

ヒトES/iPS細胞からの生殖細胞作成研究の課題 (内閣府生命倫理専門調査会 110928)

ヒト多能性幹細胞(ES/iPS)の至適培養条件は未確立だと考えられる:
 マウス・ラット以外の哺乳類では、現在のところ、十分なキメラ形成能を持つ多能性幹細胞の報告がない。
 ヒト多能性幹細胞がヒト胚のどのステージの細胞に相当するのか正確な知見が無い。

→ マウス・ラット以外のよりヒトに近い動物種(霊長類等)での研究の必要性
 多能性幹細胞培養条件の至適化

生体内での過程を研究できないヒトにおいては、試験管内でES/iPS細胞から生殖細胞様細胞を誘導する際の道筋が乏しい

→ マウス・ラット以外のよりヒトに近い動物種(霊長類等)での研究の必要性

移植により機能の評価することの出来ないヒトにおいては、作成された細胞(例えば生殖細胞作成の第一段階である始原生殖細胞)の本質的な(機能的な)評価が出来ない。

→ 霊長類をモデルとして、遺伝子発現・エピジェネティックプロファイルを徹底検証
 Deep sequencingによりゲノム配列を詳細に検討

内閣府生命倫理専門調査会 161213

→ この5年間で霊長類を用いた研究が本邦で進展した。
 ヒト中絶胎児を用いた研究がイギリス・アメリカ・中国で進展した。

マウスの研究に倣い、2015年初頭にヒトES/iPS細胞からヒトPGCLCsを誘導したとの報告がイギリス・イスラエルの共同研究グループから報告された。

SOX17 Is a Critical Specifier of Human Primordial Germ Cell Fate

Naoko Irie,^{1,2,3,4} Leehee Weinberger,^{4,5} Walfred W.C. Tang,^{1,2,3,4} Toshihiro Kobayashi,^{1,2,3} Sergey Viukov,⁴ Yair S. Manor,⁴ Sabine Dietmann,³ Jacob H. Hanna,^{1,6,*} and M. Azim Surani^{1,2,3,6,*}

¹Wellcome Trust Cancer Research UK Gurdon Institute, Tennis Court Road, University of Cambridge, Cambridge CB2 1QN, UK

²Department of Physiology, Development and Neuroscience, Downing Street, University of Cambridge, Cambridge CB2 3EG, UK

³Wellcome Trust-Medical Research Council Stem Cell Institute, Tennis Court Road, University of Cambridge, Cambridge CB2 3EG, UK

⁴The Department of Molecular Genetics, Weizmann Institute of Science, Rehovot 76100, Israel

⁵Co-first author

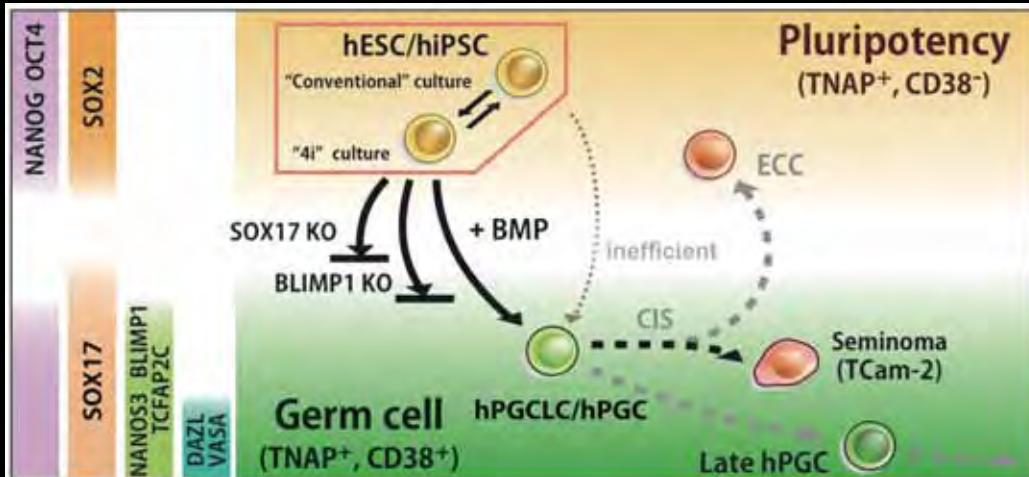
⁶Co-senior author

*Correspondence: jacob.h.hanna@cam.ac.uk (J.H.H.), a.surani@gurdon.cam.ac.uk (M.A.S.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.013>

