

## 生殖細胞、特に配偶子の作成研究の動向について

理研バイオリソースセンター  
筑波大学大学院生命環境科学研究科  
東京大学大学院医学系研究科  
小倉淳郎

1

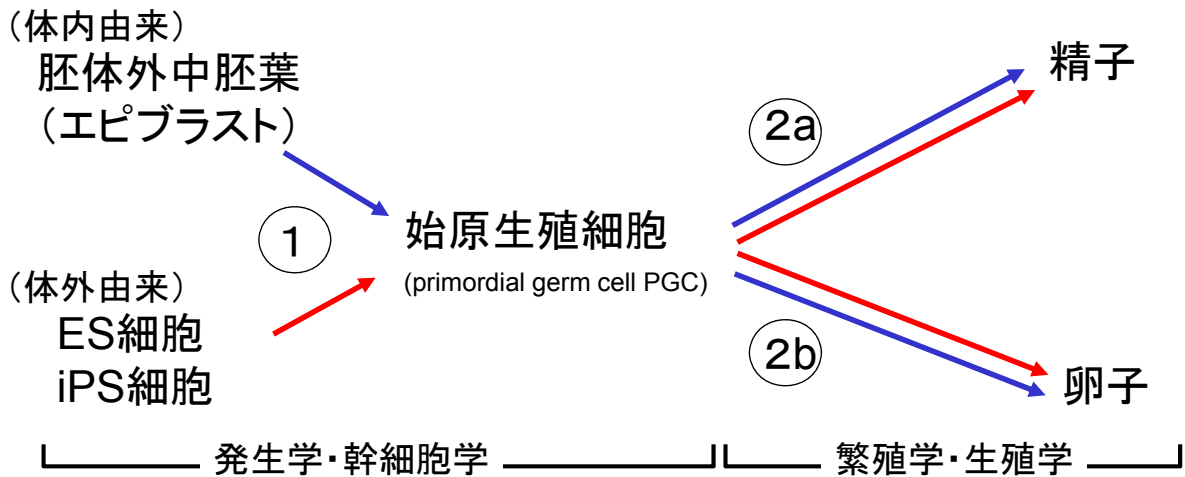
第77回生命倫理専門調査会  
平成25年11月27日(水)

