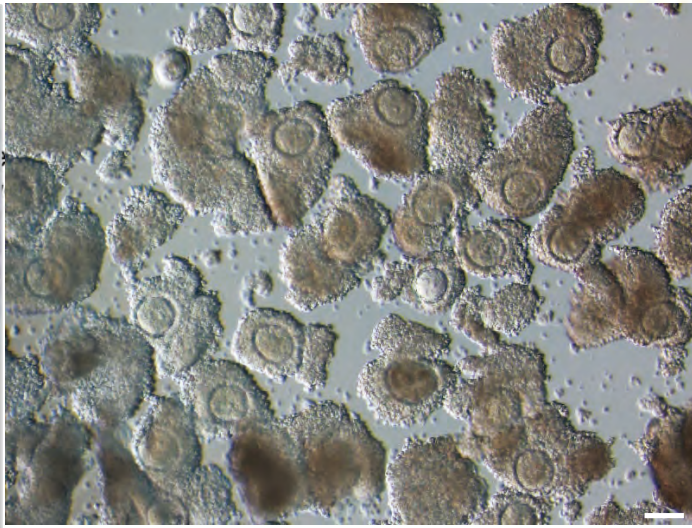
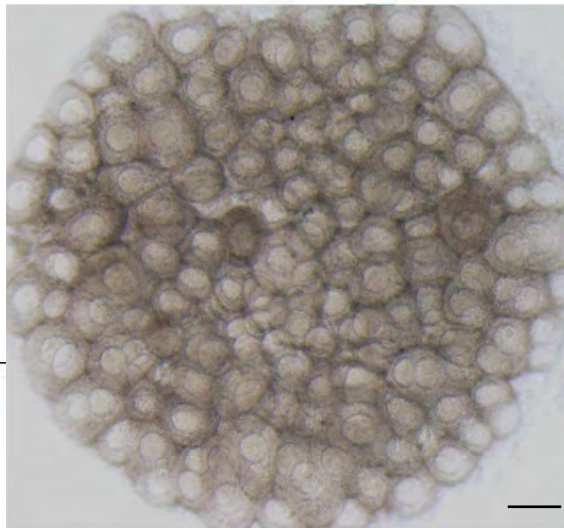
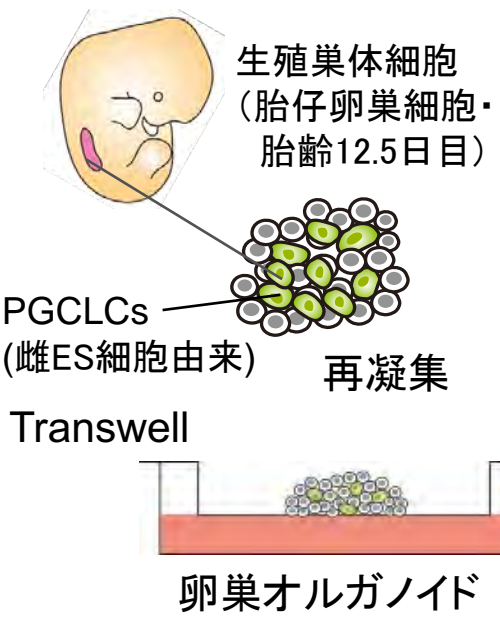