This is an open access article under the CC-BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Cell 160, 253–268, January 15, 2015 ©2015 The Authors 253



2015年初夏にアメリカ・イギリス・中国の研究グループがそれぞれヒトPGCsの詳細な遺伝子発現をDNAメチル化リプログラミングに関する報告を行った。

Amander T. Clark (*Cell* 161, 1425-1436, 2015)

DNA Demethylation Dynamics in the Human Prenatal Germline

RNA sequencing: n = 9 ovaries and n = 6 testes from 53 to 137 days of life post-fertilization
 WGBS: n = 4 pairs of ovaries (57, 67, 113, 113) and n = 2 pairs of testes (59, 137)

Fuchou Tang (*Cell* 161,1437-1452, 2015)

The Transcriptome and DNA Methylation Landscapes of Human Primordial Germ Cells

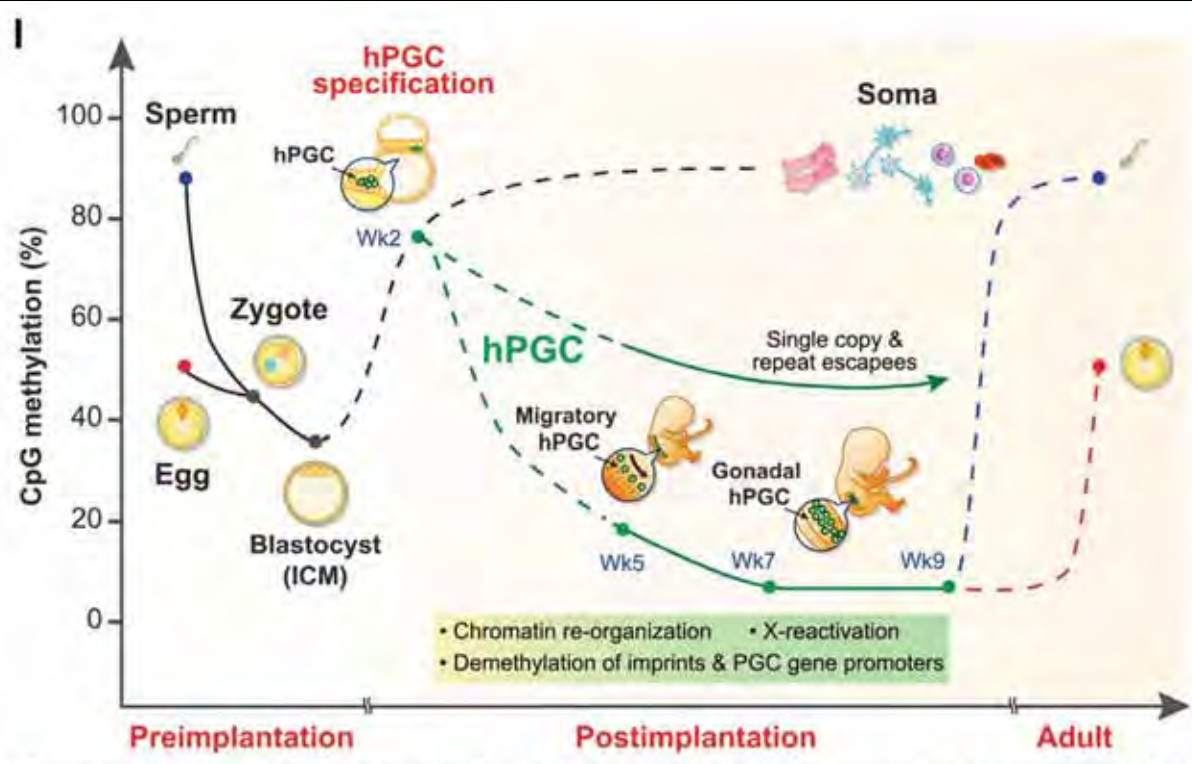
RNA sequencing: 233 single PGCs from 15 embryos and 86 neighboring somatic cells from 13 of the embryos [4 (m,f), 7(m), 8(f), 10(m,f), 11(m,f), 17(f), 19 (m) weeks old]
 WGBS: PBAT (7 to 19 weeks old)

M. Azim Surani (*Cell* 161, 1453-1467, 2015)

A Unique Gene Regulatory Network Resets the Human Germline Epigenome for Development

RNA sequencing: 14 individual human embryos of Wk 5.5, 7, and 9.
 WGBS: PBAT, 14 individual human embryos of Wk 5.5, 7, and 9.