「生殖細胞、特に配偶子の作成研究の動向について」

- ▶ 生殖細胞発生の基礎と体外生殖細胞作出の現状  
(特に始原生殖細胞から配偶子までの発生について)
- 体外由来生殖細胞を用いた胚の作出の意義について

2

# 生殖細胞発生全体像



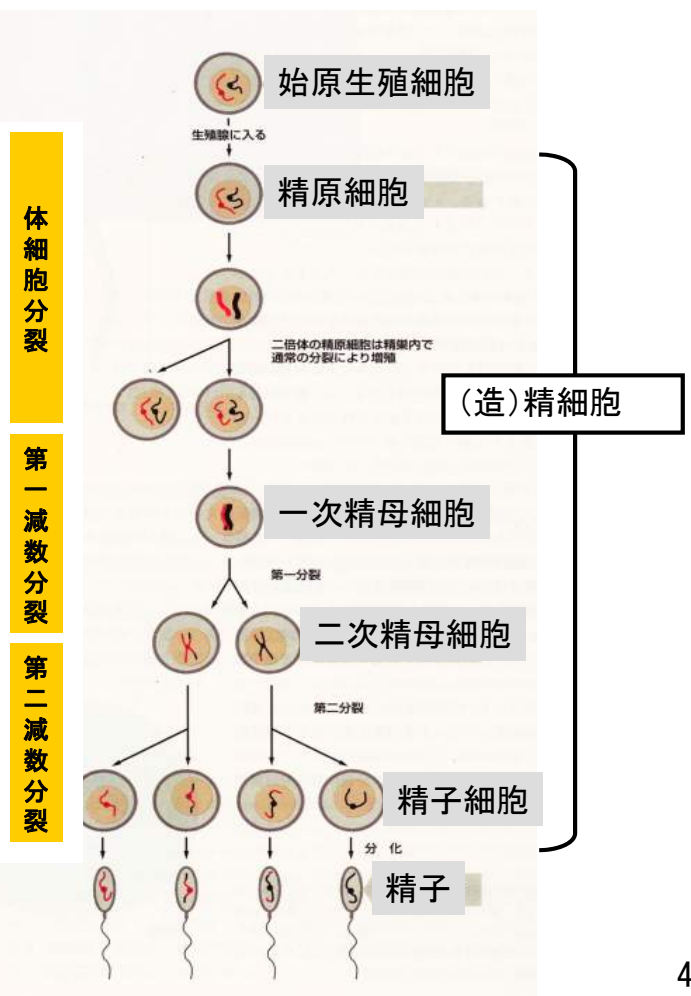
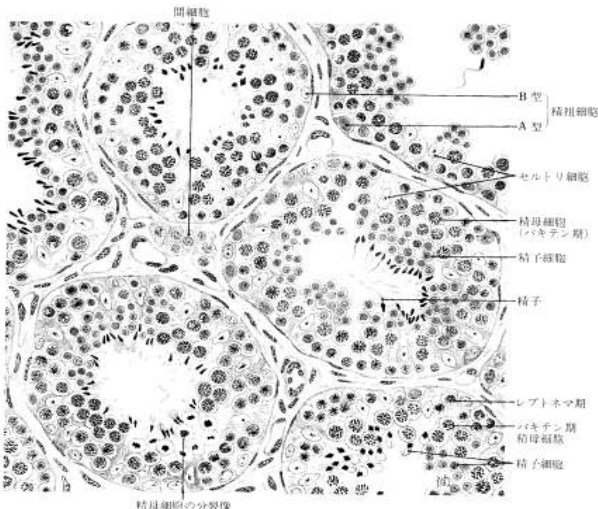
1. ES(iPS)細胞から配偶子を作成する場合も必ず始原生殖細胞(あるいはそれに類似した細胞)を経由する。

2. よってES (iPS)細胞から生殖細胞を作出する研究は、始原生殖細胞の前後、①と②を分けて整理するとわかりやすい

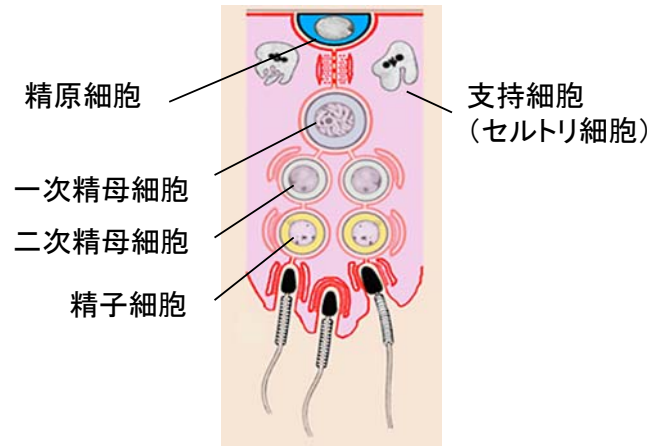
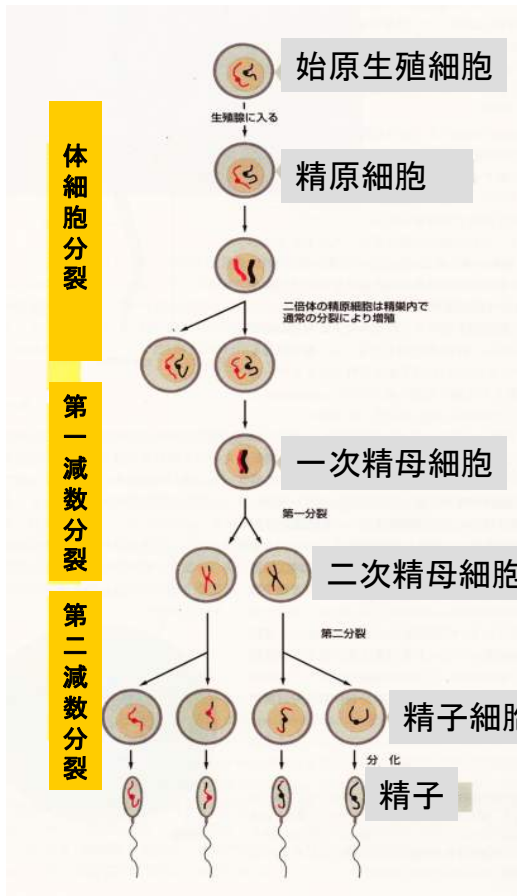
3. ここでは、主に②について説明 (①については斎藤先生のご発表へ)。

