

国立研究開発法人 科学技術振興機構
戦略的創造研究推進事業
ERATO
追跡評価用資料

「齋藤全能性エピゲノム」プロジェクト
(2011 年度～2017 年度)

研究総括：齋藤 通紀

2024 年 3 月

目次

要旨	1
ERATO「斎藤全能性エピゲノム」プロジェクト まとめ図	3
第 1 章 プロジェクトの概要	4
1.1 研究期間	4
1.2 プロジェクト発足に至る科学技術や社会の背景	4
1.2.1 科学技術の背景	4
1.2.2 社会の背景	4
1.3 プロジェクトのねらい	5
1.4 研究体制	5
1.5 プロジェクト終了時点での研究成果やその意義	6
1.5.1 マウス生殖細胞解析グループ	6
1.5.2 サル生殖工学開発グループ	8
1.5.3 サル初期発生機構解析グループ	8
1.5.4 生殖エピゲノム解析グループ	10
1.5.5 ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループ	12
第 2 章 プロジェクト終了から現在に至る状況	14
2.1 プロジェクトの終了後の状況に関する基礎データ	14
2.1.1 調査方法	14
2.1.2 競争的研究資金の獲得状況	16
2.1.3 論文の発表状況	16
2.1.4 特許の出願・公開・登録状況	18
2.1.5 受賞状況	18
2.1.6 ベンチャー企業の設立状況	18
2.2 プロジェクト終了後の発展状況	19
2.2.1 ヒト iPS 細胞からの卵原細胞の作出に成功	19
2.2.2 生殖細胞が卵母細胞へと分化する仕組みを解明	20
2.2.3 ヒト始原生殖細胞様細胞の長期培養法の開発	21
2.2.4 雄性生殖細胞の全分化過程の試験管内再構成に成功	22
2.2.5 霊長類における X 染色体遺伝子量補正プログラムを解明	23
2.2.6 受精卵の「全能性」の基盤となるメカニズム（マウス生殖細胞発生過程のヌクレオームプログラミング）の解明	24
2.2.7 ヒト・サルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出することに成功	26
2.3 プロジェクト参加研究者の活動状況	26
2.4 第 2 章まとめ	27

第 3 章 プロジェクト成果の波及と展望.....	29
3.1 科学技術への波及と展望.....	29
3.1.1 学術的な新発見や発明による科学技術の波及.....	29
3.1.2 新規な理論や概念の提唱.....	30
3.1.3 新たな研究領域や研究の潮流の形成.....	30
3.2 社会経済への波及と展望.....	30
3.2.1 生殖医療への応用.....	31
3.2.2 絶滅危惧種の保護.....	32
3.2.3 ベンチャーの起業.....	32
3.3 第 3 章のまとめ.....	32

要旨

本資料は、戦略的創造研究推進事業の ERATO「斎藤全能性エピゲノム」プロジェクト(2011年10月～2018年3月、以後本プロジェクトと記載)において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)事業および事業運営の改善などに資するために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

生殖細胞(精子、卵子およびその前駆細胞)は、ヒトを含む多細胞生物の遺伝情報および後成遺伝学的(エピジェネティック)情報を次世代に継承し、またその多様性を形成する唯一の細胞系譜である。本プロジェクトは、マウスおよびよりヒトに近いモデル動物であるカニクイザルを用いて、生命の根幹である生殖細胞の発生機構の解明と、それに基づく生殖細胞発生過程の試験管内再構成系の開発を目的とした。目的達成のため、マウス生殖細胞解析グループ、サル生殖工学開発グループ、サル初期発生機構解析グループ、生殖エピゲノム解析グループ、ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループの5つのグループを構成し、それぞれ緊密な連携の下、研究を推進した。

第1章では本プロジェクトの概要と期間中の成果を記載した。マウス生殖細胞解析グループは、始原生殖細胞様細胞から誘導した卵子から健全な産仔を得ることに世界で初めて成功した。また、マウス多能性幹細胞から精原幹細胞を誘導する方法、性染色体異常不妊マウス由来人工多能性幹細胞(iPS細胞)から産仔を得る方法を確立した。さらに、マウス始原生殖細胞/マウス始原生殖細胞様細胞増殖法を開発し、雌性生殖細胞分化機構を解明した。サル生殖工学開発グループは、カニクイザルを室内特定病原体除去(SPF)環境で計画的に人工繁殖することに成功し、胚の安定供給体制を構築した。サル初期発生機構解析グループは、マウス・サル・ヒトにおける多能性スペクトラムの発生座標を解明、カニクイザル胚における生殖細胞系列の起源を追跡し、生殖系列形成機構を解明した。生殖エピゲノム解析グループは、マウス始原生殖細胞様細胞誘導過程におけるエピゲノム動態を解明し、マウス始原生殖細胞/マウス始原生殖細胞様細胞におけるエピゲノムプログラミングの本態を初めて明らかにした。ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループは、ヒト iPS 細胞からのヒト始原生殖細胞様細胞の誘導に成功し、ヒト生殖細胞の発生機構の解明とその試験管内再構成の端緒を築いた。

第2章では、本プロジェクト終了後から現在に至るまでの研究成果の発展についてまとめた。本プロジェクト終了後も、研究参加者らは科学研究費、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)、文部科学省等の研究費を獲得して研究を展開、発展させている。その結果、「ヒト iPS 細胞から卵原細胞の作出に成功」、「ヒト始原生殖細胞様細胞の長期培養法の開発」、「霊長類における X 染色体遺伝子量補正プログラムを解明」、「ヒト・サルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出することに成功」など多くの成果を上げている。

第3章では、科学技術的および社会経済的な観点から、本プロジェクトが与えた波及効果についてまとめた。斎藤通紀研究総括が研究を開始した当初は、研究の困難さとそれに

基づく展望の不確実さから、ごく一部の研究者のみが生殖細胞の形成・発生機構の研究を行っていたが、現在では、斎藤らの研究成果を基盤に、数多くのグループが生殖細胞の発生機構、生殖細胞の試験管内誘導の研究を推進している。また、生命の根幹である生殖細胞の発生機構の解明は社会的インパクトが高く、本プロジェクトの成果が国内外の多くのメディアに取り上げられることで、本分野の基礎科学としての魅力および重要性を社会に伝えることとなった。本プロジェクトがその端緒を築いた霊長類初期発生過程の遺伝学的・後成遺伝学的機構の解明、ヒト生殖細胞発生過程の試験管内再構成は、直接解析することが倫理的・技術的に不可能／非常に困難なヒトの発生機構、さらにはインプリント異常による病態、不妊、人工授精など生殖補助医療に伴う可能性のある様々な病態の発生機構解明に新たな視点を与えたことは間違いない。

戦略目標、達成目標	インプット	アクティビティ /アウトプット	アウトカム (short/mid-term)		アウトカム (long-term) /インパクト																																				
			～追跡調査時点	今後予想される展開	今後想定される波及効果																																				
<p>戦略目標 疾患の予防・診断・治療や再生医療の実現等に向けたエピゲノム比較による疾患解析や幹細胞の分化機構の解明等の基盤技術の創出</p> <p>達成目標 1. ヒトを中心とした動物のエピゲノム解析による、がん、糖尿病、動脈硬化等の疾患に関するエピゲノム変化の同定及び機構解明 2. ヒトを中心とした動物のエピゲノム解析による、幹細胞を目的の臓器細胞等に分化・誘導するための基盤技術の創出 3. 次世代シーケンサー等を利用したエピゲノムの効率的解読・解析法等の要素技術開発</p>	<p>研究総括 齋藤 通紀</p> <p>研究体制 研究グループ マウス生殖細胞解析Gリーダー 大田 浩 サル生殖工学開発Gリーダー 中村 紳一朗 サル初期発生機構解析Gリーダー 岡本 郁弘 生殖エピゲノム解析Gリーダー 栗本 一基 ヒト始原生殖細胞発生機構再構成Gリーダー 齋藤 通紀</p>	<p>論文</p> <table border="1"> <tr> <td>成果論文</td> <td>49 (23)</td> </tr> <tr> <td>発展論文</td> <td>26 (6)</td> </tr> <tr> <td>展開論文</td> <td>7 (1)</td> </tr> </table> <p>()はTop10%以内論文</p> <p>特許</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>期間中</th> <th>終了後</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>出願</td> <td>国内 5</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td></td> <td>海外 5</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>登録</td> <td>国内 4</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>海外 3</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table> <p>受賞</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>賞の名称</th> <th>受賞年</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>武田医学賞</td> <td>2016</td> </tr> <tr> <td>持田記念学術賞</td> <td>2018</td> </tr> <tr> <td>朝日賞</td> <td>2019</td> </tr> <tr> <td>上原賞</td> <td>2019</td> </tr> <tr> <td>恩賜賞・日本学士院賞</td> <td>2020</td> </tr> <tr> <td>The ISSCR Momentum Award 2020</td> <td>2020</td> </tr> <tr> <td>EMBO Associate Member</td> <td>2020</td> </tr> </tbody> </table>	成果論文	49 (23)	発展論文	26 (6)	展開論文	7 (1)		期間中	終了後	出願	国内 5	4		海外 5	3	登録	国内 4	1		海外 3	0	賞の名称	受賞年	武田医学賞	2016	持田記念学術賞	2018	朝日賞	2019	上原賞	2019	恩賜賞・日本学士院賞	2020	The ISSCR Momentum Award 2020	2020	EMBO Associate Member	2020	<p>研究成果</p> <ol style="list-style-type: none"> 多能性幹細胞から機能的な卵子を作製することに成功 ヒトiPS細胞からのヒト始原生殖細胞の誘導 ヒト、サル、マウスにおける多能性“発生座標”の解明 霊長類における精子・卵子の起源と形成機構の解明 マウス多能性幹細胞から精子幹細胞を試験管内で誘導 性染色体異常の不妊マウスから産仔の作製に成功 ヒト生殖細胞の運命決定機構を解明 ヒトiPS細胞からの卵原細胞の作出に成功 生殖細胞が卵母細胞へと分化する仕組みを解明 ヒト始原生殖細胞様細胞の長期培養法の開発 雄性生殖細胞の全分化過程の試験管内再構成に成功 霊長類におけるX染色体遺伝子量補正プログラムを解明 受精卵の「全能性」の基盤となるメカニズムを解明 ヒト・サルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出することに成功 <p>試験管内配偶子造成研究</p> <ul style="list-style-type: none"> 哺乳類の生殖細胞発生機構の解明 遺伝情報の継承 エピゲノム制御 細胞周期制御 全能性獲得機構 着床前/後胚培養法の技術開発 機能的なヒト配偶子の誘導 不妊症の原因究明 	<ul style="list-style-type: none"> 生殖細胞の全能性とその進化的多様性の包括的理解 世代を超えたエピゲノム情報継承メカニズムの解明 先天性染色体疾患の発症機序の解明 不妊症治療法の確立 絶滅危惧種の保護
成果論文	49 (23)																																								
発展論文	26 (6)																																								
展開論文	7 (1)																																								
	期間中	終了後																																							
出願	国内 5	4																																							
	海外 5	3																																							
登録	国内 4	1																																							
	海外 3	0																																							
賞の名称	受賞年																																								
武田医学賞	2016																																								
持田記念学術賞	2018																																								
朝日賞	2019																																								
上原賞	2019																																								
恩賜賞・日本学士院賞	2020																																								
The ISSCR Momentum Award 2020	2020																																								
EMBO Associate Member	2020																																								
			<p>研究の展開</p> <p>日本学術振興会：科研費 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」(2017~2021)、 「試験管内再構成系に基づくヒト卵母細胞発生機構の解明とその応用」(2022~2026) AMED：ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム (HFSP) 「Mechanisms of chromatin reprogramming to totipotency」(2018~2020) 文部科学省：世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI研究拠点) 「ヒト生物学高等研究拠点」(2018~2027) 米国：Open Philanthropy Project 「An Integrative Investigation for the Induction of Oocytes from Human and Primate Pluripotent Stem Cells」(2019~2023)</p> <p>ベンチャー企業 「絶滅危惧種の保護、再生医療および不妊治療」を目指す株式会社ほうじょうを設立</p>																																						

第 1 章 プロジェクトの概要

本調査の対象である ERATO「斎藤全能性エピゲノム」プロジェクト（以後、本プロジェクトと記載）の概要を下記に示す。

1.1 研究期間

研究期間は 2011 年 10 月～2018 年 3 月。ただし、最後の 1 年（2017 年 4 月～2018 年 3 月）は特別重点期間として継続された。

1.2 プロジェクト発足に至る科学技術や社会の背景

1.2.1 科学技術の背景

個体を形成する能力を有する細胞は、精子と卵子の融合により形成される受精卵およびそれに由来する初期胚細胞のみである。全能性と呼ばれるこの顕著な能力は、精子と卵子の発生過程におけるそれらゲノム機能の遺伝学的・後成遺伝学的（エピジェネティック）制御により形成される。哺乳類において、精子および卵子の起源となる始原生殖細胞（Primordial Germ Cells: PGCs）¹は、発生初期に形成され、生殖原器に移動後、精子および卵子へと分化する。PGCs は、遺伝学的・後成遺伝学的情報を次世代に伝えるための重要な現象を遂行する。従って、PGCs の発生機構の解明は、生殖系列の全体的な理解、即ち種の発生、遺伝および生殖の理解に、極めて重要である。

