

## 哺乳動物の精子形成を体外で観察する

松村 貴史

2020年7月、F1（フォーミュラワン）運営組織の元最高責任者であるバーニー・エクレストン氏が89歳で父親になったニュースが世間を騒がせた。ギネスブックによると、世界最高齢で父親になった男性は96歳で、彼は94歳の時にも子供を授かっている。

男性が生涯にわたって精子を作ることができるのは、緻密に制御された精巣内環境と、精細管内に存在する精子幹細胞のおかげである。この幹細胞を起点として生殖細胞は、減数分裂やダイナミックな構造変化を経て精子へと分化する。精子形成のメカニズムは、主には固定した精巣の組織学的観察により解析されてきた。だが、ヒトでは74日、マウスでも35日かかる生殖細胞の分化を正確に理解するには、時間を越えて細胞の挙動を追える実験系が必要である。たとえば、Yoshidaらのグループは、麻酔下にある生きたマウスの精巣で、数日間にわたる精子幹細胞のイメージングに成功し、幹細胞が精細管内を活発に動き回る様子や、その局在が精細管を取り巻く血管系と相関することを可視化した<sup>1)</sup>。これらの観察は、精子幹細胞が増殖と分化のバランスを保つ機構に関するその後の重要な発見につながっている。その一方で、数週間、数か月と、より長期にわたって精子形成を体外で観察するためには不可欠な、体外での精子形成誘導系も大きな発展を見せている。

体外で精子形成を再現するための最初の試みは、おそらく精巣組織片の培養実験であり、1920年頃に遡る。初期には組織片は動物の凝血塊上で培養されたが、1960年代に培地に浸したアガロースゲル上での組織培養法が登場し、さまざまな生理活性物質を用いた培養の検討が行われた。中でもSteinbergerらの貢献は大きく、いくつかのビタミンとグルタミンを添加した培地を用いて未分化なラット生殖細胞を減数分裂中期まで分化させることに成功した。しかし、それから1970年代までに多くの研究が行われたが、生殖細胞が減数分裂を完了することはなく、当時は精巣組織培養の限界であると考えられた<sup>2)</sup>。

その後、精子形成を体外で再現する試みは細胞培養で盛んに検討されていたが、2010年Ogawaらのグループは、精細管の微小環境を重視する考えから、分化した生殖細胞が蛍光で標識されるトランスジェニックマウスを用いてSteinbergerらの器官培養法の追試を行った。そ

の結果、ウシ胎仔血清（FBS）を加えた基礎培地中で、わずかながら減数分裂を完了した半数体が精巣内に産生されることを報告した。そしてその翌年、FBSの代わりに血清代替物であるKnockOut Serum Replacement（KSR）を用いることで遂に、未分化なマウス生殖細胞を妊孕能（子供をつくる能力）のある精子に分化させることに成功した。現在までに、培養法は改良が続き、6か月以上も体外で精子形成を維持することが可能となっている。しかし、生体内環境と比較すると精子の産生効率は未だ著しく低く、マウス以外の動物種では機能的精子を誘導できていないことや、KSRに含まれる精子形成に必須な因子の同定といった課題も多く残っている<sup>3)</sup>。

組織培養とは異なるアプローチでは、2003年にShinoharaらが体外で精子幹細胞を培養することに成功した。樹立された細胞株（GS細胞）は精子幹細胞の自己複製メカニズムを解析するツールとして広く使われており、60か月にもわたる培養からは、精子幹細胞が老化する機構の一端も明らかになった<sup>4)</sup>。さらに近年では、マウスやヒトの多能性幹細胞から生殖細胞のもととなる始原生殖細胞様の細胞（PGCLCs）へと分化させる手法も確立された。雌側では2016年に一足早く、マウスES/iPS細胞からPGCLCsを経て機能的な卵子までを体外で分化誘導する系が報告されている<sup>5)</sup>。雄側ではGS細胞やPGCLCsを精子へと分化させるためには生体精巣への移植が必要であるが、今後移植を介さない分化誘導の手法が確立されていくだろう。

組織培養法や細胞培養法がさらに改良され、時にはこれらの手法が組み合わさることにより、精子形成のメカニズム解明だけでなく、不妊治療や生殖毒性試験といったさまざまな分野への応用が期待される。

- 1) Yoshida, S. *et al.*: *Science.*, **317**, 1722 (2007).
- 2) Jégou, B. *et al.*: *Assisted Reproductive Technology: Accomplishments and New Horizons* (De Jonge, C. J. and Barratt, C. L. R. ed.), p. 3, Cambridge University Press (2003).
- 3) Komeya, M. *et al.*: *Reprod Med Biol.*, **17**, 407 (2018).
- 4) Kanatsu-Shinohara, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 16404 (2019).
- 5) 林 克彦: *生化学*, **90**, 533 (2018).