

第19回 麻布大学 生殖・発生工学セミナー

卵母細胞の体外発育

平尾雄二

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門 家畜育種繁殖研究領域

哺乳類の卵母細胞を体外で自由自在に発育させることができれば、生産した卵子の利用という実利面と、培養系なればこそ解明できる卵形成メカニズムの追究という学術面での強力なツールとなる。それらのうち、卵子を生産して純粋に卵子として利用することについては、未だその時代は到来していない。一方、学術面では、近年ようやく研究ツールとして実装される段階に入ったといえる。

これまでにも、生体内のある現象を体外発育培養を使って検証する研究はいくつもあったが、2015年にマウス卵子の減数分裂で働く遺伝子を特定するためにPfenderら[1]が行った二次卵胞の培養とRNAiを使ったライブイメージングスクリーニングの組み合わせは、研究ツールとしての体外発育が新たな展開を迎えていることを示した。マウスでは今後このような報告が増えていくことが期待される。というのも、従来はマウス新生仔の原始卵胞が体外発育の最も早い段階の材料であったが[2]、最近ついに12.5日齢のマウス雌胎仔の生殖腺に含まれる始原生殖細胞を出発点の材料とし、約1ヶ月の培養で正常な発生能を有する卵子を作出することが可能となったためである[3]。さらには、ES細胞やiPS細胞に由来する始原生殖細胞様細胞からの卵子の作出も可能であることが明らかとなった[4]。単純に考えれば、ある操作が卵形成のその後のある過程に及ぼす影響を調べたい場合、「ある操作」を行う卵母細胞の発育段階も、その後の「ある過程」も、自由に選べることになったのである。類似の実験としては腎皮膜下や卵巣嚢への移植が該当するが、それらの実施には様々な制約を伴うことから、培養で代替できるメリットは計り知れない。

マウス以外で体外発育由来卵子から産仔が得られているのはウシに限られるが、その場合の培養開始時の発育段階は減数分裂の再開能を獲得する少し前の段階である。2週間の培養で作出される卵子は、体外受精はもちろんのこと[5]、その細胞質はクローンを作出するためのレシピエントとしての能力も備えている[6]。2週間の培養で調べることのできる内容については、その様な体外発育を実験に組み込む研究も増えている[7-9]。また、マウス以外の動物種では二次卵胞以前の卵胞培養については、いまだそのほとんどが卵母細胞ではなく卵胞の変化を調べたものである。

今後、研究用のツールとしての体外発育はマウスを中心として様々に展開されることが期待される。一方、より多くの人々が関心を寄せるとすれば、卵子の作成とその利用であろう。そのためにはマウス以外の動物種でも、原始卵胞や一次卵胞から卵子を作出することのできる培養系の開発が必要とされる。

REFERENCES

1. Pfender, S. *et al.* (2015) Live imaging RNAi screen reveals genes essential for meiosis in mammalian oocytes. *Nature* 524 (7564), 239-242.
2. O'Brien, M.J. *et al.* (2003) A revised protocol for in vitro development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence. *Biol Reprod* 68 (5), 1682-1686.
3. Morohaku, K. *et al.* (2016) Complete in vitro generation of fertile oocytes from mouse primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 113 (32), 9021-9026.
4. Hikabe, O. *et al.* (2016) Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line. *Nature* 539

- (7628), 299-303.
5. Hirao, Y. *et al.* (2004) In vitro growth and development of bovine oocyte-granulosa cell complexes on the flat substratum: effects of high polyvinylpyrrolidone concentration in culture medium. *Biol Reprod* 70 (1), 83-91.
 6. Hirao, Y. *et al.* (2013) Production of fertile offspring from oocytes grown in vitro by nuclear transfer in cattle. *Biol Reprod* 89 (3), 57, 1-11.
 7. Itami, N. *et al.* (2014) Age-associated changes in bovine oocytes and granulosa cell complexes collected from early antral follicles. *J Assist Reprod Genet* 31 (8), 1079-1088.
 8. Taketsuru, H. *et al.* (2012) Effect of androstenedione on the growth of bovine oocytes from early antral follicles. *Zygote* 20 (4), 407-415.
 9. Makita, M. and Miyano, T. (2015) Androgens promote the acquisition of maturation competence in bovine oocytes. *J Reprod Dev* 61 (3), 211-217.