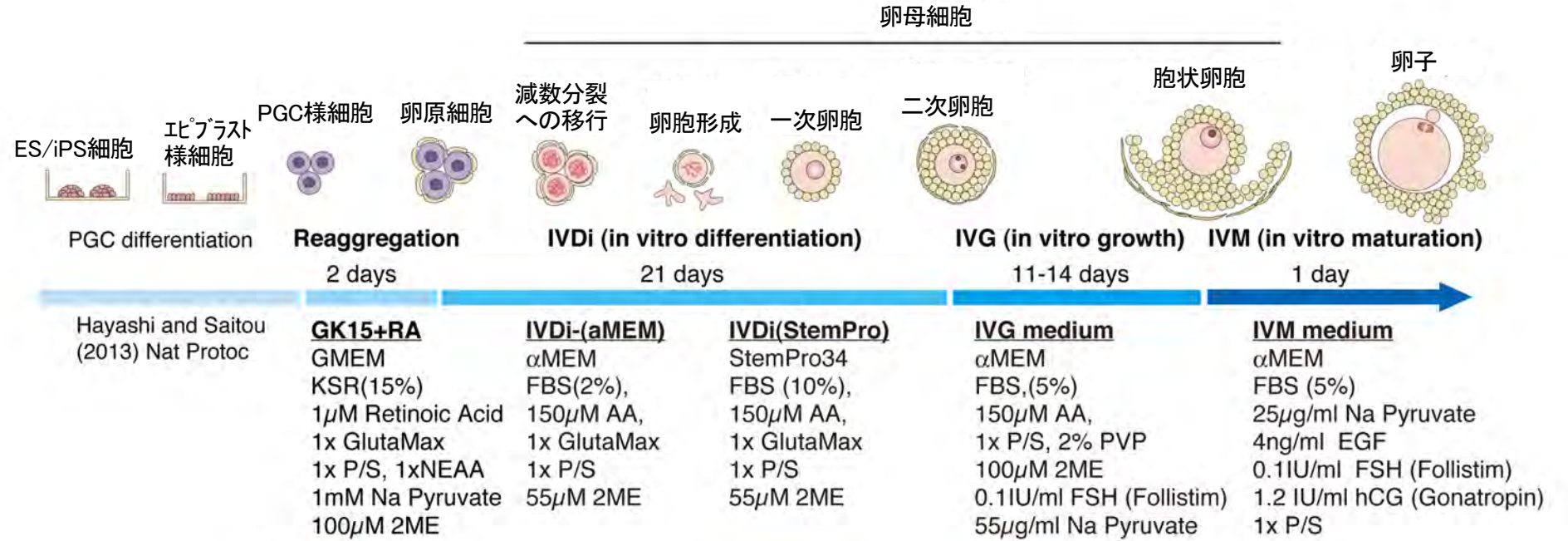
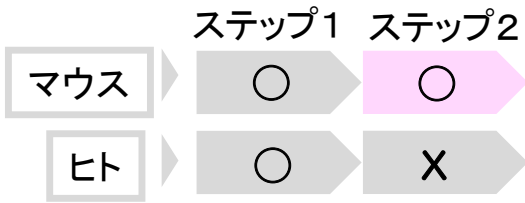
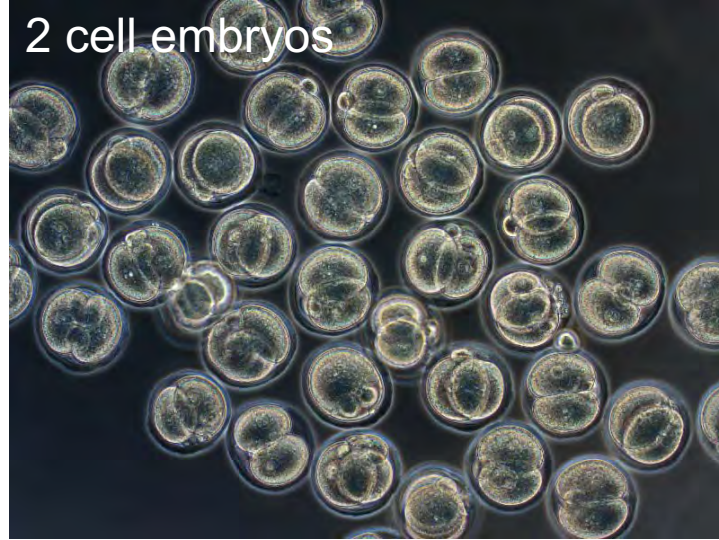