ヒト生殖細胞におけるDNAメチル化リプログラミングのモデル



(f) Schematic showing dynamics of preimplantation and germline epigenetic reprogramming in humans. hPGCs undergo the most comprehensive wave of global DNA demethylation, which reaches a minimum of ~5% CpG methylation at weeks 7-9. Some single copy and repeat loci remain methylated and are candidates for transgenerational epigenetic inheritance. Dotted line indicates postulated methylation dynamics.

(*Cell* 161, 1453-1467, 2015)

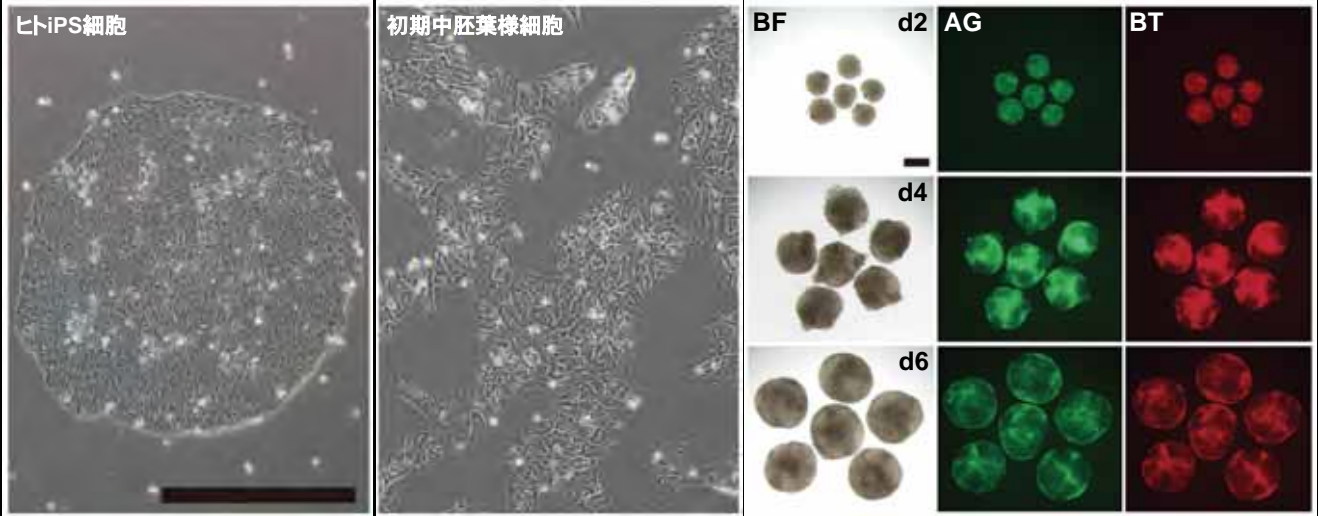
本邦における進展：ヒトiPS細胞からヒト生殖細胞の誘導

(Sasaki, Yokobayashi, et al., Cell Stem Cell, 2015)

BLIMP1-tdTomato;
TFAP2C-EGFP
BTAG hiPSCs (XY)

ACTA, CHIR for ~2 days
incipient mesoderm-like cells
(iMeLCs)