1.2.2 社会の背景

先進国では新生児の 50 人に 1 人が人工授精により生まれていることが知られており（2011 年の本プロジェクト提案時点）、この割合は今後さらに増える可能性がある²。しかし一方で、人工授精により生まれた場合、インプリント異常や試験管内培養の過程で生じ得るエピジェネティックな異常に起因する病態に影響される確率が、通常の過程で生まれる場合よりも高くなるという報告もあり、慎重な研究を行う必要性が議論されている³。しかし、マウス以外の哺乳類における、着床前／後胚および始原生殖細胞発生過程の遺伝学的・後成遺伝学的機構に関する系統だった研究は、これまで行われてこなかった。また、マウスが哺乳類の初期発生および幹細胞生物学における適切なモデルとは限らないという証拠が増えつつある。霊長類の初期発生過程・生殖細胞形成過程における遺伝学的・後成遺伝学的機構の解明は急務であった。

¹ すべての精子および卵子の起源となる細胞。マウスの場合は胚齢 6.5 日前後にエピブラストの一部の細胞が運命決定を受けて生じる。霊長類においては、初期の羊膜内に誘導されることが示唆されている。

² Cell Stem Cell. 2011, 8(1):12-5. doi: 10.1016/j.stem.2010.12.015

³ Science. 2002, 296(5576):2188-90. doi: 10.1126/science.1071741

1.3 プロジェクトのねらい

本プロジェクトは、マウスおよびよりヒトに近いモデル動物であるカンクイザルを用いて、生命の根幹である生殖細胞の発生機構の解明と、それに基づく生殖細胞発生過程の試験管内再構成系の開発を目的とした。得られる成果は、遺伝情報・エピゲノム情報の健常および病的状態における継承機構・制御機構に関する基盤情報を形成し、新しい幹細胞・生殖工学の開発、さらには不妊や遺伝病発症の原因解明やその治療法開発につながると期待される。

1.4 研究体制

各研究グループの研究体制について一覧表で示す。

- (1) マウス生殖細胞解析グループ
- (2) サル生殖工学開発グループ
- (3) サル初期発生機構解析グループ
- (4) 生殖エピゲノム解析グループ
- (5) ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループ

表 1-1 研究グループと人員および実施場所 (2018年3月時点)

グループ名	マウス生殖細胞解析グループ	サル生殖工学開発グループ	サル初期発生機構解析グループ	生殖エピゲノム解析グループ
実施場所	京都大学	滋賀医科大学	京都大学	京都大学
リーダー	大田 浩	中村 紳一朗	岡本 郁弘	栗本 一基
研究員	2名	3名	2名	1名
技術員	1名	0名	1名	0名
研究補助員	3名	1名	1名	1名
リサーチアシスタント	0名	0名	0名	0名
研究協力員	0名	0名	1名	1名
計	7名	5名	6名	4名
総計				

グループ名	ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループ	ヘッドクォーター
実施場所	京都大学	研究総括補佐 大田 浩 (兼任) 研究推進主任 なし 研究推進員 丹羽 薫 川崎 まりえ
リーダー	斎藤 通紀	
研究員	2名	
技術員	0名	
研究補助員	2名	
リサーチアシスタント	0名	
研究協力員	2名	
計	7名	3名
総計	31名	

1.5 プロジェクト終了時点での研究成果やその意義

1.5.1 マウス生殖細胞解析グループ

(1) 始原生殖細胞様細胞から誘導した卵子から健全な産仔を得ることに成功⁴

メスマウスの胚性幹細胞 (mouse embryonic stem cells: mESCs) および人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPSCs) ⁵からエピプラスト様細胞 (EpiLCs) ⁶、始原生殖細胞様細胞 (mPGCLCs) ⁷を誘導し、誘導した mPGCLCs を、メス胎児卵巣体細胞と *in vitro* で凝集させることで、再構成卵巣を作製することに成功した。再構成卵巣内で mPGCLCs は、後期 PGC マーカーの発現を上昇し、インプリントの消去、X 染色体の再活性化、減数分裂への移行を示した。再構成卵巣を、免疫能の低いヌードマウス卵巣内に移植すると、移植再構成卵巣内で、mPGCLCs は卵母細胞へと分化した。mPGCLC 由来卵母細胞を単離し、*in vitro* で成熟、受精させ、得られた 2 細胞胚を仮親に移植すると、mPGCLC 由来卵母細胞に由来する胚から健全な産仔が得られた (図 1-1)。この研究成果は、mESCs/iPSCs に由来する卵母細胞から健全な産仔を得た世界で初めての研究成果で、Science 誌の 2012 年の 10 大 Breakthrough の一つに選ばれた (京都大学プレスリリース⁸)。

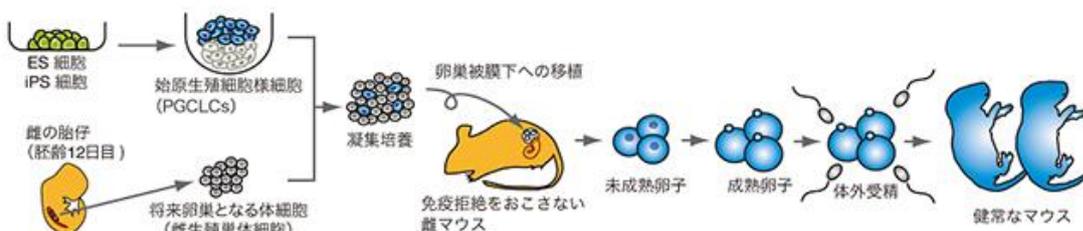


図 1-1 ES/iPS 細胞から卵子を作製するための実験手順

ES/iPS 細胞から分化させた PGCLCs を将来卵巣となる体細胞 (雌生殖巣体細胞) と凝集培養を行い、細胞の凝集塊を免疫拒絶のない雌マウスの卵巣被膜下に移植した。約 4 週間後の移植片から未成熟卵子を取り出し、体外培養により受精可能な成熟卵子まで分化させ、体外受精を行った。得られた受精卵を雌のマウスの卵管に移植することにより健全な個体を得ることに成功した。

(2) マウス多能性幹細胞から精子幹細胞を試験管内で誘導⁹

⁴ Science. 2012, 338(6109), 971-975, doi: 10.1126/science.1226889

⁵ 体細胞に特定の遺伝子 (OCT4、SOX2、cMYC、KLF4 など) を導入することにより作製され、自己複製能力と身体を構成するほとんどの細胞への分化能を併せ持つ。

⁶ エピプラスト (胚体外胚葉) は胚盤胞の内部細胞塊に由来する多能性上皮細胞であり、すべての体細胞や羊膜の源となる。マウスにおいて、生殖細胞は近位胚体外胚葉より直接的に分化する。

⁷ 多能性幹細胞から試験管内で分化誘導した、始原生殖細胞に非常によく似た性質をもつ細胞を指す。

⁸ https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/archive/prev/news_data/h/h1/news6/2012/121005_2

⁹ Cell Rep. 2016, 17(10), 2789-2804. doi: 10.1016/j.celrep.2016.11.026

マウス PGCLCs を胎児精巣体細胞と凝集培養（再構成精巣）して PGCLCs から精原幹細胞様細胞を誘導し、それらを培養することで、長期培養細胞株生殖幹細胞様細胞（Germline stem cell-like cells: GSCLCs）を樹立することに成功した。GSCLCs は PGCLCs と異なり、成体精巣に移植することで精子まで分化し、得られた精子と卵子を顕微授精させると健全な産仔が得られた。一方、GSCLCs には、エピゲノムリプログラミング・雄性エピゲノム付与過程の異常に起因する DNA メチル化異常が存在し、そのため生体由来の GS 細胞と比較して精子形成効率が下がることが明らかになった。詳細な解析の結果、試験管内で精子幹細胞へと分化させる過程で付与された過剰なメチル化が、精子分化に必要な遺伝子の発現を妨げるために、精子分化の効率が低くなることが示唆された（図 1-2）。マウス多能性幹細胞から、精子形成能を有する精原幹細胞を誘導することに初めて成功し、その過程における DNA メチル化リプログラミングの重要性を明らかにした顕著な成果である（JST プレスリリース¹⁰）。

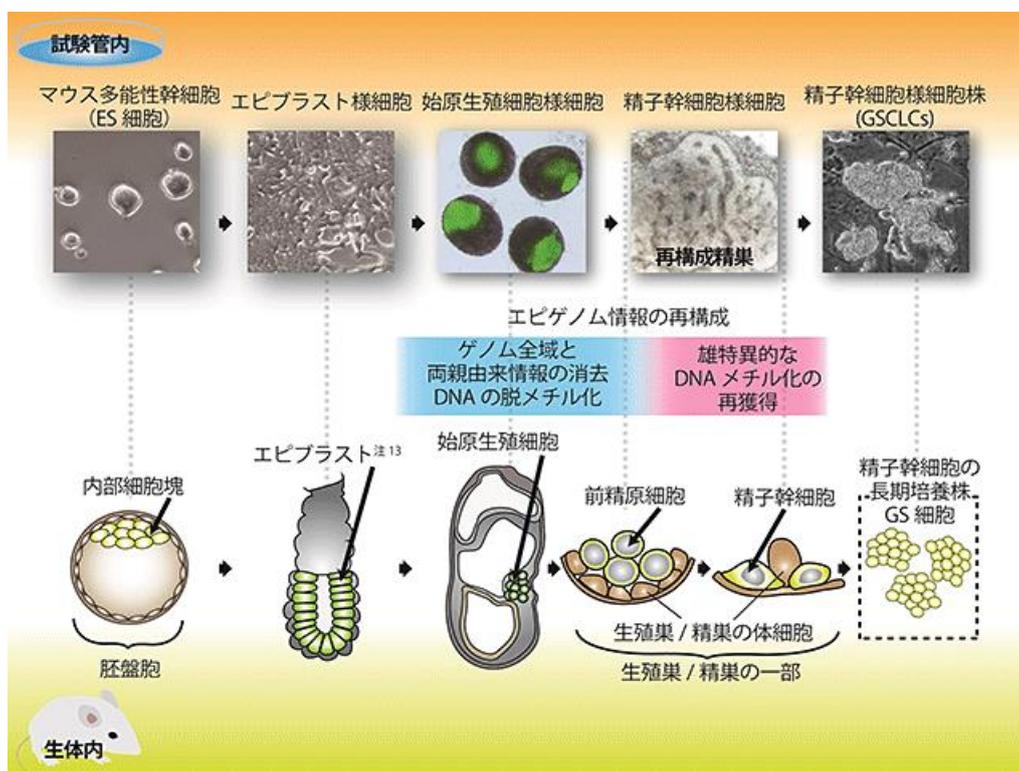


図 1-2 マウス多能性幹細胞（ES 細胞）から精子幹細胞様細胞株（GSCLCs）を試験管内で誘導する概略図
 上部：試験管内にて、マウス多能性幹細胞（ES 細胞）から誘導した始原生殖細胞様細胞（緑色）と、オスの胎仔の生殖巣体細胞から作った再構成精巣の中で、始原生殖細胞様細胞は精子幹細胞様細胞へと分化した。そこから長期培養株である GSCLCs を樹立した。その過程で、エピゲノム情報の再構成を試験管内にて一部再現した。

下部：生体内でのオスの生殖細胞分化過程を、試験管内での分化と対応させた。受精卵は発生が進むと胚盤胞となり、内部細胞塊ができる。そこから、エピプラストを経て、始原生殖細胞が出現する。その後、始原生殖細胞はオスの生殖巣体細胞に囲まれ、前精原細胞を経て、精原細胞や精子幹細胞へと分化する。精子幹細胞を長期培養すると、GS 細胞となる。

¹⁰ <https://www.jst.go.jp/pr/announce/20161207/index.html>

1.5.2 サル生殖工学開発グループ

ヒトの着床前／後胚発生および生殖細胞形成の遺伝学的・後成遺伝学的機構は解明されておらず、また実験に供するには倫理的側面による限界がある。そこで、ヒトにより近い霊長類を用いて、その生殖細胞発生機構の解明と試験管内再構成を行う必要があった。本グループではこうした研究に必要となるカニクイザル卵と胚を安定して供給するための生殖工学基盤技術を確立した。

(1) 胚の安定供給体制の構築

体外培養によるカニクイザル顕微授精胚、1細胞期から胚盤胞期までの各ステージ胚を提供するため、実験動物個体情報管理システムを構築し、運用した。また、ホルモン投与スケジュール、採卵法、採精法、顕微授精法、体外培養法を確立し、安定的かつ長期的に着床前／後胚の作出および供給を可能にした。

(2) 早期妊娠診断法の開発

本プロジェクトでは、通常の妊娠診断では判断できない着床初期である胎生 30 日 (E. 30) 以前の胚を摘出することが必須である。超音波診断で検出できなければ、着床の有無に関わらず移植したすべてのレシピエント個体の子宮を摘出しなければならず、相当数のレシピエント個体が必要となる。そこで、超音波診断によって早期の妊娠診断を行うこととし、胎嚢 (gestational sac: GS) の検出率を検討した結果、E. 15～E. 22 では 75.0～100%、E. 11～E. 14 では 50.0～91.7%で検出可能であった。