ステップ2 (マウス) : 体外培養系によるPGCLCsからの卵子の誘導



Hikabe et al. (2016) *Nature*; Hayashi et al. (2017) *Nature Protoc*

in vitro gametogenesisで作られた卵子は受精により個体にまで発生する。



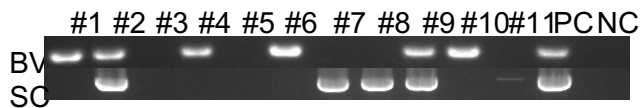
ES/iPS細胞由来の卵子は受精により個体にまで発生するが...

- ✓ 卵子間の質的なばらつきが大きい。
- ✓ 遺伝子発現がやや異なる。
- ✓ ミトコンドリアDNAの量が少ない。
- ✓ 染色体の異数体が多い。
- ✓ 物理的刺激に弱い。
- ✓ **発生率が低い: 生体由来の卵子(60-70%)と比較して、約1/20(3-5%)。**



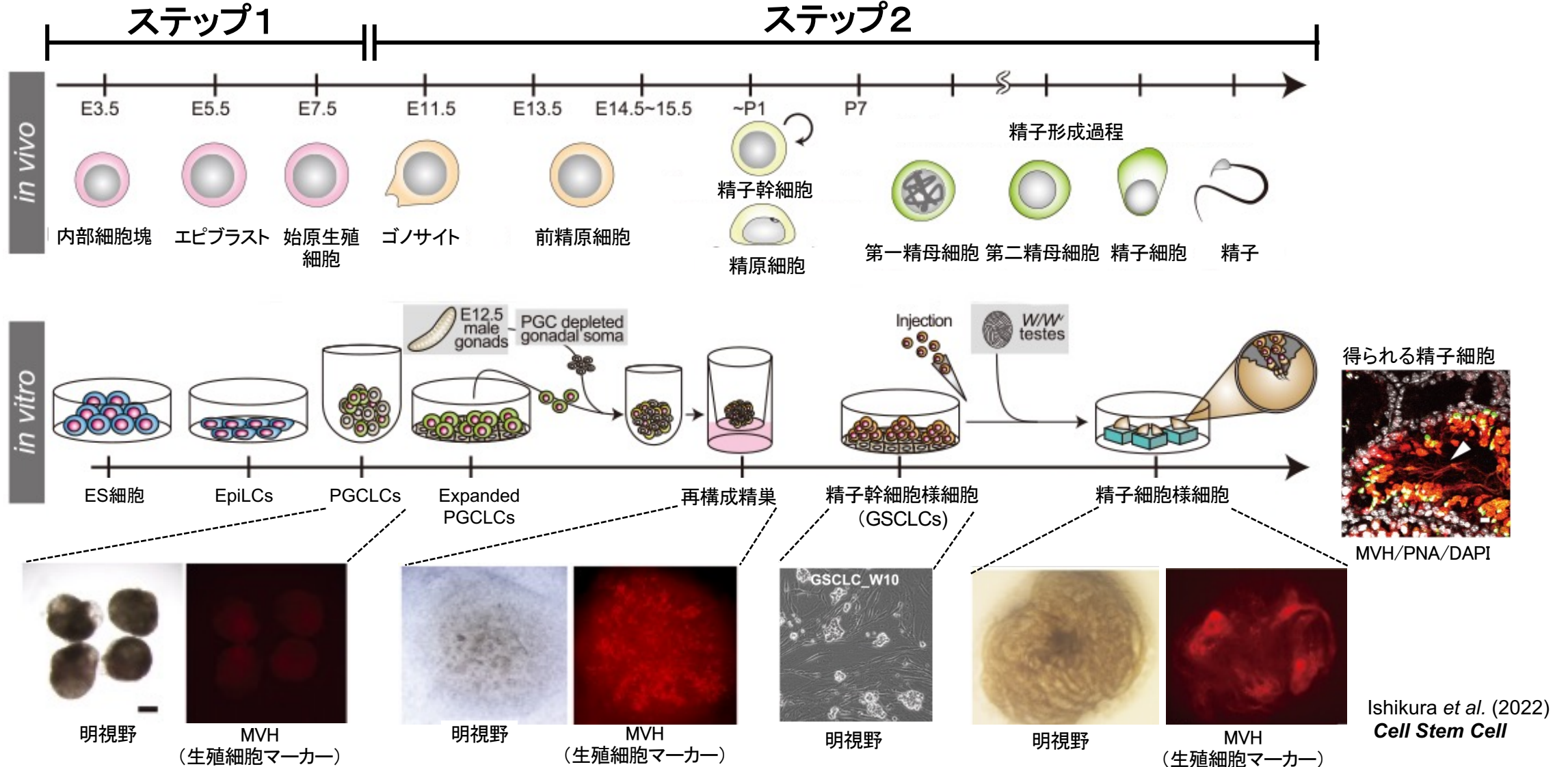
これから取り組むべき課題

- ✓ 培養条件の再検討
- ✓ 良質な卵子の選択



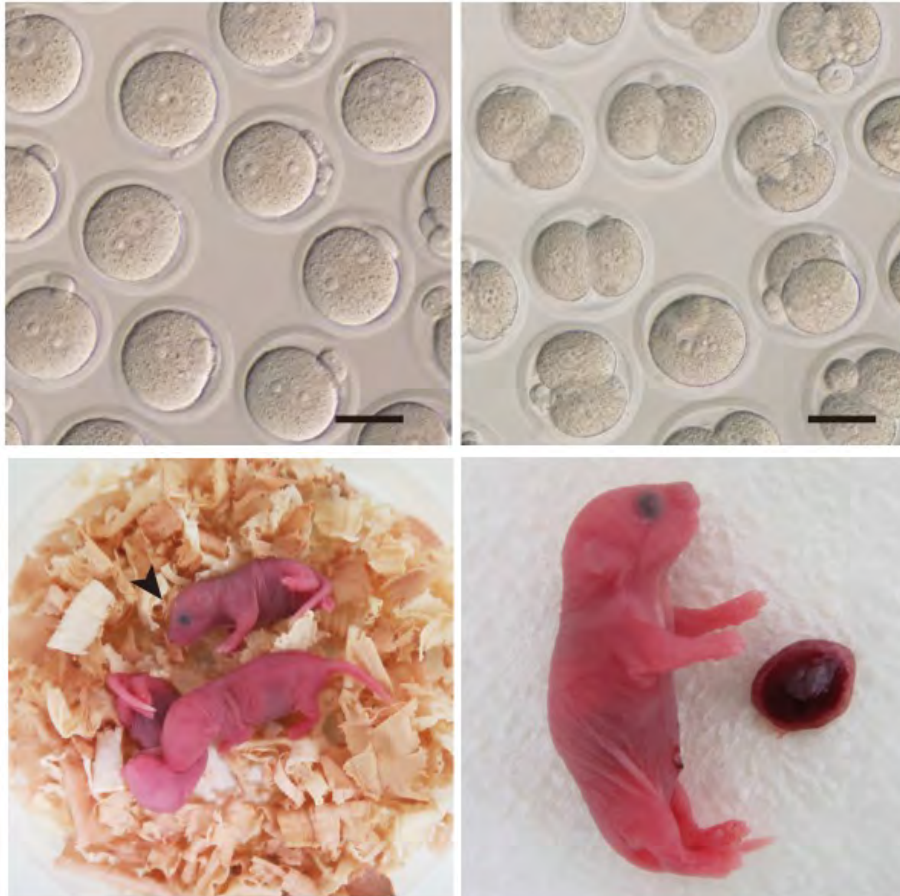
Hikabe et al. (2016) *Nature*

ステップ2 (マウス) : 体外培養系によるES細胞からの精子の誘導



マウスでは複数の培養システムの組み合わせで、精子をES細胞から分化誘導できる。

in vitro gametogenesisで作られた精子は受精により個体にまで発生する。

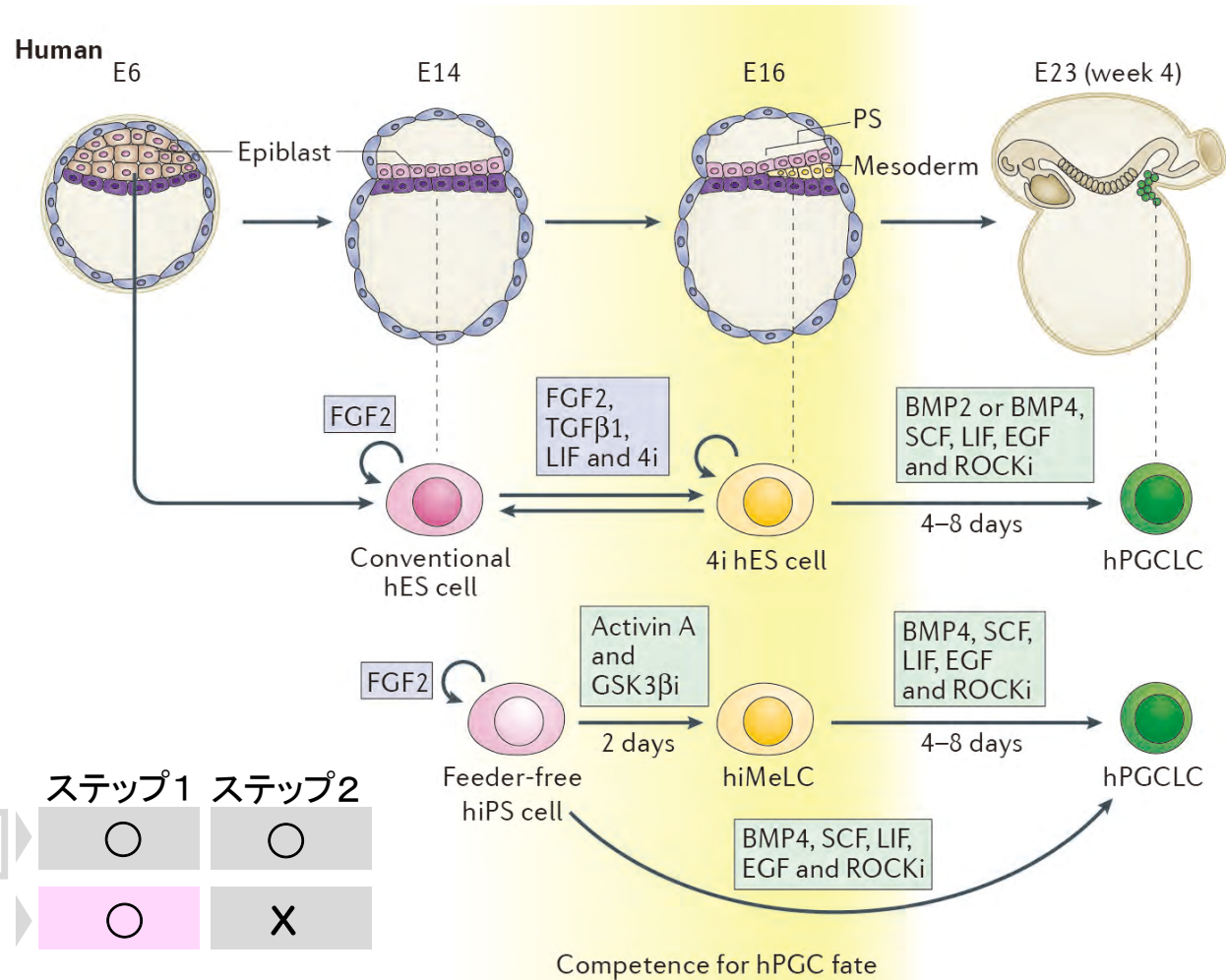


生体由来の精子幹細胞と比べて、ES/iPS細胞由来の精子幹細胞は概ね遺伝子発現等は似ているが...

- ✓ 精子形成能が低い。
- ✓ 細胞株間のばらつきが大きい。
- ✓ ヒストン修飾パターンが異なる
(H3K9me2 ↑、H3K27me3 ↑)
- ✓ ゲノムのInsulationの残留がある。
- ✓ 核内のB-compartmentの増加
- ✓ 得られる精子由来の受精卵の発生率が悪い。

Cell line	No. of oocyte survived after ROSI	No. of zygotes with 2PN (%)	No. of 2-cell embryos (%)	No. of embryos transferred	No. of pups (% · sex)
GSCLC_W3 [1]	48	23(47.9%)	23(100%)	23	1 (4.3% · Female)
GSCLC_W3 [2]	33	21(63.6%)	20(95.2%)	20	1 (5.0% · Male)

