

哺乳動物の卵子を体外で産生する

諸白家奈子¹・尾畑やよい^{2*}

哺乳動物の受精卵を着床前の胚盤胞まで発生させる培養系が開発されて久しい。現在では、マウス、ヒト、ウシなどさまざまな動物種で、生体内同様に初期発生のプロセスを体外培養で再現させることができるようになった。その結果、受精卵培養の技術は、初期胚の代謝や遺伝子機能解析などの研究に利用されるばかりか、ヒト不妊治療や家畜繁殖などにも汎用されるようになった。一方、受精する前の卵子を体外で産生する培養系の開発は1930年代から続き、最近、一つのブレークスルーを迎えた。本稿では、哺乳動物の卵子形成と卵子の培養系について概説する。

哺乳動物では、精子や卵子の起源となる始原生殖細胞は胎子期に現れ、性分化が起こると卵巣内の生殖細胞は卵原細胞へと分化する。卵原細胞は体細胞分裂により数万から数百万まで増殖するが、あるとき最後のDNA複製を終えると減数分裂期へと一斉に移行し卵母細胞の分化が始まる。卵母細胞は相同組換えを完了した直後に減数分裂を一旦停止させ、また、これと時期を同じくして、卵巣内の体細胞で袋状に覆われ、原始卵胞と呼ばれる構造を作って静止状態となる。出生後、個体の成長や性成熟に伴いこの原始卵胞プールから一部の原始卵胞が順に成長期に移行する。卵母細胞は卵胞と協調して成長し、この間に受精や発生に必要な能力を獲得していく。やがて、性腺刺激ホルモンの作用により減数分裂が再開すると半数体の成熟卵子が分化し、卵巣から排卵される。一方、こうして生体内で産生される成熟卵子の数は、生涯を通じて全卵母細胞の1%未満であり、残りは卵子へと分化することなく加齢とともに退行していく。成熟卵子を体外で産生する培養系は、卵巣内の卵母細胞を有効利用する、あるいは、卵子形成機構を解明するツールになる可能性が秘められている。

哺乳動物の卵巣内の卵母細胞から“成熟卵子”すなわち、個体発生能を有することが証明された卵子を産生した最初の成功例は、CrossとBrinsterによるものだろう¹⁾。彼らはマウス卵巣の成熟卵胞から十分成長した卵母細胞を採取し、仔ウシ血清を添加した199培地（今でも汎用されている）中で卵母細胞の減数分裂を再開させ成熟卵子を得た。血清には細胞の増殖を促進する成長因子や未知因子が多数含まれ、一般的に体外培養で培地に添加するメリットは大きい。1989年には、Eppigらが成長途上

のマウス卵胞を卵胞刺激ホルモンやウシ胎仔血清などを添加した培地でおよそ2週間培養し、卵母細胞を発育させる卵胞培養系を開発した²⁾。1996年、さらに同氏らは、新生子マウス卵巣を器官培養して原始卵胞を成長させ、この培養卵巣から成長期の卵胞を単離して卵胞培養する2-Step法を開発した。卵巣から無傷で原始卵胞を単離して培養することはきわめて困難であるが、この2-Step法によって、原始卵胞から体外で成熟卵子が産生されるに至った³⁾。一方、この方法は長い間、他の研究者による追試が難しいものであったが、2016年にMorohaku, Hiraoらは、卵胞培養の培地に高分子化合物を導入することで卵胞発育を促進させ、2-Step法による成熟卵子の産生を再現性の高いものとした⁴⁾。さらに同氏らは、この2-Step法を始原生殖細胞が含まれるマウス胎子卵巣に応用し、17日間の器官培養後、発育した卵胞を単離しさらに14日間の卵胞培養を行うことで、成熟卵子の産生に成功した⁵⁾。その報告では、器官培養の培地に含まれるウシ胎仔血清中のエストロゲンが体外での卵胞形成障害の一因となることを示し、エストロゲンの阻害剤を培地中に導入することで体外における卵胞形成が達成された。こうして、一連の卵子形成の全過程を体外培養で再現させる土台が世界で初めて完成した。この培養技術は多能性幹細胞から成熟卵子を作出する研究の突破口にもなった。2016年にHikabeらはマウスiPS細胞を始原生殖細胞様の細胞に分化させたのち、Morohakuらの技術を応用し作出した成熟卵子から、最終的に産子を獲得した⁶⁾。現在、体外で始原生殖細胞から成熟卵子を分化させる技術はマウス以外では報告されていないが、今後さまざまな哺乳動物において体外で成熟卵子を作出する可能性が示されたと言えるだろう。

- 1) Cross, P. C. and Brinster, R. L.: *Biol. Reprod.*, **3**, 298 (1970).
- 2) Eppig, J. J. and Schroeder, A. C.: *Biol. Reprod.*, **41**, 268 (1989).
- 3) Eppig, J. J. and O'Brien, M. J.: *Biol. Reprod.*, **54**, 197 (1996).
- 4) Morohaku, K. *et al.*: *J. Reprod. Dev.*, **62**, 1 (2016).
- 5) Morohaku, K. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 9021 (2016).
- 6) Hikabe, O. *et al.*: *Nature*, **539**, 299 (2016).

著者紹介 ¹信州大学学術研究院農学系（助教）

²東京農業大学バイオサイエンス学科（教授） E-mail: ylobata@nodai.ac.jp