BMP4, LIF, SCF, EGF



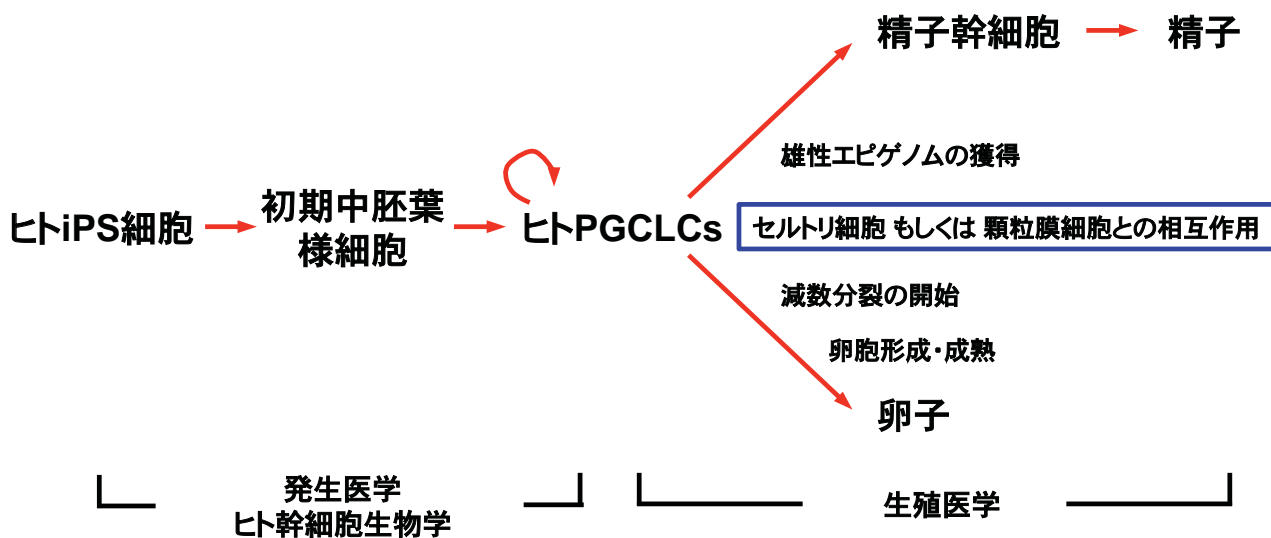
POU5F1, SOX2, NANOG (+)

POU5F1, SOX2, NANOG (+)
T, *EOMES*, *MIXL1* weakly (+)

BTAG (+) 細胞はヒトやカニクイザルのPGCsと似た
遺伝子発現を示す。

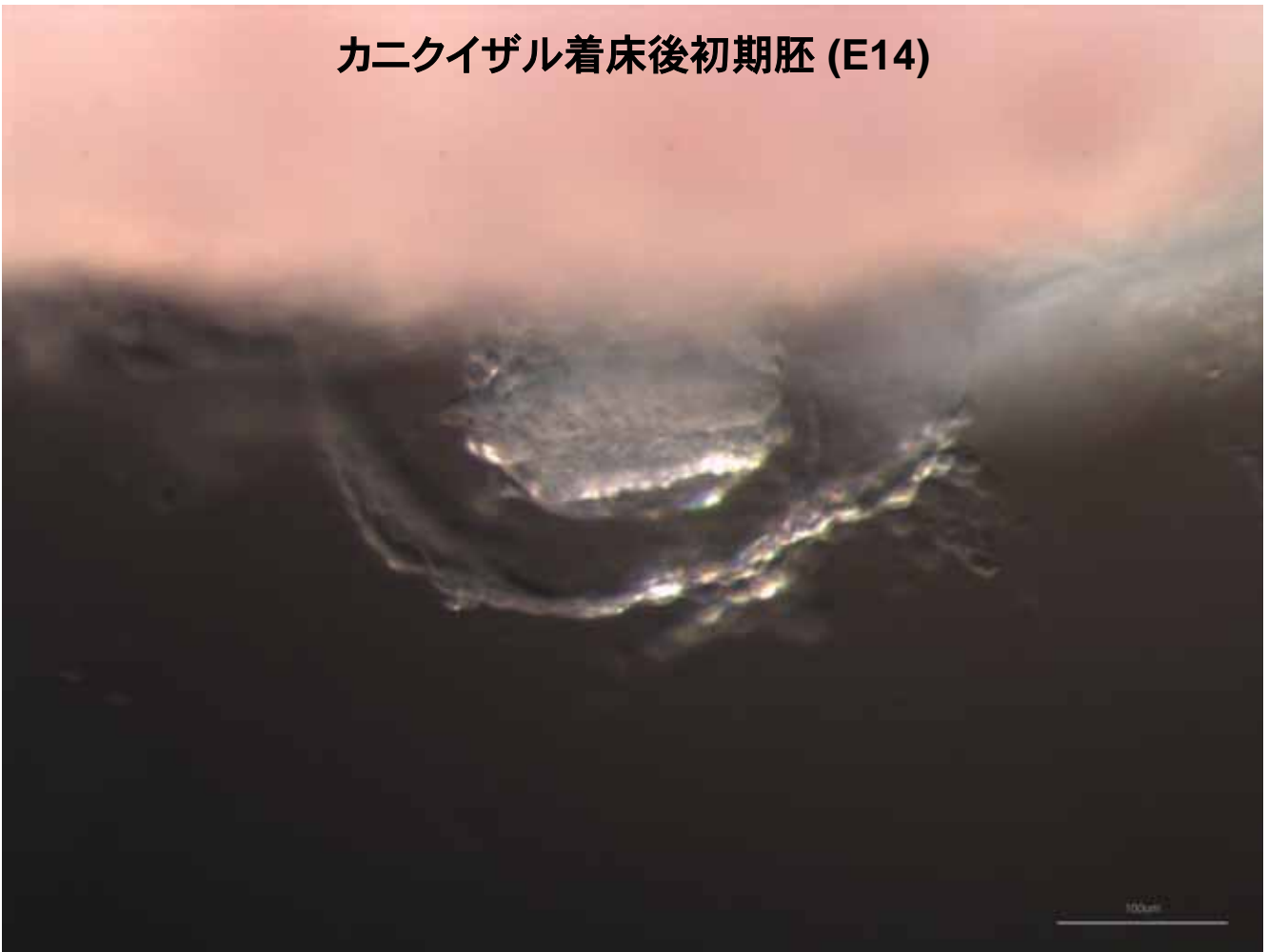
BTAG (+) cells ≈ ヒトPGCLCs,
確かな結論を出すにはさらなる研究が必要