(3) 移植胚の着床率の向上

カニクイザルは 1 産 1 子であるため、適正な移植胚数は 1 個であるが、より効率的に着床後胚を得るため、移植胚数と着床率の検討を行った。その結果、レシピエント 1 頭あたり 7～9 個が望ましいことが明らかになった。

1.5.3 サル初期発生機構解析グループ

(1) 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の解明¹¹

マウス ES 細胞は、着床前胚から樹立され広い分化能を持つナイーブ型¹²を示すことが知られている。しかし、ヒトを含む霊長類の ES 細胞は、着床前胚から樹立されるにも関わら

¹¹ Nature. 2016, 537(7618), 57-62. doi: 10.1038/nature19096

¹² ナイーブ型の多能性とは、現在のところ、げっ歯類 (マウス、ラット) の ES 細胞や iPS 細胞でのみ報告されている多能性で、三胚葉 [内胚葉 (消化管など)、中胚葉 (血液、筋肉、骨、腎臓など)、外胚葉 (神経、表皮など)] 系統に分化する能力に加え、生殖細胞分化能も持つ多能性のこと。

ず、着床後胚由来のマウスエピプラスト幹細胞 (EpiSCs) に似た形態や挙動を示すことから、プライム型多能性¹³に限定される可能性が示されていた。近年 iPS 細胞の開発もあり、多能性幹細胞の医療や創薬への応用が強く期待されているが、霊長類 ES/iPS 細胞の多能性状態の実態は、技術的および倫理的観点から霊長類着床後胚の知見が存在せず、未解明のままであった。単一細胞遺伝子発現解析法を用いて、カニクイザル着床前/後胚の全遺伝子発現解析を行った結果、霊長類では、原腸陥入を起こしながらも安定して多能性状態を維持することが判明した。また、これらのデータを用いて、サル発生過程に伴う多能性状態の変化を特徴づける遺伝子セットを同定した。この遺伝子セットの発現を調べることで、ヒト iPS 細胞は着床後約 1 週間程度のサルの多能性細胞と同等であること、さらに原腸陥入前のマウス胚と相同な状態であることが明らかとなり、ヒト、サル、マウス三種における多能性細胞の発生座標上での位置関係が明確になった (図 1-3)。また、この遺伝子セットは、これまでナイーブ型として報告されてきたヒト ES/iPS 細胞の実態を診断するのに有用であることが分かった。この研究は、霊長類多能性状態の包括的な分子動態を明らかにするもので、今後の霊長類発生学や多能性幹細胞を用いた医療において、多くの研究の基盤となる知見であると期待される (JST プレスリリース¹⁴)。

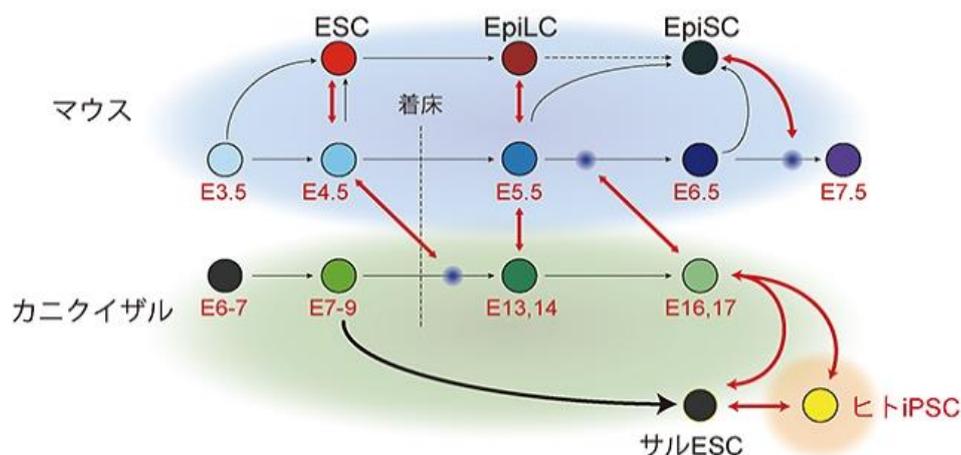


図 1-3 ヒト、カニクイザル、マウスにおける多能性の発生座標モデル図

ヒト、サル、マウスどれにおいても ES 細胞は着床前胚から樹立される。しかし、ヒト iPS 細胞、サル ES 細胞の多能性状態は、サル 16、17 日齢胚のエピプラスト (E16、17) に酷似していた。また、サル 16、17 日齢胚のエピプラストはマウス原腸陥入前 5.5 日齢 (E5.5) 付近のエピプラスト、または、ナイーブ型のマウス ES 細胞とプライム型のエピプラスト幹細胞 (EpiSC) の中間であるエピプラスト様細胞 (EpiLC) に最も近かった。これらの結果より、霊長類の ES/iPS 細胞がマウスプライム型多能性幹細胞より広範な分化能を持つ可能性が示されるとともに、初めて霊長類多能性幹細胞の実態が明らかとなった。

¹³ プライム型の多能性とは、EpiSCs に代表される細胞の持つ多能性で、三胚葉系統に分化する能力は持つが、生殖細胞分化能は低い、もしくは無いとされる。

¹⁴ <https://www.jst.go.jp/pr/announce/20160825/>

(2) カニクイザル生殖系列形成機構の解明¹⁵

これまでマウスを用いた研究で、哺乳類の生殖細胞はエピプラストから誘導されることが知られてきた。この過程は哺乳類で共通と考えられてきたが、哺乳類の初期発生機構には多様な部分もあり、霊長類で実際にどのように生殖細胞が形成されるかは不明であった。カニクイザルを霊長類のモデルとして用いて生殖細胞の形成機構を解析した結果、驚くべきことに、カニクイザルでは、生殖細胞はエピプラストではなく、初期の羊膜から誘導されることが判明した。また、ヒト iPS 細胞から誘導したヒト PGCLCs は、カニクイザルの初期 PGCLCs と類似することが明らかとなった (図 1-4)。ヒトとカニクイザルではその初期発生機構が非常に良く似ていることから、ヒトでも生殖細胞は初期の羊膜から誘導されることが示唆される。この結果は、霊長類における生殖細胞の形成機構を初めて明らかにすると同時に、ヒト多能性幹細胞から生殖細胞を誘導する研究の発展に重要な知見をもたらす研究である (JST プレスリリース¹⁶)。

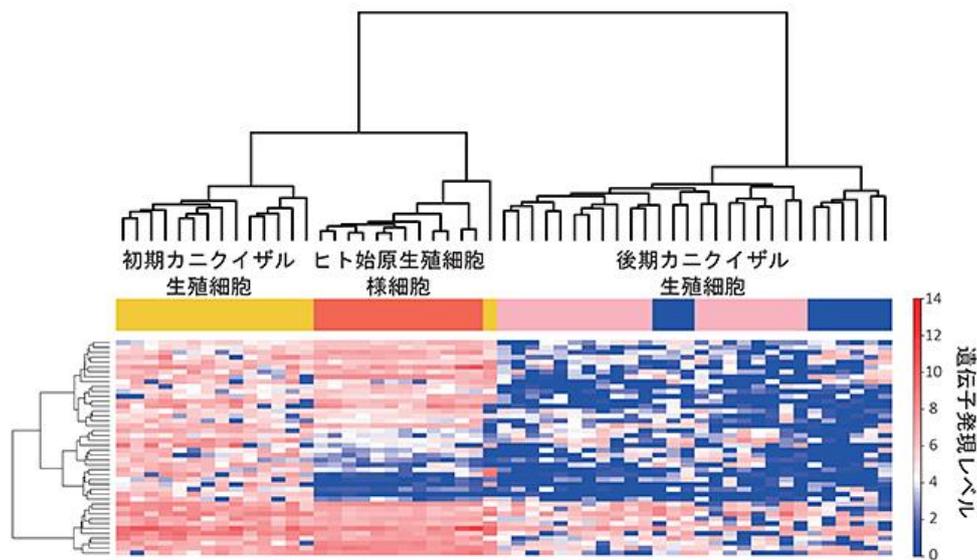


図 1-4 カニクイザルの初期 (胎齢 13~20 日胚由来) および後期 (胎齢 36~55 日の胎児生殖巣由来) 生殖細胞とヒト始原生殖細胞様細胞の遺伝子発現の比較
試験管内でヒト iPS 細胞から誘導したヒト始原生殖細胞様細胞はカニクイザルにおける初期の生殖細胞に近い遺伝子発現パターンを有している。

1.5.4 生殖エピゲノム解析グループ

¹⁵ Dev Cell. 2016, 39(2), 169-185. doi: 10.1016/j.devcel.2016.09.007

¹⁶ <https://www.jst.go.jp/pr/announce/20161007/index.html>

(1) 始原生殖細胞 (PGCs) におけるクロマチン動態の解明¹⁷

PGCs は、多能性の基盤転写因子群を発現し、潜在的に多能性を再獲得・保持する。一方、PGCs はエピゲノムリプログラミングによって、ゲノムの後成遺伝学的情報を一旦初期化し、次世代個体の全発生に備えると考えられている。最近の研究から、リプログラミング過程にある生殖細胞のエピゲノムが、ナイーブな多能性とは相当に異なることが明らかになり、生殖細胞の潜在的な多能性の転写制御基盤も、多能性幹細胞とは異なることが示唆された¹⁸。マウス生殖細胞決定過程で調製可能な細胞数は、胚体内においては一胚あたり 40~200 個程度、mPGCLCs 誘導系を用いても 96 穴プレートあたり $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 個程度が限界であり、転写因子の結合部位を ChIP-seq 法で同定するために十分な細胞数を得ることは技術的に困難であった。生殖エピゲノム解析グループは、微量 ChIP-ed DNA からのライブラリー作製・増幅法を確立し、微量試料からの転写因子 ChIP-seq 法を開発した。マウス生殖細胞決定過程におけるヒストン修飾¹⁹および転写因子群結合部位の解析を行った結果、mPGCLCs 誘導過程

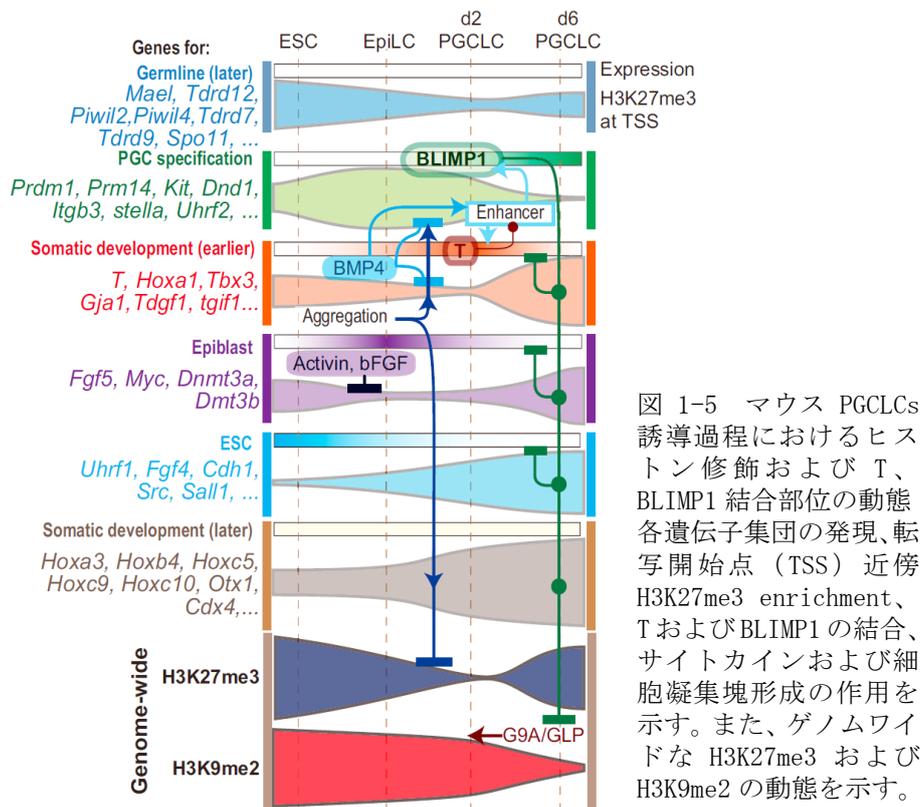


図 1-5 マウス PGCLCs 誘導過程におけるヒストン修飾および T、BLIMP1 結合部位の動態。各遺伝子集団の発現、転写開始点 (TSS) 近傍 H3K27me3 enrichment、T および BLIMP1 の結合、サイトカインおよび細胞凝集塊形成の作用を示す。また、ゲノムワイドな H3K27me3 および H3K9me2 の動態を示す。