## 始原生殖細胞 → 精子の発生

- ・減数分裂前にゲノム刷込み完了
- ・性成熟後に減数分裂を開始する
- ・減数分裂を開始したら精子まで停止しない
- ・複雑な立体構造を持つ精細管上皮内で緻密な制御を受けている。



# 精子の体外発生



マウス

体外では精細管上皮の立体構造が再現できない

このため、現在マウスで体外培養系が確立しているのは後期一次精母細胞 → 精子細胞の範囲のみ (Mahr et al., Biol. Reprod. 2003)

## 1) 精原細胞から培養開始した研究

Feng et al. (Science, 2002)

不死化した精原細胞を支持細胞(セルトリ細胞)非存在下で培養して、精子細胞(半数体細胞)を作出。再現されていない。

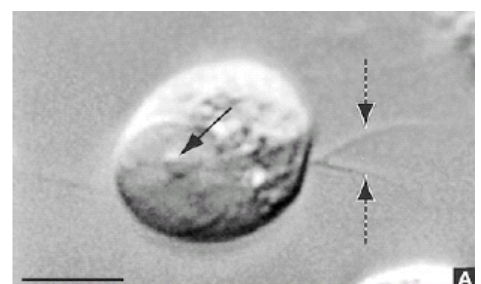
## 2) 精母細胞から培養開始した研究

Rassoulzadegan et al. (Cell, 1993)

株化支持細胞(セルトリ細胞)との共培養により、生後8-10日のマウス精細胞(初期精母細胞?)から半数体細胞を作出と報告。DNA量とマーカーのみで確認。再現されていない。

Marh et al. (Biol Reprod, 2003)

通常の精巣細胞との共培養により、生後13日のマウス精細胞(後期精母細胞)から半数体細胞(円形精子細胞)を作出。**半数体染色体や鞭毛など詳細に確認**。精子細胞の核は濃縮しない(精子にはならない)。頭微授精により**産子を作出**。



# 始原生殖細胞→卵子の発生

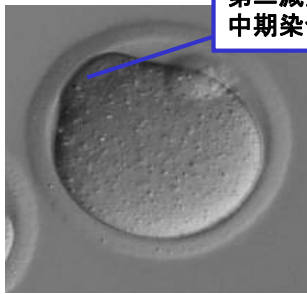
- ・ 減数分裂中に2回停止する
- ・ 第一減数分裂中に
  1. 細胞質増大
  2. ゲノム刷込みが行われる