ヒトのステップ1: ヒトES/iPS細胞からの始原生殖細胞様細胞 (PGCLCs) の分化

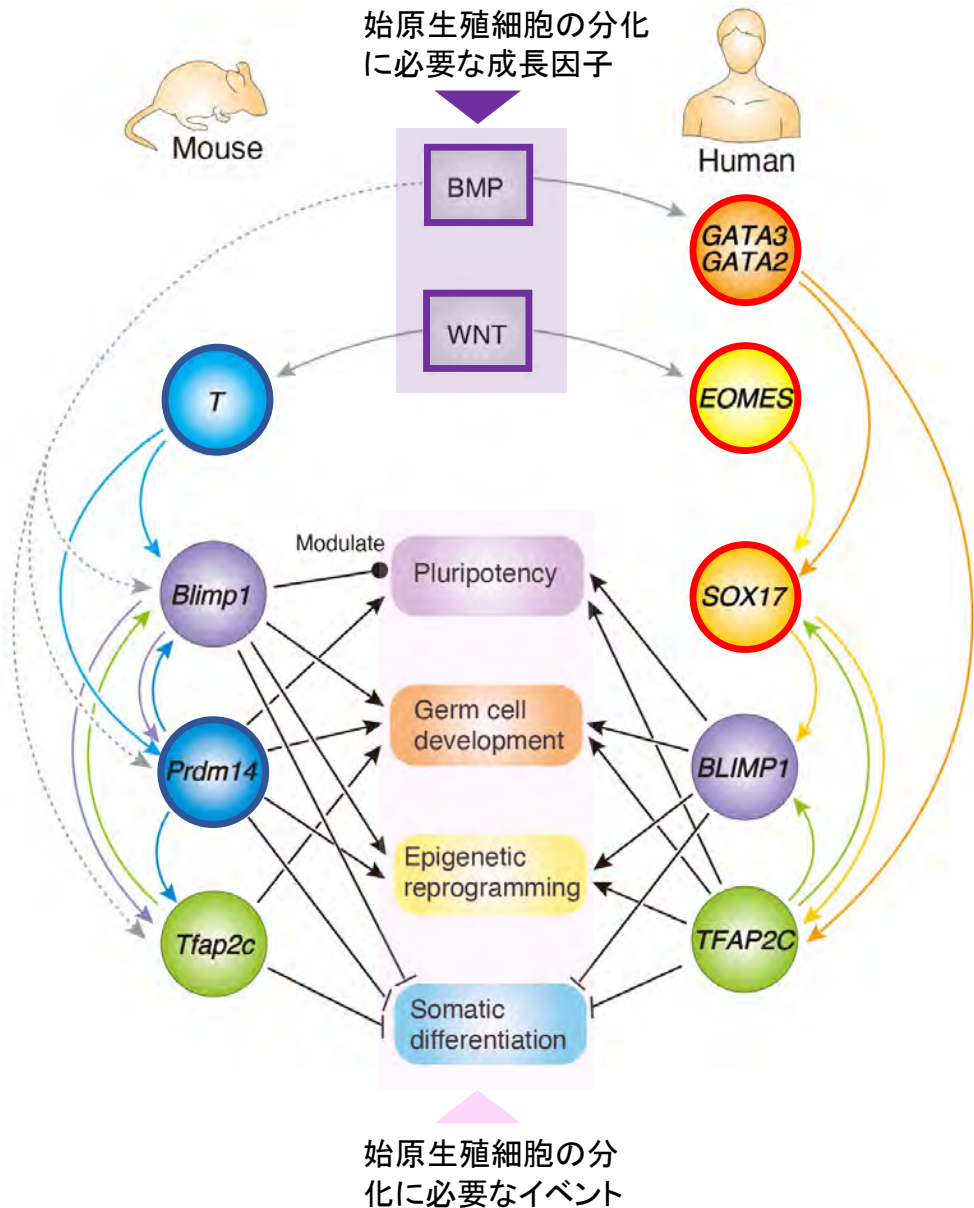


- ヒトES/iPS細胞からマウスと同じような培養条件でPGCLCsが簡便かつ高効率に誘導できる。
- ヒトPGCLCsの遺伝子発現は生体内のPGCsのものによく似ている。
- ヒトPGCLCsと生体内のPGCsではよく似たエピゲノムリプログラミングを起こしている。

ヒトの生殖細胞の分化を制御する遺伝子のスクリーニングには極めて有効

ゲノム編集技術によりヒトPGCs/PGCLCsの分化に必要な遺伝子が複数同定された。
SOX17、EOMES、PRDM1、GATA3など

始原生殖細胞の分化(ステップ1)の解析でわかったマウスとヒトの違い



マウスとヒトの共通点

- PGCLCsを誘導する成長因子
→ BMP4, WNT3/3A
- 始原生殖細胞の分化に必須な一部の転写因子
→ PRDM1/BLIMP1、TFAP2C
- 体細胞プログラムの抑制
- ゲノムワイドリプログラミングの特徴

マウスとヒトの相違点

- 成長因子の直下で機能する転写因子
→ EOMES(ヒト)、T(マウス)
→ GATA2、GATA3(ヒト)
- 始原生殖細胞の分化に必須な一部の転写因子
→ SOX17(ヒト)、SOX2(マウス)
- PGCLCsの増殖能
→ ヒトではほぼ無限に増える？