¹⁷ Cell Stem Cell. 2015, 16(5), 517-32. doi: 10.1016/j.stem.2015.03.002

¹⁸ <http://reprod-epigenome.biken.osaka-u.ac.jp/researches/>

¹⁹ クロマチン構成タンパク質であるヒストンの N 末端領域に認められるアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などの化学修飾は、染色体の高次構造を変化させ、ダイナミックに転写を制御し、発生、分化、細胞運命の維持において重要な役割を担っている。一般的に、ヒストンアセチル化は転写活性化に働くが、ヒストンメチル化の意義は標的アミノ酸残基の種類とヒストンテイルにおける位置により異なる。これらのヒストン修飾は、ヒストン修飾を付加または除去する酵素群により動的に制御されている。転写活性化に働くヒストン H3 のリジン 4 トリメチル化 (H3K4me3) 活性を有するトライソラックス群 (TrxG) および転写抑制に働くヒストン H3 のリジン 27 トリメチル化 (H3K27me3) 活性を有するポリコーム群 (PcG)

におけるヒストン H3 のエピゲノム動態 (H3K4me3、H3K27ac、H3K27me3、H3K9me2 の動態、BLIMP1 および T の結合部位) を解明し、mPGC(LC)s におけるエピゲノムプログラミングの本態を初めて明らかにした²⁰ (図 1-5)。生殖エピゲノム動態解明の基盤となる成果と考えられる。

1.5.5 ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループ

(1) ヒト iPSCs からのヒト始原生殖細胞様細胞の誘導²¹

ヒト iPSC 細胞はプライム型の多能性を有し、生殖細胞への誘導は難しいと考えられてきたが、ヒト iPSC 細胞を特定のサイトカイン等で処理することにより、初期中胚葉様細胞 (incipient mesoderm-like cells:iMeLCs) に誘導し、さらにそれらをマウス PGCs の誘導と同様の方法で、ヒトやカニクイザルの PGCs とよく似た遺伝子発現を示すヒト始原生殖細胞様細胞 (hPGCLCs) に高効率で誘導することに成功した。また、hPGCLCs の誘導には BLIMP1 が必須な役割を果たすこと、hPGCLCs の誘導機構は mPGCLCs の誘導機構と異なる多くの点を有することも証明した (図 1-6)。この成果により、ヒト生殖細胞発生メカニズム解明の基盤が形成され、ヒト生殖細胞の発生機構の解明が大きく前進すると期待される (JST プレスリリース²²)。

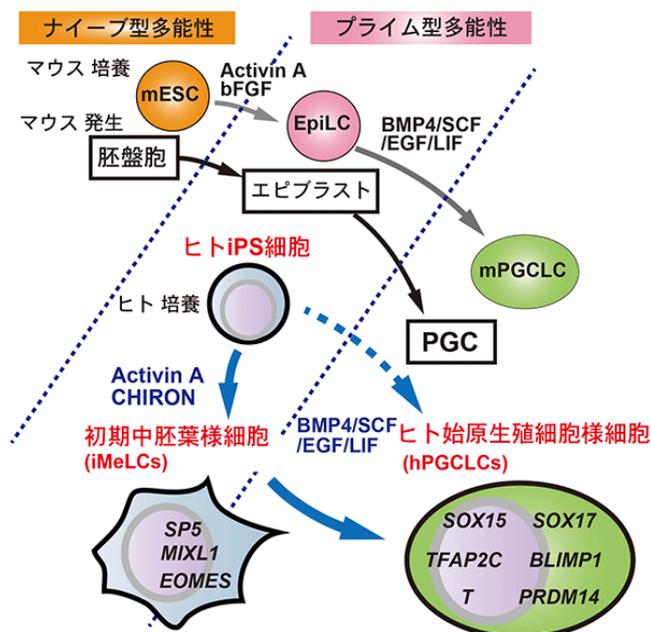


図 1-6 ヒト始原生殖細胞様細胞の誘導モデル
ヒト iPSC 細胞から始原生殖細胞様細胞 (PGCLCs) を直接誘導することは困難だったが、初期中胚葉様細胞 (iMeLCs) を経ることでヒトの始原生殖細胞様細胞を誘導できることを示した。

は、それぞれヒストン修飾を担う複合体を形成している。ES 細胞では、分化制御遺伝子のプロモーター領域に、H3K27me3 (転写抑制) と H3K4me3 (転写活性化) が共存する “bivalent domain” が形成されており、このバランスにより分化制御遺伝子の発現が制御され、ES 細胞の分化状態が規定されている。(参考: 実験医学バイオキーワード集: <https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/keyword/>)

²⁰ ERATO 「斎藤全能性エピゲノムプロジェクト」 研究終了報告書

²¹ Cell Stem Cell. 2015, 17(2), 178-94. doi: 10.1016/j.stem.2015.06.014

²² <https://www.jst.go.jp/pr/announce/20150717/index.html>

(2) ヒト PGCLCs 誘導のシグナル・転写制御機構の解明²³

ヒトの生殖細胞への分化は着床後の受精後 2 週目頃に起こるため、生体を用いた研究は技術的にも倫理的観点からも困難であったが、ヒト iPS 細胞から PGCLCs へと分化する手法が開発され、ヒトでもこの時期の胚を使用せずに生殖細胞の初期の発生過程を再現できるようになった。本研究では、ヒト iPS 細胞に CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集を行い、生殖細胞の発生に関わる可能性のある遺伝子を欠失させたノックアウト iPS 細胞株を作製した。これらの細胞株を PGCLCs に分化させた際、遺伝子発現がどのように変動するかを追跡し、それぞれの遺伝子の機能を特定した。その結果、ヒトとマウスではPGCsの発生における必須の遺伝子が異なり、それぞれの機能や発現する順序も異なることが判明した。マウスで最も早く発現し、生殖細胞系列への運命決定に必須の *T* 遺伝子はヒトでは不要であり、一方、他の生物種では生殖細胞分化への関与が知られていない *EOMES* 遺伝子が重要な役割を担っていることが明らかとなった。また、マウスの生殖細胞分化に必須の *TFAP2C* と *BLIMP1* 遺伝子も、マウスとヒトとでは異なる働き方をしていることも見出した (図 1-7)。ヒトの生殖細胞発生の入口に相当する時期のメカニズムが明らかになったことで、これ以降の生殖細胞の発生・分化研究や、生殖細胞の形成異常による数多くの疾患発症に関する研究を進める基盤となる知見であると期待される (京都大学プレスリリース²⁴)。

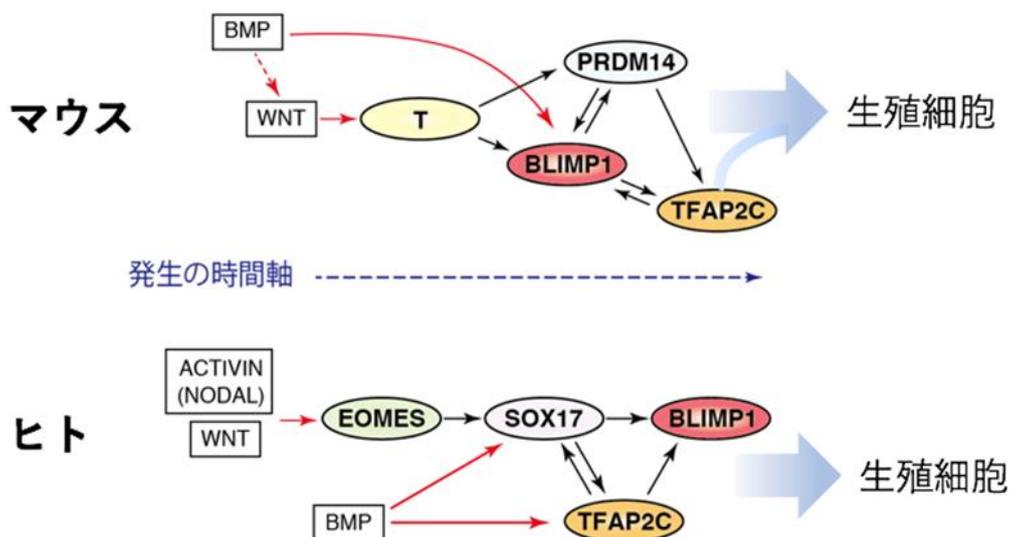


図 1-7 生殖細胞の運命決定機構のモデル図

マウスとヒトでは分化に必要な遺伝子や発現のタイミング、シグナル伝達異なる。

²³ Cell Stem Cell. 2017, 21(4), 517-532. e5. doi: 10.1016/j.stem.2017.09.005

²⁴ <https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2017-10-06-1>

第 2 章 プロジェクト終了から現在に至る状況

2.1 プロジェクトの終了後の状況に関する基礎データ

2.1.1 調査方法

追跡調査として、文献調査（プロジェクト終了報告書、解説、原著論文など）、インターネットによる調査、各種データベースによる業績（論文・特許）の調査からなる基礎データ調査と、斎藤通紀研究総括（以下、斎藤と記載）へのインタビュー調査を行った。これらに基づき、本プロジェクト期間中の研究成果に加え、本追跡調査時点までの各研究課題の発展状況および波及効果などについてまとめた。

(1) 基礎データ調査の方法

基礎データ調査については、基本的に研究総括を対象として、プロジェクトの研究に関連した成果の発展状況に関し、文献による成果の把握と論文や研究助成金の獲得状況などのデータ調査を行った。各項目について利用したデータベースと調査範囲などを以下に記す。

①競争的研究資金の獲得状況

斎藤およびグループリーダーを対象として、競争的研究資金の総額が 1 千万円以上のものを抽出した。調査対象期間は、本プロジェクト期間を含めて現時点までとする。ただし、本プロジェクトの開始後に研究助成を受け、本プロジェクトが終了する前に、その助成金による研究が終了してしまう事案に関しては対象外とし、一方、本プロジェクト終了後も続いた研究事案は対象とした。研究助成資金の獲得状況については、斎藤へのインタビューによって調査するとともに、以下の Web サイトを用いて 2022 年 12 月に検索した。

- ・ 科学研究費助成事業データベース²⁵
- ・ 日本の研究.com²⁶

②論文

研究終了報告書として JST へ報告された論文を「成果論文」と定義する。研究終了後に出版された斎藤が著者となっている論文のうち、「成果論文」を引用している論文を「発展論文」、それ以外の論文を「展開論文」と定義する。

文献データベースは、エルゼビア社の Scopus を利用し、文献タイプ（ドキュメントタイプ） Article、Review、Conference Paper を収集した（調査日 2022 年 9 月 1 日）。

²⁵ <https://kaken.nii.ac.jp/ja/>

²⁶ <https://research-er.jp/search/>

各論文についての評価指標の一つである Field-Weighted Citation Impact (FWCI)²⁷、および Journal の指標となる CiteScore²⁸（論文の出版年に対応する CiteScore）についても調査した。

③特許の出願・登録状況

本プロジェクト期間中の特許は、斎藤から成果として報告されたもの、終了報告書に記載のあるものなど JST が成果として把握しているものとし、本プロジェクト終了後に出願された特許と区分しリスト化した。特許検索のデータベースとして、主に PatentSQUARE を利用し、補助的に特許情報プラットフォーム²⁹と espacenet³⁰を利用した。

④受賞

プロジェクトのメンバーの本プロジェクト終了後の受賞実績を調査対象者の所属機関や本人の WEB サイト、Researchmap³¹、Google³²等の検索サイトで調査した。

⑤ベンチャー

斎藤へのインタビューおよび Google 等検索サイトを用いて調査した。

⑥参加研究者の動静

終了報告書を基にプロジェクト参加研究者を特定し、プロジェクト参加時、終了時および現在の所属および職位を調査した。

(2) インタビュー調査の方法

斎藤にインタビューを実施し、基礎調査で知り得た情報の本プロジェクトとの関連や、その後の展開などについての情報を収集した。さらに、当時の研究環境やその後の発展、展開について、率直な感想および意見を伺った。

²⁷ Field-Weighted Citation Impact (FWCI) : 1 文献あたりの被引用数を世界平均（年別・分野別・文献タイプ別に算出）で割った数値

²⁸ CiteScore : Scopus データに基づいたジャーナル評価指標。あるジャーナルに出版された論文が平均で何回引用されたかを示す。

²⁹ <https://www.j-platpat.inpit.go.jp/>

³⁰ <https://worldwide.espacenet.com/>

³¹ <https://researchmap.jp/>

³² <https://www.google.com/?hl=ja>

2.1.2 競争的研究資金の獲得状況

斎藤および各グループリーダーは、プロジェクト終了後、大型研究費を獲得している。斎藤は、科学研究費（以下、科研費と記載）（特別推進研究）、AMED（ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム）、文部科学省（世界トップレベル研究拠点プログラム）および米国 Open Philanthropy Project を、栗本は科研費（新学術領域研究（研究領域提案型）、基盤研究(A)）を、大田、中村、岡本は科研費（基盤研究(B)）を獲得した。

2.1.3 論文の発表状況

本プロジェクトの成果論文、発展論文、展開論文の全論文数、FWCI 中央値、Top 0.1%、1%、10%の論文数を表 2-1 に示す。

表 2-1 論文の数と指標³³

	論文数	FWCI 中央値	FWCI Top%			
			0.1%以内	1%以内	10%以内	10%圏外
成果論文	49	2.17	0	0	23	26
発展論文	26	1.28	0	1	6	19
展開論文	7	0.77	0	0	1	6

調査日：2022年9月1日

(1) 本プロジェクトの成果論文

前述の「2.1.1 調査方法」で定義した本プロジェクトの成果論文 49 報の被引用数を調査した。表 2-2 に上位 5 位までの論文とその発行年の CiteScore を記載する。極めて CiteScore の高い学術専門誌に掲載され、多く引用されていることが判る。

