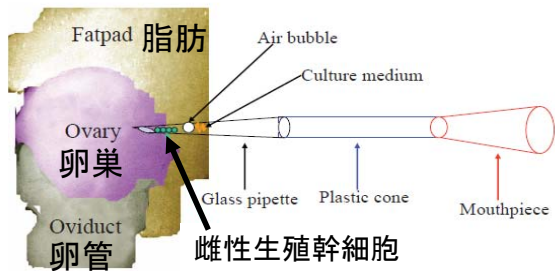


# 雌性生殖細胞の同所性移植

## 卵巣内移植技術



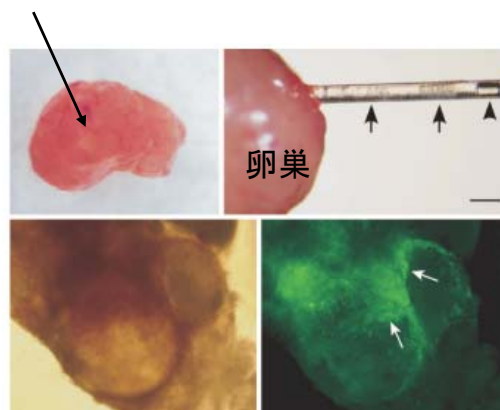
Zou et al., 2009 の方法

雌性生殖幹細胞の移植  
(再現されていない)

単離した始原生殖細胞あるいは  
卵子の移植は成功していない

→ 新鮮生殖巣由来の体細胞との移植  
で成功 Hayashi et al 2012(斎藤先生)

体外にいったん取り出した卵巣



Honda et al., 2007 の方法  
莢膜幹細胞の移植

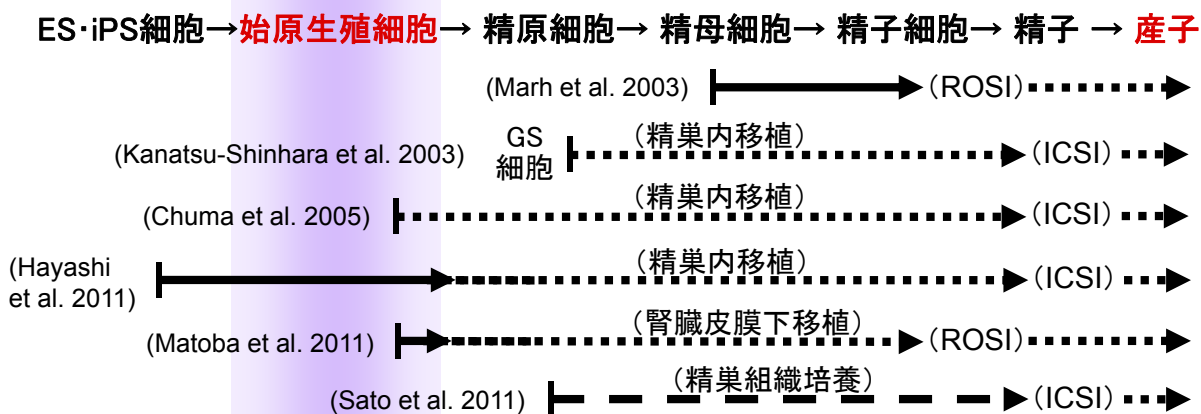
※生殖巣体細胞との移植で  
あれば、異所性移植も可能

Matoba et al 2012  
腎皮膜下移植

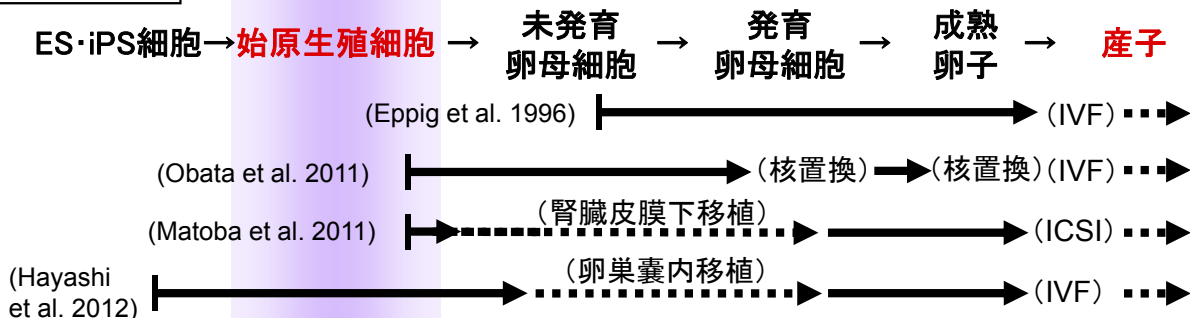


## 雄性生殖細胞

### 生殖細胞作出の現状のまとめ(マウスで再現可能な実験)



## 雌性生殖細胞



## ヒトES・iPS細胞からの生殖細胞作成に予想される困難 (始原生殖細胞(様細胞)以降について)

1. 現在、始原生殖細胞を起点とした体外での減数分裂は極めて困難(実験動物でも開発されていない)
2. 代替として、体内へ移植する場合、ヒト体内の利用はできない。
3. 異種へのヒト生殖細胞の移植は、禁止されていない。しかし、生殖細胞に接する体細胞(生殖巣の細胞)は、ヒト(あるいはヒトの近縁種?)から採取する必要がある。また、免疫学的拒絶を防ぐ必要がある(1-2ヶ月間?)。