ヒトES/iPS細胞を用いた配偶子形成(ステップ2)はいまのところできない。

ステップ1 ステップ2

マウス

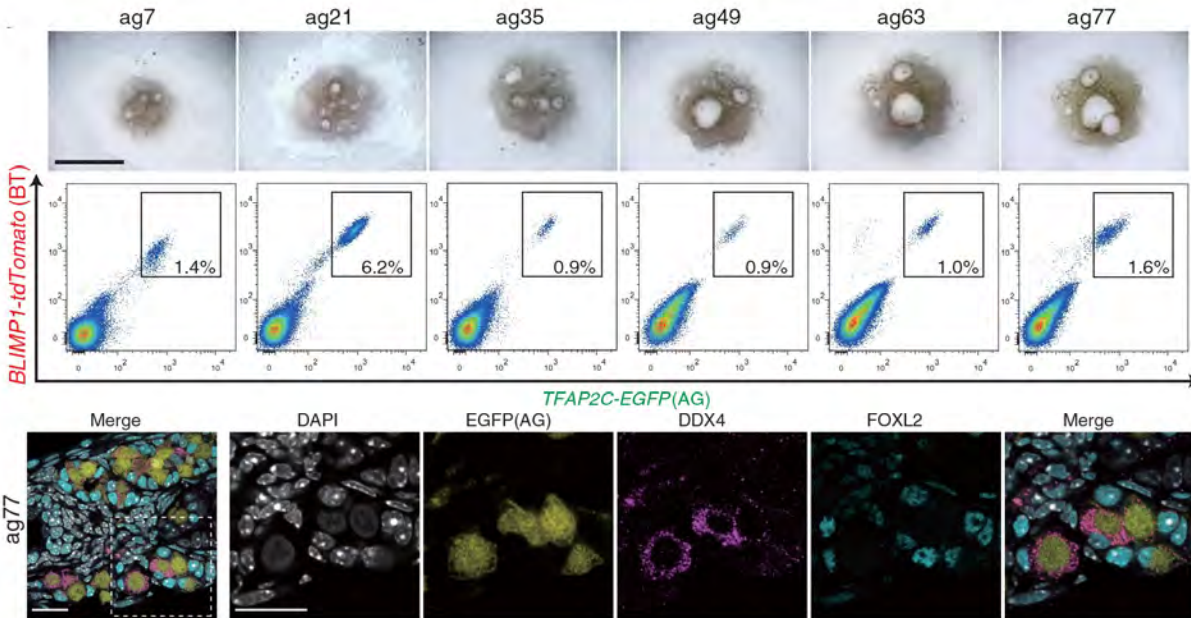


ヒト



ヒトPGCLCsから配偶子を分化させた成功例はない。

ヒトPGCLCsとマウスの卵巣の体細胞を用いた
異種間混合卵巣オルガノイドの結果



Yamashiro et al. (2018) *Science*

培養約12週間後に卵原細胞ができた。

ヒトのステップ2の技術的な問題点と解決策

- ① 胎児の卵巣・精巣の体細胞の調達が困難
- ② 長時間の培養時間が必要
卵母細胞の成熟期間: マウス3週、ヒト4-6ヶ月
- ③ 培養液の組成がマウスのもとは異なる。