³³ 各 Top%論文数は“以内”を意味し、例えば Top10%の欄には 1%以下も含む件数がカウントされる。

表 2-2 被引用数上位 5 位の成果論文

掲載誌/発行年/巻(号)/ページ	タイトル	被引用数	CiteScore
Cell. 2011, 19:146(4):519-532	Recons titution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells	873	56.8
Science. 2012, 338(6109):971-975	Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice	500	46.3
Nature. 2016, 539(7628):299-303	Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line	301	49.2
Cell Stem Cell. 2015, 17(2):178-194	Robust In Vitro Induction of Human Germ Cell Fate from Pluripotent Stem Cells	277	37.6
Nature. 2016, 539(7628):299-303	A developmental coordinate of pluripotency among mice, monkeys and humans	265	49.2

(2)本プロジェクト終了後の発展論文

本プロジェクト終了後に発表された発展論文は 26 報あり、プロジェクト終了後も順調に論文発表がなされている。表 2-3 に被引用数上位 5 報とその発行年の CiteScore を記載した。発展論文も CiteScore の高い学術専門誌に掲載され、多く引用されている。

表 2-3 被引用数上位 5 位の発展論文

掲載誌/発行年/巻(号)/ページ	タイトル	被引用数	CiteScore
Science. 2018, 362(6412):356-360	Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in vitro	104	47.1
Cell Stem Cell. 2021, 28(6):1023-1039. e13	Capturing human trophoblast development with naive pluripotent stem cells in vitro	55	31.7
Science. 2020, 367(6482):eaaw4115	ZGLP1 is a determinant for the oogenic fate in mice	28	46.8
Cell Stem Cell. 2021, 28(12):2167-2179. e9	In vitro reconstitution of the whole male germ-cell development from mouse pluripotent stem cells	20	31.7
Nat Protoc. 2020, 15(4):1560-1583	Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in culture	18	19.8

2.1.4 特許の出願・公開・登録状況

プロジェクト期間中および終了後の特許出願状況を表 2-4 に示す。プロジェクト終了後の特許件数は齋藤が発明者として含まれるすべての特許件数を示した。今後の審査で登録される特許の数が増えてくる可能性がある。

表 2-4 プロジェクトの特許出願状況一覧

	出願件数		登録件数	
	国内	海外	国内	海外
プロジェクト期間中	5	5	4	3
プロジェクト終了後	4	3	1	0
合計	9	8	5	3

検索日 2022年4月26日

更新日 2022年7月4日

本プロジェクト期間中、幹細胞の分化誘導に関する「多能性幹細胞から生殖細胞への分化誘導方法」（特許第 6460482 号、特許第 6757980 号）、「多能性幹細胞から生殖系列幹細胞様細胞への分化誘導方法」（特許第 7079017 号）および核酸増幅法（SC3-seq 法）に関する「核酸配列増幅方法」（特許第 6825768 号）が登録された。

本プロジェクト終了後は、「多能性幹細胞から生殖細胞への分化誘導方法」（特許第 7089298 号）が登録された。

2.1.5 受賞状況

齋藤は、本プロジェクト期間中に大阪科学賞（2013 年）、日本学術振興会賞（2013 年）、読賣テクノフォーラムゴールド・メダル賞（2013 年）、ナイスステップな研究者 2013（2013 年）、武田医学賞（2016 年）を受賞した。終了後、持田記念学術賞（2018 年）、朝日賞（2019 年）、上原賞（2019 年）、恩賜賞・日本学士院賞（2020 年）、The ISSCR Momentum Award 2020（2020 年）および EMBO Associate Member（2020 年）を受賞した。

2.1.6 ベンチャー企業の設立状況

齋藤は、2020 年に「絶滅危惧種の保護、再生医療および不妊治療」に関する細胞技術開発、当該細胞の保存および配布を事業内容とする株式会社ほうじょう（Houjou, Inc.）を設立し、取締役役に就任した。稀少霊長類や代表的哺乳類、ヒト多能性幹細胞から生殖細胞、特に卵子を誘導する技術を開発・検証し、未来社会における *in vitro* gametogenesis (IVG) 研究の顕著な可能性を実現する基盤を構築することを目標に掲げている。

2.2 プロジェクト終了後の発展状況

2.2.1 ヒト iPS 細胞からの卵原細胞の作出に成功³⁴

生体内において、生殖細胞は多能性幹細胞の一部が PGCs として運命決定されることにより生じ、エピゲノム情報の大規模な再編成（エピゲノムリプログラミング）を受け、さらに性特異的な配偶子形成過程を経て精子または卵子へと分化する。斎藤らは、これまでにマウス多能性幹細胞を培養環境下で PGCLCs へと誘導し、正常な産仔能をもつ精子や卵子へと分化させることに成功してきた。一方、ヒト多能性幹細胞を起点とした分化誘導については、ヒト iPS 細胞から PGCLCs への誘導法は確立できたものの、その後の分化過程は再現できていなかった。斎藤らは、ヒト iPS 細胞を PGCLCs へと誘導し、ヒト PGCLCs とマウス胎仔から得た将来の卵巣を構成する体細胞胎仔卵巣体細胞³⁵を凝集させた異種間再構成卵巣を構築し、コラーゲンをコートしたナイロン膜上で培養した。ヒト胎仔の PGCs は数週間から数ヶ月かけ徐々にエピゲノムリプログラミングが進行することが知られていることから、約4ヶ月にわたる長期培養を行った。その結果、長期培養を経たヒト PGCLCs に由来する細胞ではインプリント情報の消去を含む大規模な DNA 脱メチル化が認められ、一部では X 染色体の再活性化も観察された。また、網羅的遺伝子発現解析においても、エピゲノムリプログラミングの進行を裏付ける遺伝子群の発現上昇が認められた。これらの所見を生体の生殖細胞と比較すると、DNA メチル化状態 遺伝子発現ともに発生約 7~10 週（妊娠 9~11 週）頃のヒト胎児卵原細胞³⁶に酷似していた（図 2-1）。本成果は、ヒト卵原細胞の作出に成功した世界で初めての成果で、ヒト生殖細胞の発生機構の理解を促進し、ヒト卵原細胞から卵母細胞³⁷、さらに卵子を誘導する研究の基盤を築く成果である。将来的には不妊症の原因解明など、生殖医療の発展に役立つと期待される（京都大学プレスリリース³⁸）。

³⁴ Science. 2018, 362(6412):356-360. doi: 10.1126/science.aat1674

³⁵ マウス胎仔内の将来卵巣になる組織を構成する細胞。卵巣は卵子（生殖細胞）のほかに、卵子の発育を助ける種々の体細胞群により構成されている。マウスにおいて卵巣や精巣の原基は胚齢 10 日目頃に雌雄同様に現れる。胚齢 12 日目には卵巣としての形態的特徴を持つようになり、精巣との識別が可能となる。胎仔卵巣体細胞は、胚齢 12 日以降の胎仔卵巣組織から生殖細胞を除去することにより得られる。

³⁶ 胚において始原生殖細胞が雌性生殖隆起へ移動した後の生殖細胞であり、卵子の元となる。エピゲノム状態および遺伝子発現において、始原生殖細胞とは顕著な違いがある。減数分裂へと進行することで卵母細胞となる。

³⁷ 胎児期に卵原細胞から分化し、減数分裂中にある雌性生殖細胞のこと。減数分裂を完了することにより卵子となる。

³⁸ https://www.kyotou.ac.jp/sites/default/files/embed/jaresearchresearch_results2018documents180921_101.pdf

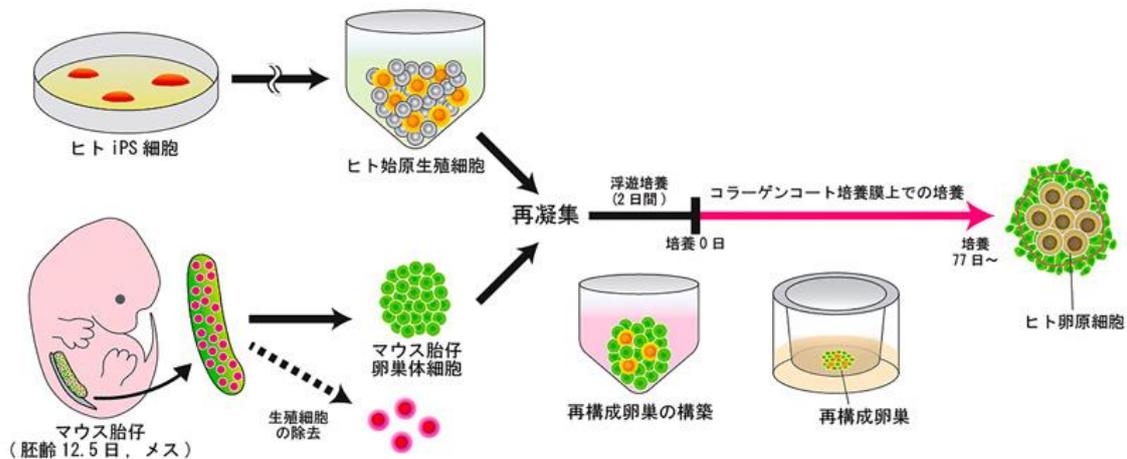


図 2-1 iPS 細胞から卵原細胞を作製するための実験手順
ヒト iPS 細胞から分化させた始原生殖細胞とマウス胎仔卵巣体細胞を凝集させた再構成卵巣を構築し、コラーゲンコート培養膜上で培養した。再構成卵巣中の始原生殖細胞は、培養 77 日目頃より卵原細胞へと分化した。

2.2.2 生殖細胞が卵母細胞へと分化する仕組みを解明³⁹

斎藤らは、骨形成因子 (bone morphogenetic protein: BMP) とビタミン A の代謝産物であるレチノイン酸の二つの液性因子により生殖細胞から卵母細胞への分化が誘導できることを発見していたが、その作用機序は不明であった。マウス卵母細胞への分化を誘導する転写因子を同定し、雌型の性決定が行われるための遺伝子発現制御の機序を明らかにすることを目的として、マウス胎児生体内における性決定直後の卵母細胞および BMP とレチノイン酸で誘導された培養ディッシュ上の卵母細胞の遺伝子発現を解析した。その結果、8 種類の候補遺伝子を選出し、卵母細胞分化の決定因子として、転写因子 Zinc finger GATA like protein 1 (ZGLP1) を同定した。Zglp1 ノックアウトマウスを作製した結果、胎児期で減数分裂への移行に支障があり、胚齢 17.5 日の卵巣では生殖細胞の数が正常マウスの 0.6% 以下に激減、そして生後 8 日目までに完全に消失し、Zglp1 ノックアウトマウスは不妊に至ることが判明した。また、Zglp1 の発現は BMP により誘起され、BMP の刺激で誘起される卵母細胞形成関連遺伝子の 95% 以上が Zglp1 にその発現を依存していることが明らかになった。さらに、BMP と ZGLP1 が軸となり卵母細胞運命の基盤を構築するのに対し、レチノイン酸シグナル経路は運命決定の促進と補助、そして PGC プログラムの抑制化という役割を担っていることが判明した。また、ZGLP1 は抑制的なエピゲノム状態を有している遺伝子群をより優先的に活性化させることも明らかになった (図 2-2)。すなわち、今まで不明であった卵形成始動のための遺伝子制御機構が明らかになり、また多能性幹細胞から転写因子のみを

³⁹ Science. 2020, 367(6482), eaaw4115. doi: 10.1126/science.aaw4115

用いて卵母細胞を誘導することが可能であることを世界で初めて証明した（京都大学プレスリリース⁴⁰）。

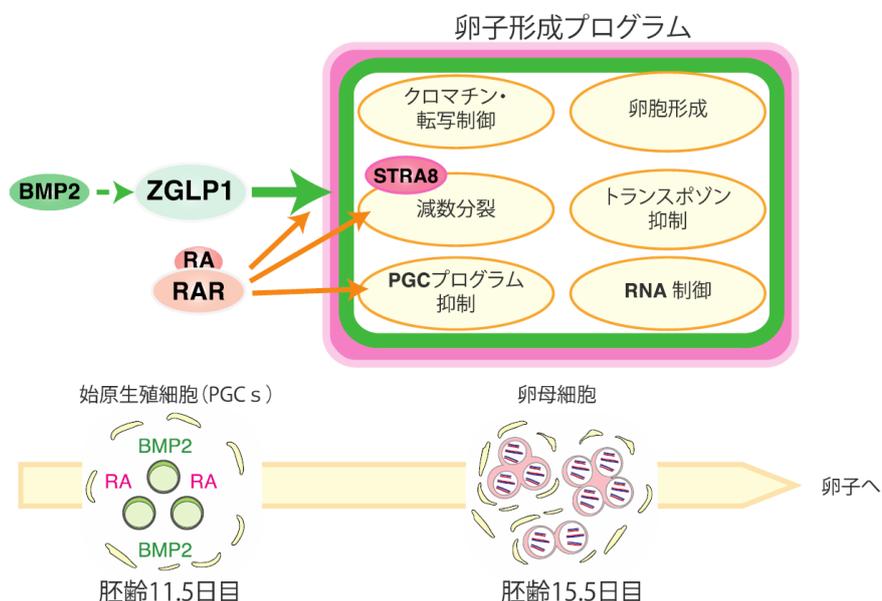


図 2-2 ZGLP1 が卵母細胞分化の決定因子である

2. 2. 3 ヒト始原生殖細胞様細胞の長期培養法の開発⁴¹

これまで、哺乳類の生殖細胞系列の発生および分化に関する研究はマウスを中心に進められ、その根底にあるメカニズムが明らかになってきた。生殖細胞の運命決定がなされる着床後胚を解析することは、倫理的・技術的な観点からヒトにおいてはほとんど不可能であるが、多能性幹細胞を起点として生殖細胞系列の分化過程を試験管内で再構成する方法論が確立されたことでヒト生殖細胞系列の発生・分化について理解を深める道が拓かれた。胎児卵巣内環境を試験管内で再現した再構成卵巣培養によりヒト PGCLCs が卵原細胞様細胞⁴²へと分化することが明らかになったが、細胞数が数百万に達する生体内の分化過程と比較して、再構成卵巣では細胞の生存・増殖が不十分であり、ヒト PGCLCs の培養環境として最適ではなかった。斎藤らは、基礎培地やサイトカイン、化合物の組み合わせを検討し、4ヶ月の培養で100万倍程度までヒト PGCLCs が増殖する培養方法を開発した。その培養期間中、遺伝子発現状態およびゲノム DNA メチル化の状態は培養初期の状態を維持しており、増殖中に生体内と同様のゲノムワイドな DNA 脱メチル化を起こすマウス PGCLCs の場合と対照的