15

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

16

## ES (iPS)細胞由来生殖細胞を用いたヒト胚の作出の目的

### 1. 生殖細胞の正常性の確認

### 2. ヒト受精および胚発生の研究

作出された生殖細胞が正常であることが前提

### 3. クローン胚の作出(代替卵子)

卵子の質が一定以上あることが前提

動物における生殖細胞作出の現状を考えると、現段階の目的として挙げにくい。

17

## 胚を正常に発生させるための生殖細胞の条件

### ・ 減数分裂

二倍体胚が形成されるために必要

### ・ 形態・機能分化(精子と卵子で異なる)

精子: 顕微授精技術を用いる限り、減数分裂終了後の分化は必須でない  
(減数分裂直後の円形精子細胞からも産子作出可能)

卵子: 胚発生を支える卵細胞質の成熟と増大が必要

### ・ ゲノム刷込み(生殖細胞の発生過程に雌雄別に刷込まれるマーク付け)

主に着床後の胚と胎盤の発生に必要な

### ・ ゲノム初期化(全能性獲得能):

正常な胚性遺伝子発現に必要な

18

## その正常性を確認する方法は？

### ・ 減数分裂：染色体像の確認

第一減数分裂: 相同染色体の対合(synapsis, pairing)と再分離

第二減数分裂: 半数体染色体の確認(マウス 20本、ヒト23本)

### ・ 形態・機能分化：精子と卵子で異なる

精子: 顕微授精技術を用いる限り、特に正常性を確認すべき項目はない。

卵子: まずは**直径が重要**(マウス 約70  $\mu\text{m}$ 、ヒト約140  $\mu\text{m}$ )。その条件が満たされないと、体外成熟と胚発生も困難(以下のゲノム刷込みおよびゲノム初期化と密接)。

### ・ ゲノム刷込み：DNAメチル化および刷込み遺伝子の解析

精子、卵子とも、直接の解析が可能(ただし一定以上の細胞数が必要)。

### ・ ゲノム初期化(全能性獲得能)：胚性遺伝子発現の確認

卵子は単為発生でほとんどの情報が得られる。精子は体内由来卵子と組み合わせた場合、精子由来の遺伝子発現の区別が必要。

胚作成を必須とする確認方法は少ない(単なる胚分割から得られる情報は少ない)

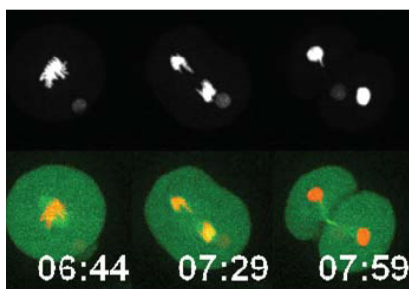
19

## 受精によって初めて得られる情報は何か (受精直後から胚盤胞まで)

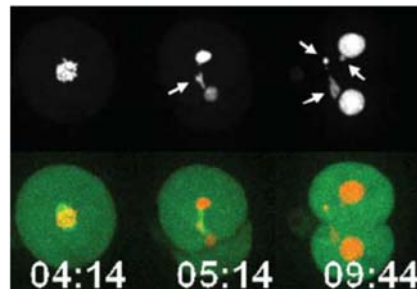
### 卵子由来因子と精子由来因子の相互作用

- 例:
- ・ 受精胚における体外精子由来ゲノムの胚性遺伝子発現やDNA合成
  - ・ 受精胚における雌雄両染色体の同調した動きと正常な姉妹染色体分離

### 第1分割の観察



正常な染色体分離



異常な染色体分離

胚分割そのものは進行するため、  
外見は正常

## まとめ

- 1) 体外で配偶子を作成する技術は、マウスで最も進んでいるが、雌雄生殖細胞とも、未だに減数分裂を完全に体外で進める技術は確立していない
- 2) マウスでは、同所あるいは異所的体内環境を利用することで、始原生殖細胞から完全な配偶子の作成に成功している。ヒトでは異種の環境を使う場合、同種(または近縁の)体細胞(支持細胞)が必要になると予想される。
- 3) 最終的にヒトからES・iPS細胞から配偶子を作成できた場合、遺伝的および機能的に正常性に関する検証が必要である。卵子および精子のみで検証できること、胚の作成および培養により検証できることを明確に区別しておく必要がある。