を含んでいる。始原生殖細胞様細胞はレチノイン酸と BMP により性分化し、誘導された卵母細胞様細胞 (右上オレンジ色の円) は生体の卵母細胞と非常に近い位置にすることがわかる。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Bone morphogenetic protein and retinoic acid synergistically specify female germ-cell fate in mice

著者 : 宮内 英孝、大田 浩、長岡 創、中木 文雄、佐々木 恒太郎、林 克彦、藪田 幸宏、中村 友紀、山本 拓也、斎藤 通紀

掲載誌 : *The EMBO Journal*