⁴⁰ https://www.kyoto-u.ac.jp/sites/default/files/embed/jaresearchresearch_results2019documents200214_101_.pdf

⁴¹ EMBO J. 2020, 39(21):e104929. doi: 10.15252/emj.2020104929

⁴² 始原生殖細胞は将来卵巣となる胎児生殖巣で卵原細胞へと分化し、その後減数分裂を経て卵子となる。胎児卵巣の環境を再現した再構成卵巣培養により始原生殖細胞が卵原細胞とよく似た遺伝子発現および DNA メチル化の状態の細胞へと分化することが明らかとなっており、この細胞を卵原細胞様細胞と呼ぶ。

であった。さらに、増殖したヒト PGCLCs は再構成卵巣内で卵原細胞様細胞へと分化することが確認され、分化能を維持していることが示された (図 2-3)。本研究により開発された培養法は、ヒト生殖細胞の分化過程や関連する疾患について解析する技術的な基盤となることが期待される (京都大学プレスリリース⁴³)。

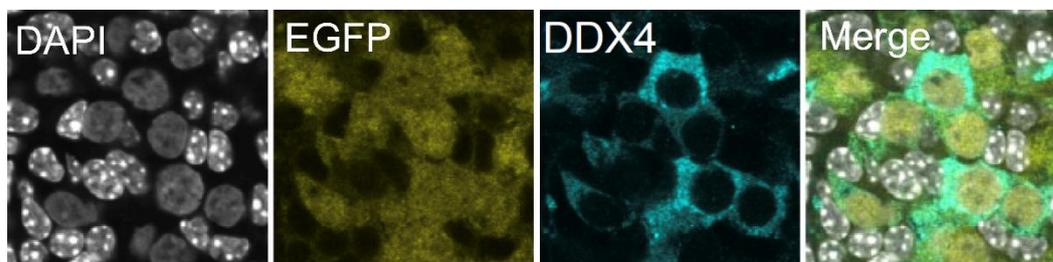


図 2-3 増殖したヒト始原生殖細胞様細胞 (EGFP 陽性、黄色) は再構成卵巣内で卵原細胞様細胞 (DDX4 陽性、シアン) へと分化する

2.2.4 雄性生殖細胞の全分化過程の試験管内再構成に成功⁴⁴

斎藤らは、これまでに ES 細胞から PGCLCs を誘導し、再構成精巣法⁴⁵を用いて、精子の元である精子幹細胞様細胞の長期培養株 Germline stem cell-like cells (GSCLCs) を誘導することに成功してきた。次の目標として、再構成精巣法をさらに改善し、培養の途中過程を生体における雄性生殖細胞の発生過程により近づけること、GSCLCs からオスの配偶子である精子まで体外培養にて遂行させることを目指した。使用する細胞株の選定、培養で用いる細胞と培養条件の改善、1 細胞由来の GSCLCs を樹立することによる細胞集団の不均一性の排除、を組み合わせることで、培養過程と誘導した細胞を、より詳細に解析する技術を確立した。また、体外精子誘導法⁴⁶と組み合わせることで、ES 細胞由来の GSCLCs を、試験管内で健常な産仔に寄与する精子まで誘導することに、世界で初めて成功した (図 2-4)。これにより、ES 細胞から精子まで、雄性生殖細胞系列の全分化過程について、試験管内で再構成することを達成した (京都大学プレスリリース⁴⁷)。

⁴³ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20200920_research-result_murase-saitou/

⁴⁴ Cell Stem Cell. 2021, 28(12), 2167-2179. e9. doi: 10.1016/j.stem.2021.08.005

⁴⁵ PGCLCs と、マウスの胎齢 12.5 日のオス生殖巣の体細胞とを凝集培養したのち、得られた細胞塊 (再構成精巣) を気相液相条件にて培養する方法

⁴⁶ 精巣組織片を気相と液相 (培養液) の境界部位に置き、酸素供給と栄養供給のバランスを図った培養方法で、マウス精子幹細胞から精子産生までの完全な精子形成を誘導維持することができる。

⁴⁷ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20210908_research-result_saitou/

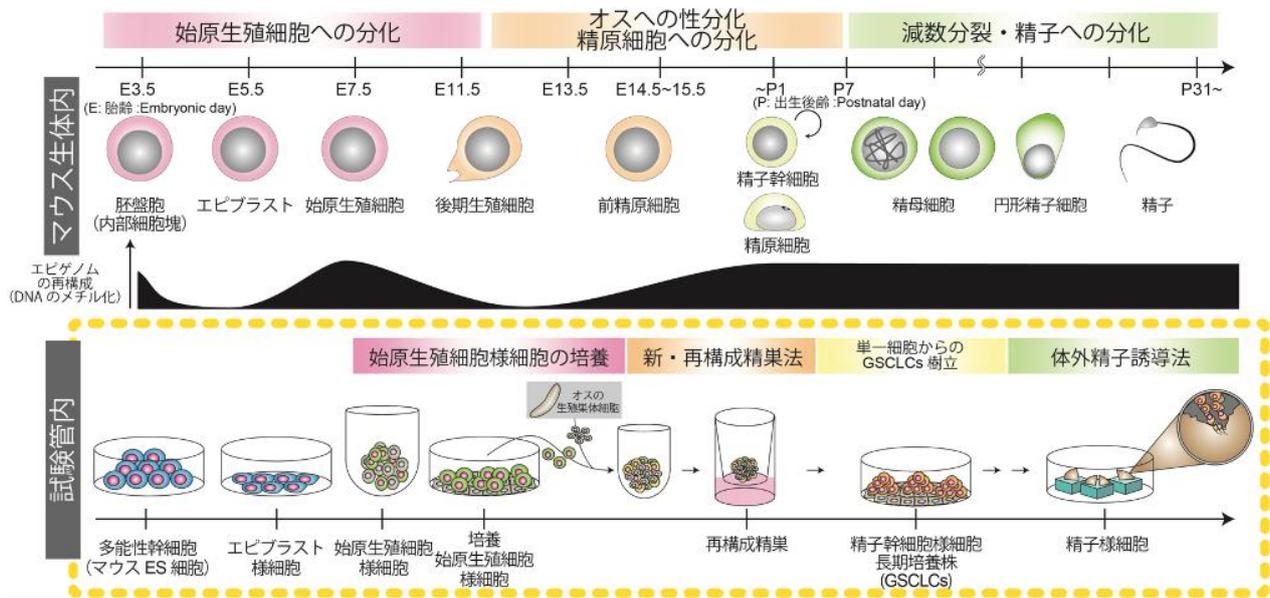


図 2-4 ES 細胞から精子まで全過程を体外で誘導する

2.2.5 霊長類における X 染色体遺伝子量補正プログラムを解明⁴⁸

哺乳類の性染色体構成は、雌は XX、雄は XY であり、雌は雄の 2 倍量の X 連鎖遺伝子量を持つ。Y 染色体の遺伝子は 50 個ほどなのに対して、X 染色体には遺伝子が 800 個ほどあり、雌雄間で X 連鎖遺伝子産物量の差を補正するために、雌では 2 本の X 染色体のうち 1 本を一括して不活性化するメカニズム「X 染色体不活性化」が存在する。また、2 本ある常染色体との差を補正するために X 連鎖遺伝子の発現量を 2 倍化する「X 連鎖遺伝子のアップレギュレーション」が存在する。これら X 染色体遺伝子量補正プログラムは胚発生初期に起こるため、ヒトを含む霊長類では、その仕組みについては長らく不明であった。斎藤らは、カニクイザルを用いて、X 染色体不活性化に必須の *XIST* 遺伝子⁴⁹に着目し、胚発生過程におけるその作用機序の詳細な解析を行った。その結果、ヒト着床前胚と同様に *XIST* は父母由来の両 X 染色体から発現しているが、X 連鎖遺伝子の発現抑制は起こっていないことが明らかになった。*XIST* 遺伝子の発現は、着床後 2 日目（胚齢 11 日）にかけて胎盤等になる胚体外で、次に 4（胚齢 13 日）から 6 日目（胚齢 15 日）にかけてエピプラストで、最後に 4（胚齢 13 日）から 8 日目（胚齢 17 日）にかけて卵黄嚢で片方の X 染色体からのみとなって X 連鎖遺伝子が発現抑制され、X 連鎖遺伝子発現量は、着床前から胚齢 20 日にかけて約 2 倍ま

⁴⁸ Science. 2021, 374(6570), eabd8887. doi: 10.1126/science.abd8887

⁴⁹ *XIST* (X-inactive specific transcript) 遺伝子: X 染色体不活性化の開始に必須の遺伝子。*XIST* 遺伝子から転写される RNA はタンパク質を構成するアミノ酸配列をコードしないノンコーディング RNA (*XIST* RNA)。*XIST* RNA は X 染色体上に蓄積してエピジェネティック修飾因子を呼び込み、X 染色体のクロマチンをヘテロクロマチン化すると考えられています。エピジェネティック修飾因子は酵素活性を持ち、クロマチンを構成するヒストンに化学修飾を付加して、近傍の標的遺伝子の転写を抑制する。

で発現量が上昇し、常染色体とほぼ同レベルに到達していることが判明した（図 2-5）。さらに、PGCs では分化初期から *XIST* 遺伝子の発現が低下し、両 X 染色体から遺伝子発現が再開していること、また、PGCs が生殖隆起に移動後、両 X 染色体から *XIST* 遺伝子の発現が再開していることも明らかになった。今まで不明であった霊長類の初期発生過程と始原生殖細胞の分化過程における X 染色体遺伝子量補正プログラムを世界で初めて明らかにした成果である（京都大学プレスリリース⁵⁰）。

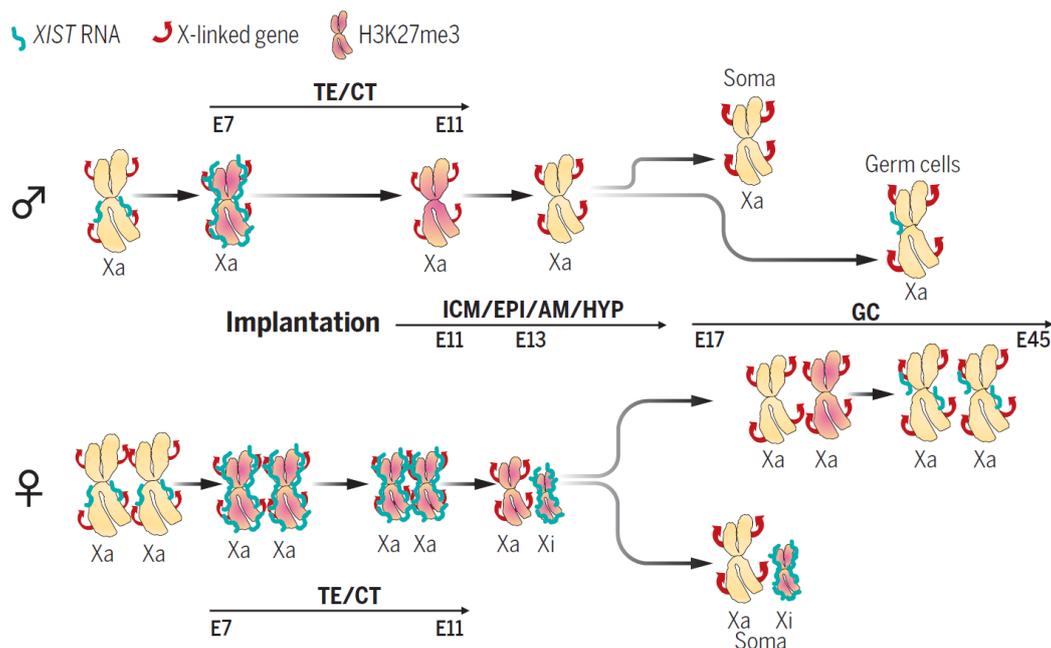


図 2-5 サルの発生過程における X 染色体ダイナミクス

X 染色体上の *XIST* (緑色) および X 連鎖遺伝子 (赤色矢印) の発現と H3K27me3/H2AK119u1 の濃縮 (ピンク色)、およびオス (上) およびメス (下) のカニクイザル発生中の X 染色体の不活性化/再活性化。Xa, 活性化 X; Xi, 不活性化 X; TE, trophoctoderm (栄養外胚葉); CT, cytotrophoblast (胎盤栄養膜細胞); ICM, inner cell mass (内部細胞塊); EPI, epiblast; AM, amnion (羊膜); HYP, hypoblast (胚盤葉下層); GC, germ cells; ; E, embryonic day.