ヒトiPSCsからヒト生殖細胞の誘導

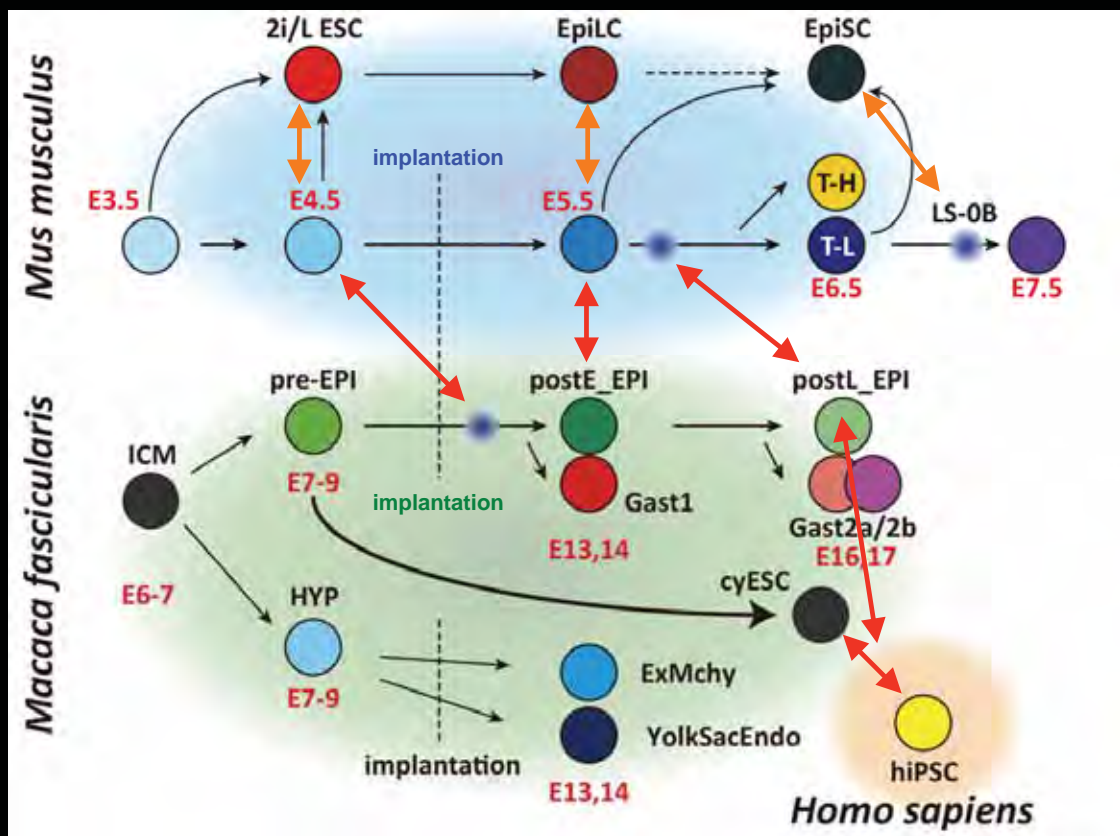


ヒトPGCLCsの誘導過程はヒトPGCsの誘導過程を
本当に再現しているのか??

カニクイザル着床後初期胚 (E14)



マウス、カニクイザル、ヒトにおける多能性スペクトラムの発生座標



(Nakamura et al., Nature, 2016)