第一減数分裂  
前期の停止

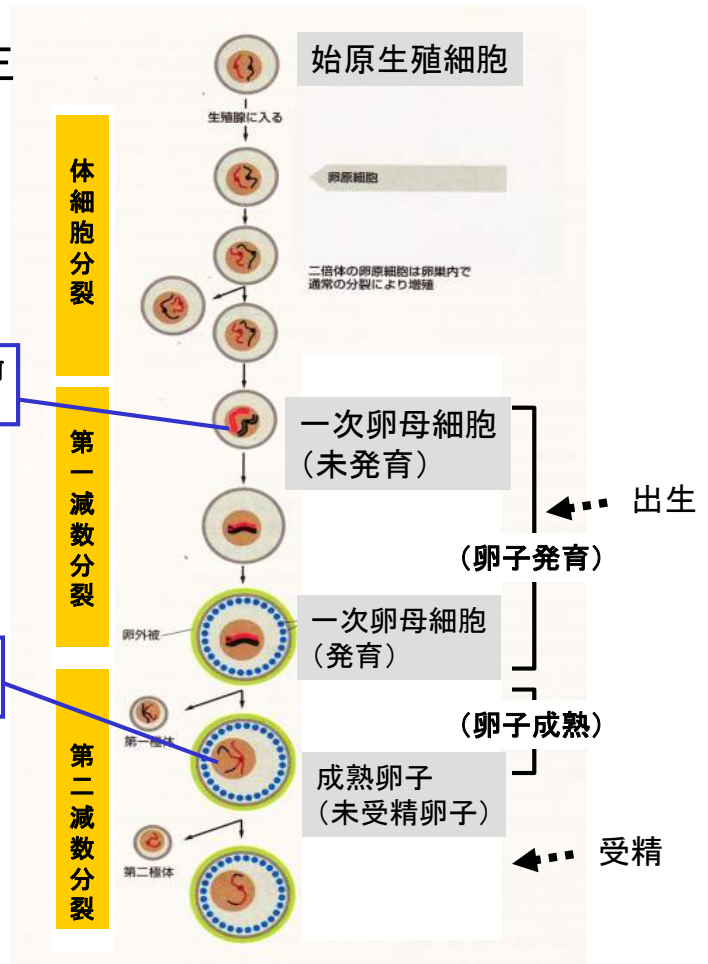


第一減数分裂  
前期核

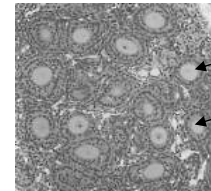
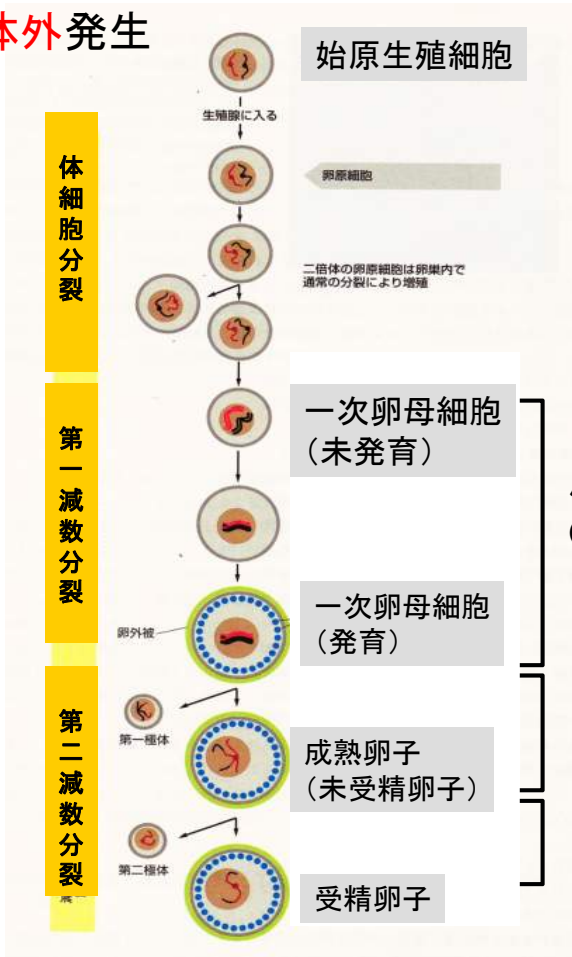
第二減数分裂  
中期の停止