2.2.6 受精卵の「全能性」の基盤となるメカニズム (マウス生殖細胞発生過程のヌクレオームプログラミング) の解明⁵¹

全能性は、一つの細胞から個体を構成するあらゆる細胞に分化して個体を形成する能力であり、受精卵のみが保有し得るユニークな性質である。これまで、受精卵を形成する配偶子 (精子・卵子) の形成過程における全能性獲得の基本原理については、理解が進んでいなかった。斎藤らは、細胞核内のゲノムの立体構造やゲノム全体のエピゲノムなどが変化する

⁵⁰ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20211119_research-result_saitou/

⁵¹ EMBO J. 2022, 41(13):e110600

過程を包括的に解析する「ヌクレオーム解析」を行い、マウスの ES 細胞を起点として試験管内誘導を行った PGCLCs や、精原細胞から樹立した精子幹細胞 (GSCs) などを含む、マウスの生殖細胞の発生過程の鍵となるステージに相当する、試験管内細胞種を包括的に解析した。その結果、発生過程を通して、遺伝子が転写されやすいゲノムの領域 (ユークロマチン) が拡大し続ける (ユークロマチン化) 一方で、転写の抑制された領域 (ヘテロクロマチン) は限局された領域に縮小することが分かった。また、核膜直下に分布するラミナ関連ドメイン (LADs) と呼ばれるゲノムの領域が、生殖細胞の発生過程を通して大幅に減少していた。特に、精子幹細胞では、LADs がセントロメア付近を中心とした領域に濃縮しており、染色体レベルの大規模な DNA の再配置が起きていることが観察され、ユークロマチン化の進行に伴い、セントロメアを中心とした強く抑制された限局したヘテロクロマチン領域が LADs として残るために、大規模な DNA の再配置が起こるという機序が考えられた。哺乳類では、PGCs の形成とともに、DNA のメチル化やいくつかのエピゲノム修飾が一掃され (エピジェネティック・リプログラミング)、配偶子それぞれに特有の DNA メチル化パターンやエピゲノム修飾が、再びゲノム全体に施されることが知られている (エピジェネティック・プログラミング)。しかし、生殖細胞のゲノムのユークロマチン化は、このリプログラミングならびにプログラミングという、一度消去してから新たに書き込むという従来考えられていた機序とは異なり、生殖細胞発生過程を通じて一方向性に起きていた。さらに、生殖細胞の基となる PGCLCs では、DNA のメチル化が一掃されているため、ゲノム上の多くのエンハンサーが活性化している一方でゲノム上の区切り (インシュレーション) が強くなるという、特徴的な DNA 三次元構造の変化を起こすことが判明した。この変化により、エンハンサーとプロモーターは適切な相互作用を保ち続け、発生過程が誤りなく進行するように、遺伝子の転写が調整されていると考えられた。ところが、驚くべきことに、この PGCLCs で見られた特徴的な DNA 三次元構造変化は、DNA の再メチル化 (エピジェネティック・プログラミング) に伴い、精子幹細胞ではほぼ消滅していた。さらに、このインシュレーションの消失が、雄性生殖細胞運命に重要な遺伝子のプロモーターとエンハンサーの相互作用の形成に寄与しているということが示唆され、精子幹細胞様細胞 (GSCLCs) ではこのインシュレーションの消失が不完全になっているということも観察された。以上のように、生殖細胞の発生過程では、一部のエピゲノムにだけ着目した場合はリプログラミングに引き続きプログラミングが起きている一方で、核内の包括的なエピゲノム並びにクロマチン高次構造に着目した場合、「ヌクレオームプログラミング」と呼ぶべき統合的な一方向性の変化を起こし、配偶子を生み出すための基盤を形成することが明らかになった。また、このヌクレオームの変化が正常に起きない場合、精子形成能力が著しく低下することも判明した (京都大学プレスリリース⁵²)。

⁵² https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20220629_research-result_saitou/

2.2.7 ヒト・サルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出することに成功⁵³

これまでに齋藤らは、ヒト多能性幹細胞から卵原細胞を作出することに成功していたが、卵原細胞をさらに分化させ、ヒトの卵胞を作出するための体外培養法は存在せず、その技術開発が望まれてきた。ヒトのモデルとしてカニクイザル胎児の卵母細胞発生機構を詳細に解析し、サル胎児の卵巣由来細胞の体外培養条件を検討した結果、約3ヶ月間の長期培養により、サル胎児の卵巣細胞から卵胞を誘導する培養技術を確立した。そこで、ヒト胎児の卵巣由来細胞に対して、この体外培養を実施したところ、ヒトにおいても同様に卵胞の誘導に成功し、その卵胞は成人卵巣中の原始卵胞に近い性質を有していることが明らかとなった（図 2-6）。また、本培養法により得られた卵母細胞の解析により、ヒトとサルに共通して存在する霊長類特異的な卵母細胞発生機構の解明にも成功した。この研究成果は、ヒトの雌性生殖細胞の正常発生機構の解明のみならず、不妊症などの生殖細胞関連疾患の病因解明・治療法開発など、生殖医療の発展に役立つことが期待される（京都大学プレスリリース⁵⁴）。

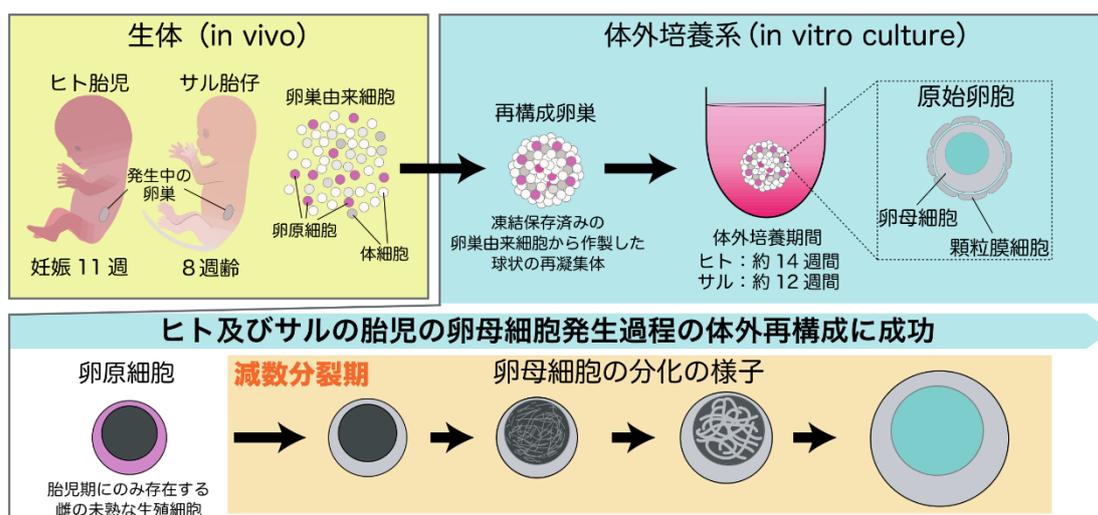


図 2-6 ヒトおよびサルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出

2.3 プロジェクト参加研究者の活動状況

齋藤は、本プロジェクトの最終年度に科研費特別推進研究の「ヒト生殖細胞発生機構の解明とその試験管内再構成」（2017～2021年度）、その後AMED ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム（HFSP）「Mechanisms of chromatin reprogramming to totipotency」（2018～2020年度）、科研費特別推進研究「試験管内再構成系に基づくヒト卵母細胞発生機構の解明とその応用」（2022～2026年度）の研究代表者として大型予算を獲得した。さらに、

⁵³ EMBO J. 2022, 41(18), e110815. doi: 10.15252/embj.2022110815

⁵⁴ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20220729_research-result_saitou/

文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI 研究拠点）京都大学 ヒト生物学高等研究拠点（ASHBi）（2018～2027 年度）拠点長を兼任して研究を発展させ続けている。また、2019 年には米国 Open Philanthropy Project より課題「An Integrative Investigation for the Induction of Oocytes from Human and Primate Pluripotent Stem Cells」に対して研究費を獲得した。一方、多能性幹細胞（ES 細胞や iPS 細胞）を用いて生殖細胞を誘導し、それらを精子や卵子に分化させる研究（IVG）の社会実装に向けて、株式会社ほうじょうを設立した（詳細は第 3 章で記述する）。

マウス生殖細胞解析グループリーダーの大田は、科研費若手研究(A)「ES 細胞由来始原生殖細胞の増殖・分化機構の解明」（2015～2018 年度）、基盤研究(B)「ヒト始原生殖細胞様細胞の卵母細胞誘導法の確立」（2019～2022 年度）を獲得した。大田は、本プロジェクト終了時には京都大学大学院医学研究科助教であったが、2019 年に准教授に昇進した。

サル生殖工学開発グループリーダーであった中村は、本プロジェクト終了時には滋賀医科大学動物生命科学研究センター准教授であったが、現在は麻布大学獣医学部教授となっている。科研費基盤研究(B)「カニクイザルを用いた子宮内膜症標的ペプチド治療薬の最適化」（2018～2020 年度）を獲得し、サルを用いた生殖工学研究を継続した。

生殖エピゲノム解析グループリーダーであった栗本は、プロジェクト終了時には京都大学大学院医学研究科准教授だったが、2018 年に奈良県立医科大学教授に就任した。科研費基盤研究(B)「微量解析法による転写制御因子 BLIMP1 の細胞種横断的エピゲノム制御機構の解明」（2016～2018 年度）、新学術領域研究(研究領域提案型)「組織学的情報とリンクした単一細胞遺伝子発現プロファイル動態の解明」（2018～2022 年度）、基盤研究(A)「組織学と複合した単一細胞 DNA メチル化解析法による原始卵胞淘汰過程の解明」（2020～2024 年度）を獲得し、研究を発展させている。

本プロジェクトにマウス生殖細胞解析グループ研究員として参画した廣田は、留学を経て大阪大学大学院医学系研究科 助教となった。ヒト始原生殖細胞発生機構再構成グループで京都大学 iPS 細胞研究所助教だった横林は、京都大学大学院医学研究科特定拠点(CiRA)の講師となっている。山路は米国 Cincinnati Children's Hospital Medical Center の Assistant Professor に就任後、武田薬品工業株式会社の San Diego 支社勤務、佐々木は University of Pennsylvania の Assistant Professor に就任、荒牧、鍵和田、中木は留学中である。

2.4 第 2 章まとめ

上述の通り、斎藤はプロジェクト終了後も科研費、AMED、文部科学省、および米国の大型研究費を獲得し、本プロジェクトの研究成果を大きく発展させている。発表した論文の被引用数の多さからも、研究内容が国内外から高く評価されていることが解る。また、研究成果は着実に特許登録に結び付けている。さらに、生殖細胞発生過程の試験管内再構成研究の成果を社会実装することを見据え、ベンチャー企業も設立した。一方、本プロジェクトに参画

したグループリーダーの多くが昇進を果たし、大型競争的資金を獲得している。参画研究員も昇進、あるいは海外の大学や研究機関に留学し、生殖細胞の理解のための研究を推進している。

第 3 章 プロジェクト成果の波及と展望

3.1 科学技術への波及と展望

3.1.1 学術的な新発見や発明による科学技術の波及

本プロジェクトは、生殖細胞（精子、卵子、およびその前駆細胞）の発生機構の解明と、それに基づく生殖細胞発生過程の試験管内再構成系の開発を目的として推進されてきた（図 3-1）⁵⁵。生命の根幹である生殖細胞の発生機構の解明は自ずと社会的インパクトが高く、実際に、本プロジェクトの成果である多能性幹細胞からの精子や卵子の作製はその都度国内外の多くのメディアに取り上げられた。