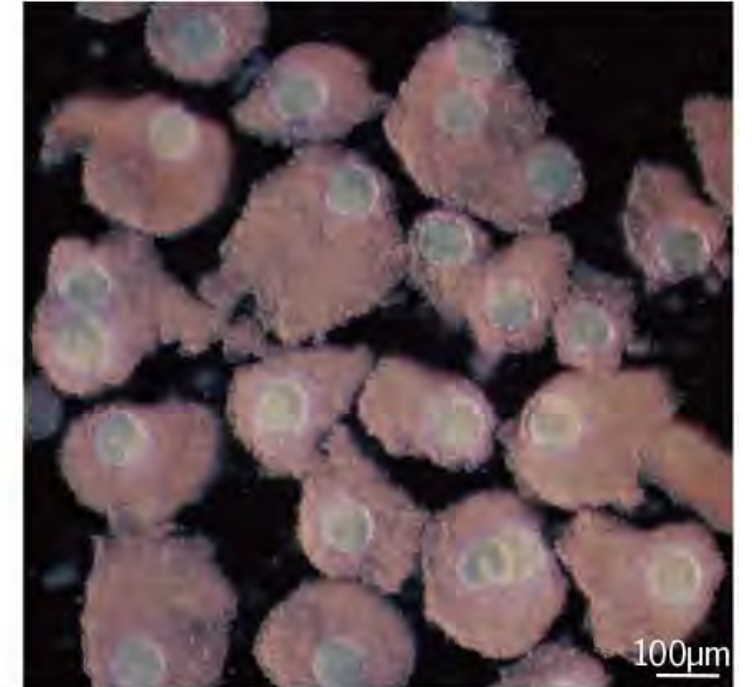
→ 解決策

- ① ヒトES/iPS細胞から胎児の卵巣・精巣の体細胞と同等の細胞を分化誘導する。
- ② } ヒトの未成熟卵胞などの材料を用いて条件検討を行う。
- ③ }

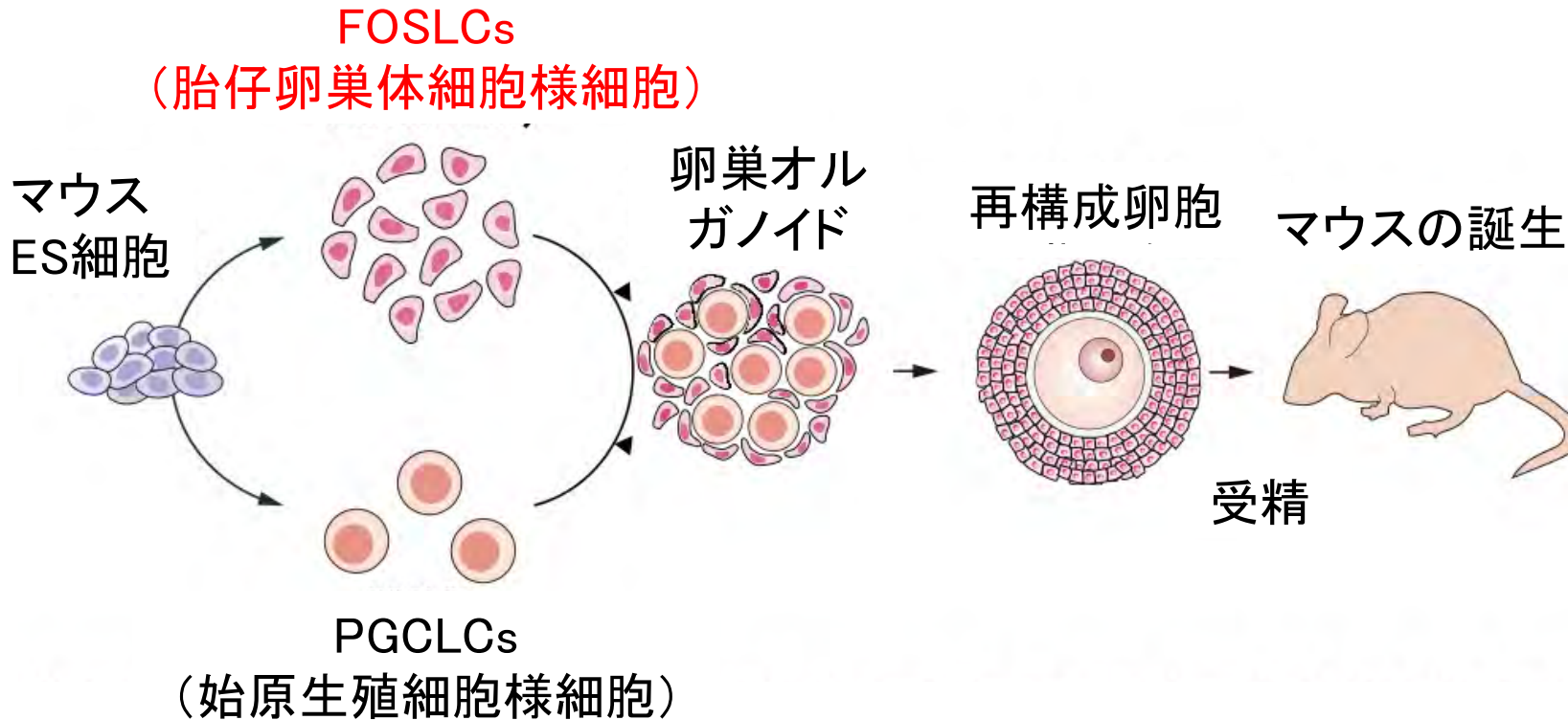
胎仔卵巣体細胞はマウスES/iPS細胞から分化誘導できる。

- ✓ 機能的な胎仔卵巣体細胞の分化誘導
- ✓ 性分化過程を含めた分化過程の再現

再構成卵胞



Yoshino et al. (2021) *Science*



概念実証(マウス): 生体組織を必要としない卵子産生系を構築できる