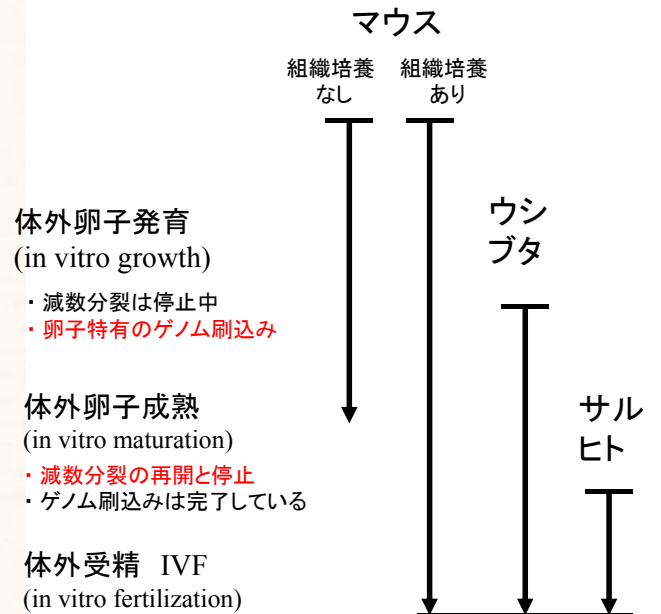
第二減数分裂  
中期染色体



# 卵子の体外発生

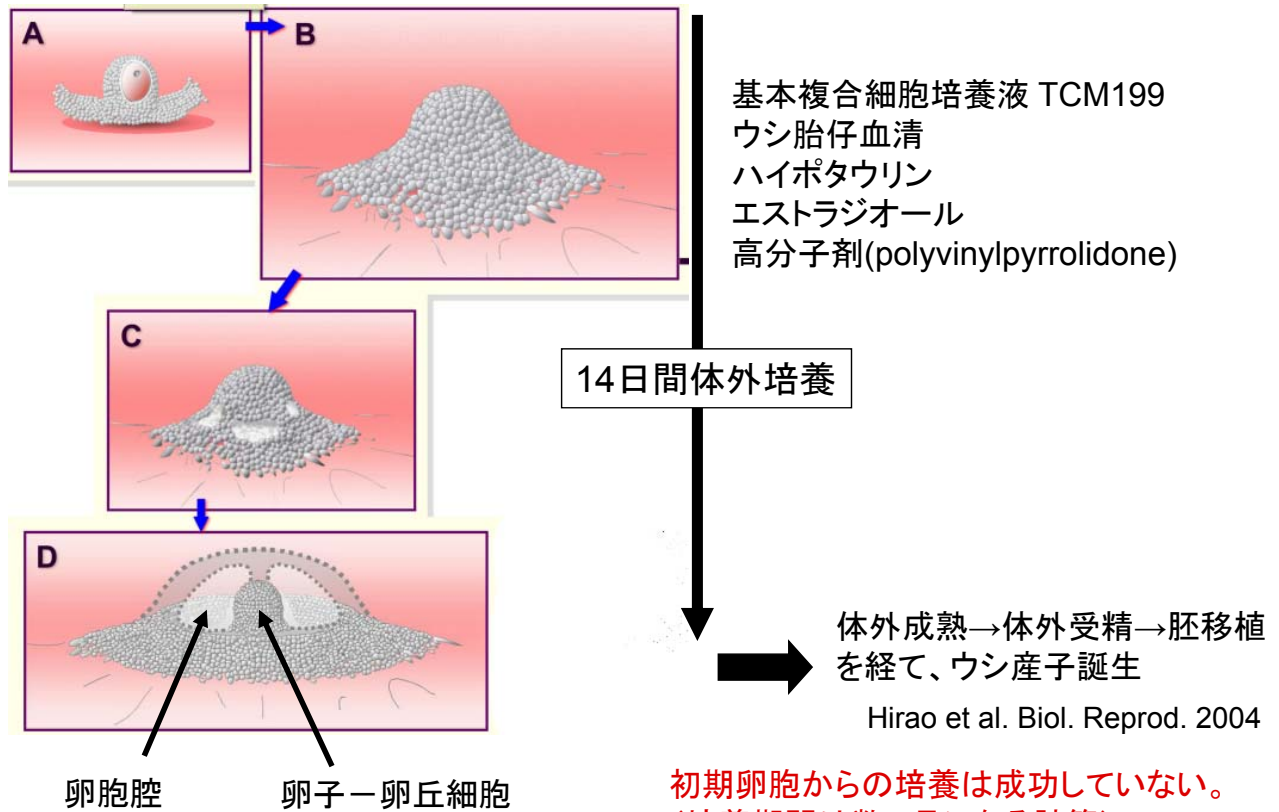


卵巣組織ごと培養後に発育した卵子  
※一次卵母細胞は分離するとほとんど発育しない



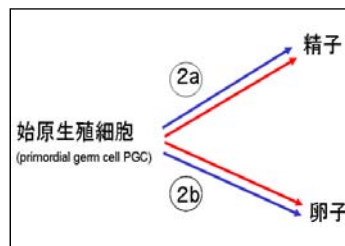
## ウシ発育途上卵胞の体外培養

発育途上卵胞の体外培養で産子が得られているのは、マウスとウシのみ



9

## 始原生殖細胞から配偶子までの体外培養の現状



雌雄生殖細胞とも、マウスで最も技術開発が進んでいるが、それでも減数分裂の一部の過程しか再現できていない

↓  
体内環境の利用へ

同所性 orthotopic (精巣、卵巢)

異所性 ectopic (皮下、腎皮膜下など)

10

# 雄性生殖細胞の同所性移植

## 精細管内移植技術

Hayashi et al 2011 (斎藤先生) でも利用

Spermatogenesis following male germ-cell transplantation.

マウス精原幹細胞 → マウス精細管 → 精子完成 → 産子

Brinster RL & Zimmermann JW (1994) PNAS 91: 11298-11302

Rat spermatogenesis in mouse testis.

ラット精原幹細胞 → マウス精細管 → ラット精子完成

Clouthier et al. (1996) Nature 381: 418-421