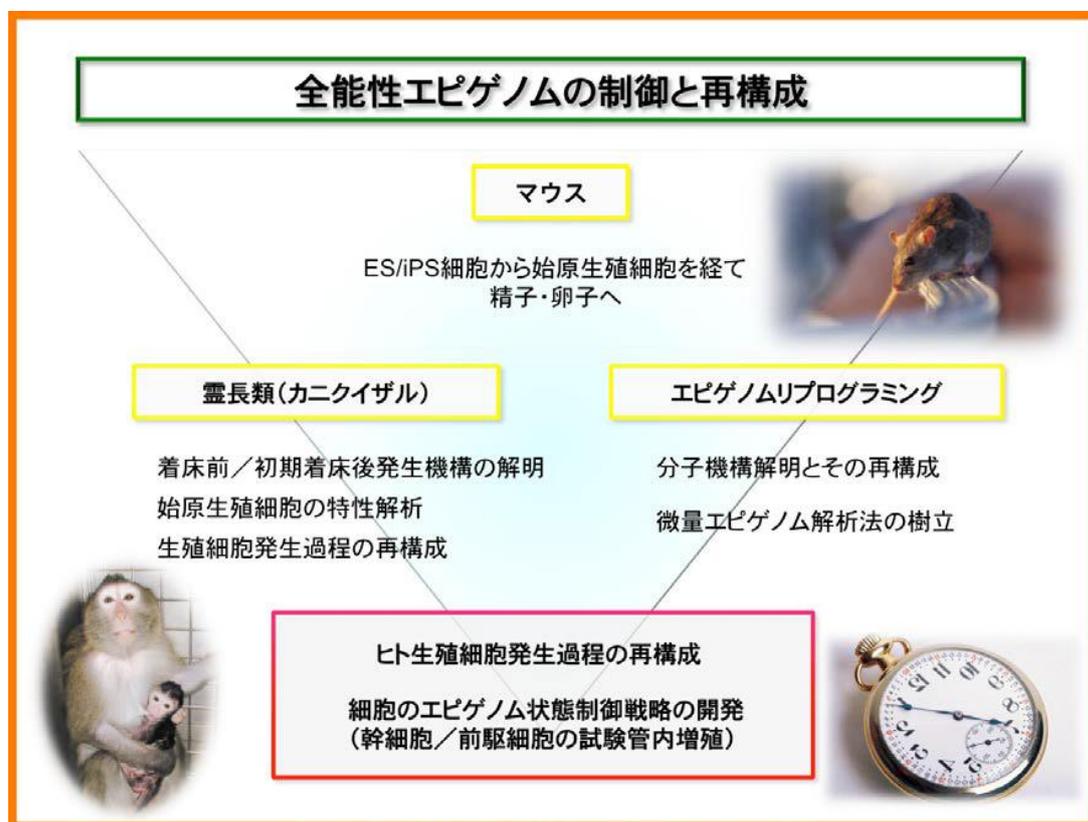


図 3-1 斎藤全能性エピゲノムプロジェクトの概念図

斎藤を中心とする研究グループは、2000 年代はじめから一貫して、生殖細胞の形成・発生機構の研究を行い、その成果に基づき多能性幹細胞を起点とする生殖細胞の試験管内誘導を可能とした。さらにその技術を基盤とし、エピゲノムリプログラミングの本態解明を含む生殖細胞の発生機構のさらに詳細な解明を行ってきた。これらの研究はすべて世界に先

⁵⁵ ERATO「斎藤全能性エピゲノム」プロジェクト終了報告書

駆けた研究成果であり、そのレベル、重要度において他から抜きん出たものと評価されている。斎藤が研究を開始した当初は、研究の困難さとそれに基づく展望の不確実さから、ごく一部の研究者のみが生殖細胞の形成・発生機構の研究を行っていたが、現在では、斎藤らの研究成果を基盤に、数多くのグループが生殖細胞の発生機構、生殖細胞の試験管内誘導の研究を推進している。

3.1.2 新規な理論や概念の提唱

哺乳類における生殖細胞の発生機構の研究は、主にマウスをモデル生物としてきたが、斎藤らは、マウスに加えて、サルやヒトの細胞を用いて研究を推進している。マウスにおいては、雄性生殖細胞の全分化過程の試験管内再構成に成功し、ES 細胞由来の PGCLCs を試験管内で健全な産仔に寄与する精子まで誘導した (2.2.4 参照)。また、マウスにおいて、生殖細胞から卵母細胞への分化を誘導する転写因子を同定し、雌型の性決定が行われるための遺伝子発現制御の機序を明らかにした (2.2.2 参照)。一方、カニクイザルを用いて、胚発生初期に起こる X 染色体遺伝子量補正プログラムの仕組みを明らかにした (2.2.5 参照)。さらに、ヒト iPS 細胞から卵原細胞を作出することに成功し (2.2.1 参照)、ヒト・サルの胎児卵巣から原始卵胞を体外で作出することに成功した (2.2.7 参照) など、斎藤らは、生命の根源たる生殖細胞の発生過程を試験管内で再現することに成功し、そのメカニズム解明の研究発展に大きく貢献した。

3.1.3 新たな研究領域や研究の潮流の形成

ES 細胞や iPS 細胞などの多能性幹細胞を起点として臨床上有用な細胞系譜を分化誘導する際に、胚発生過程を出来るだけ正確に再現させるためには、起点となる細胞の特性および着床前／後胚発生の遺伝学的・後成遺伝学的基盤の正確な情報を有することが極めて重要である。多能性幹細胞を起点とした分化誘導研究は、マウスをモデルとして得られた知見に基づき研究が進められてきているが、必ずしもマウスが哺乳類を代表する発生過程を有する訳ではないという事実が明らかになりつつあり⁵⁶、またそうした事実にも関わらず、霊長類の着床前／後胚発生の遺伝学的・後成遺伝学的基盤を体系的に研究した先例はない。斎藤らのマウス・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についての成果は、正にこの点に直接の解を与えるもので、今後の発展が期待される。

3.2 社会経済への波及と展望

⁵⁶ Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012, 4(8):a008128

3.2.1 生殖医療への応用

現在先進国では不妊・生殖補助医療による出生率が増加し（2019年の日本では14人に1人が生殖補助医療により出生⁵⁷⁾、この割合は今後さらに増える可能性がある⁵⁸⁾。生殖細胞の発生異常に起因する不妊症（絶対不妊：不妊の～7%）の割合は少なくなく、一見正常な生殖細胞を有していても初期発生等に異常を呈するケースも多い。さらに、遺伝病は生殖細胞を介して遺伝する。こうした事実を考慮すると、試験管内で生殖細胞の発生過程を再現できれば、それら疾患のモデル細胞として、異常機構解明や創薬による治療法開発への基盤となることが期待される（図3-2）（京都大学プレスリリース）⁵⁹⁾。また、不妊治療には、年単位の期間を要するだけでなく、経済的な負担も大きい。斎藤らの成果は、ヒト生殖細胞の発生機構を理解し、多能性幹細胞から精子／卵子を誘導する基盤を築くものであり、不妊症の原因解明、不妊治療における妊娠確率の向上など、生殖医療の発展につながる。

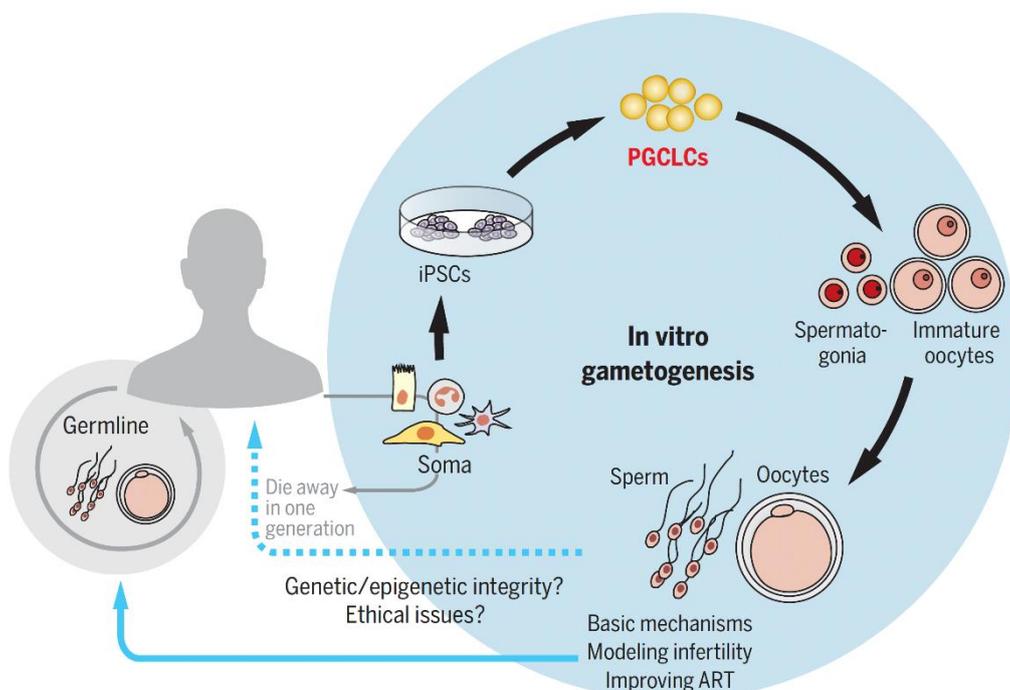


図 3-2 哺乳類における生殖細胞の体外培養

試験管内配偶子造成研究 (IVG) は、体細胞由来の iPSC 細胞を含む多能性幹細胞 (PSCs) を起点として生殖細胞の発生過程を試験管内で再現する。ヒトの IVG を理解するにはさらなる努力が必要であるが、生殖に関する生命科学と医療に新たな可能性を生み出すであろう。ART は assisted reproductive technologies (生殖補助医療技術) を指す。

⁵⁷⁾ <https://www.mhlw.go.jp/bunya/koyoukintou/pamphlet/dl/301.pdf>

⁵⁸⁾ Cell Stem Cell. 2011, 8(1):12-15. doi: 10.1016/j.stem.2010.12.015

⁵⁹⁾ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/news/20211001_review_saitou/

一方、人工授精により生まれた場合、インプリント異常や試験管内培養の過程で生じ得るエピジェネティックな異常に起因する病態に影響される確率が、通常の過程で生まれる場合よりも高くなるとする報告があり、慎重な研究の必要性が議論されている⁶⁰。本プロジェクトでその端緒を築いた霊長類初期発生過程の遺伝学的／後成遺伝学的機構の解明、ヒト生殖細胞発生過程の試験管内再構成といった成果が、エピゲノム情報の健常／病的状態における継承機構およびエピゲノム情報の制御機構に関する基盤情報を形成するのみならず、新しい幹細胞および生殖テクノロジー／医学の開発に貢献することは間違いない。また、最終的に、細胞のエピゲノム状態を自由に制御する技術の開発につながり、医学的に大きな影響を与えると期待される。

3.2.2 絶滅危惧種の保護

絶滅危惧種とは、絶滅のおそれが生じている野生生物のことを指す。その原因には、開発による生息地の減少、密猟などの乱獲や、環境汚染などで生息数を大きく減らしたことなどが挙げられる。また、近年は地球温暖化による生息環境の変化や消失、人間が持ち込んだ外来生物などによる影響も深刻になっている。国際自然保護連合（IUCN）によると、2022年10月時点で、全世界にある41,459種が絶滅危惧種（レッドリスト）に該当する⁶¹。こうした野生動物を絶滅の危機から救うためには、生息地の環境保全のみならず、地球規模の温暖化対策が必要とされているが、短期間で実現できるものではない。斎藤らの開発した方法で、様々な生物種の精子／卵子を試験管内で再構成できれば、絶滅危惧種の保護に大きな貢献をすることとなる。

3.2.3 ベンチャーの起業

斎藤は、多能性幹細胞を用いて生殖細胞を誘導し、それらを精子や卵子に分化させる IVG 研究において世界を先導してきた。マウスを用いた研究でその実現可能性を実証し、研究はヒトや他の生物種に発展しつつある。斎藤は、稀少霊長類や代表的哺乳類、ヒト多能性幹細胞から生殖細胞、特に卵子を誘導する技術を開発・検証し、未来社会における IVG 研究の顕著な可能性を実現する基盤を構築することを目的として、株式会社ほうじょうを設立した。

3.3 第3章のまとめ

斎藤は、上述の通り、生殖細胞の発生機構の解明とその試験管内再構成研究に関して、確固たる技術基盤を形成し、今後の明らかな方向性を提示した。生殖細胞は、精子もしくは卵子に分化し、それらが融合することで新しい個体をつくり、新しい世代に遺伝情報を継承する細胞である。精子や卵子、特に数が少なく、採取や保存が困難な卵子は、生物種の存続を可能とし、その発生や進化を規定する貴重な生物学的資源である。本プロジェクトおよびそ

⁶⁰ Science. 2002, 296(5576):2188-2190. doi: 10.1126/science.1071741

⁶¹ <https://www.wwf.or.jp/activities/basicinfo/3559.html>

の後の斎藤の研究成果は、生殖細胞の全能性とその進化的多様性の包括的理解、世代を超えたエピゲノム情報継承メカニズムの解明、先天性染色体疾患の発症機序の解明、不妊症の原因解明に直結し、より高度で安心な生殖医療の発展に大きく寄与するものである。これらの実現により、疾患のエピゲノム情報を活用した画期的な予防・診断・治療法の開発や、iPS細胞等の体内および体外での細胞増殖・分化技術の開発、その利用技術の開発、安全性評価技術に関する研究開発を通して、安全で有効性の高い再生医療等につなげ、ライフイノベーションの目標実現に向けた重要課題「革新的な予防法の開発」、「新しい早期診断法の開発」および「安全で有効性の高い治療の実現」に貢献することが期待される。一方で、斎藤はIVGで作出した配偶子をヒトの生殖に用いるには、法的・倫理的に慎重な議論が必要であるとしている。