Primate spermatogonial stem cells colonize mouse testes.

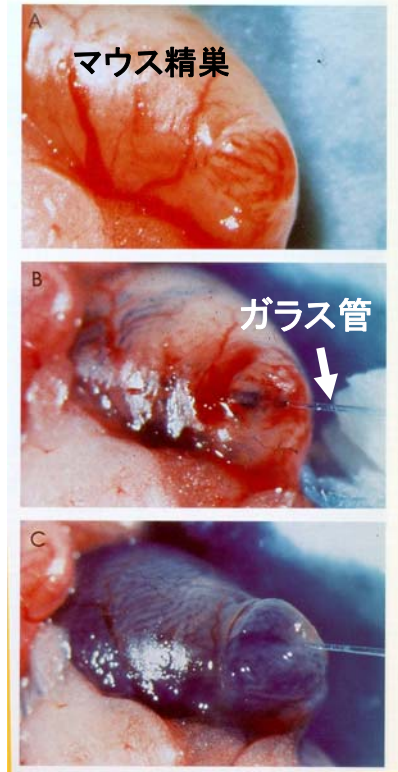
サル精原幹細胞 → マウス精細管 → 増殖(分化せず)

Nagano M et al. (2001) Biol Reprod 64:1409-1416

Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells...

マウス始原生殖細胞 → マウス精細管 → 精子完成 → 産子

Chuma et al. (2005) Development 132:117-22.



(Ogawa et al., 1997)

2つの生物学的障壁

免疫拒絶

(異種間、同種異系間)

体細胞(セルトリ細胞)との不適合

(異種間)

## 異種間の壁を乗り越える方法

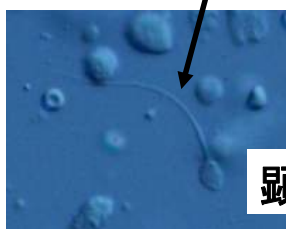
= 精細管まるごとの移植

マウス精巣内に移植した新生仔ウサギ精細管



移植した新生仔ウサギ精細管(精子無し)

発生したウサギ精子



顕微授精



生まれたウサギ黒)

(Shinohara et al., Hum. Reprod., 2002)

体細胞(セルトリ細胞)が同種であることが重要

皮下へ異所性移植することも可能: ブタ精細管 → マウス皮下でブタ精子発生

(Nakai et al. Reproduction 2010)