平成２９年５月１３日
宮崎大学、理化学研究所
京都大学、滋賀医科大学、
北海道大学

絶滅危惧種のiPS細胞から卵子と精子

～進化に適応した細胞の柔軟性を発見～

ポイント

- 絶滅危惧種のアマミトゲネズミからiPS細胞を樹立
- アマミトゲネズミiPS細胞とマウスの異種間キメラを作製
- 絶滅危惧種一個体のiPS細胞から卵子と精子を作出することに成功
- XO型メスの細胞は卵子だけでなく精子にも分化できることを発見

哺乳類の雌雄は性染色体によって規定されています。メスならばXX型、オスならばXY型であり、オスになるためにはY染色体（の遺伝子）が必要不可欠です。

奄美大島のみに生息する国の天然記念物で絶滅危惧種のアマミトゲネズミ※1は、進化の過程でY染色体を失っており、極めて稀な性染色体構成をもつ（雌雄共にXO型※2）ため、ゲノムの雌雄差がほとんど見いだされていない、不思議な動物です。性決定様式や染色体構成、あるいは生物進化など様々な観点から、たいへん興味深い研究対象ですが、その希少性からアマミトゲネズミの直接解析は現実的でなく、多くの謎が未解明のままでした。

宮崎大学の本多 新（ほんだ あらた）博士らの研究チームは、メスのアマミトゲネズミ尾部先端の細胞からiPS細胞を樹立しました。その後、iPS細胞をマウスの胚※3に注入してマウスとの異種間キメラ※4を作製しました。アマミトゲネズミiPS細胞は、マウスとの異種間キメラとして成体の全身に寄与し、メスのキメラでは卵子に分化※5しました。さらに驚くべきことに、オスのキメラでは精子にも分化していたのです。一般的な哺乳類ではメスの細胞から精子は生じません。以上のことから、アマミトゲネズミの細胞はY染色体消失という進化により、卵子にも精子にも分化できる柔軟性を獲得していることが判明しました。また、今回の成果は、哺乳類における性決定進化を紐解くだけでなく、種の完全絶滅に備えるための一手段として、iPS細胞の活用が有効であることも示唆※6しています。

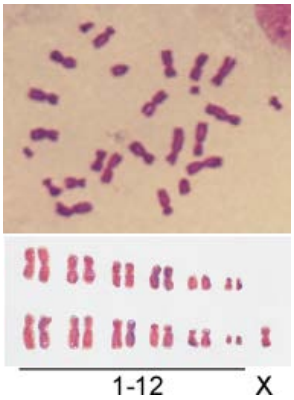
本研究は平成２９年５月１２日午後２時（米国東部時間）に、米国サイエンス誌「*Science Advances*」オンライン版に掲載されました。

背景

ヒトを含むほとんどの哺乳類は性染色体によってその雌雄が決定されます。性染色体はX染色体とY染色体から成り、性染色体がXX型ならばメスが、XY型ならばオスが生じます。つまりY染色体（の遺伝子）があるか否かでメスになるかオスになるかが決定します。しかしながら、Y染色体は進化の過程でどんどん退縮しており、X染色体に比べて小さくなっていることが知られています。もしも、このまま退縮していけば、将来Y染色体が消失してしまう可能性もあります。Y染色体が消失したその先の未来は誰にもわかりません。

アマミトゲネズミ
（*Tokudaia osimensis*）

- **奄美大島のみに生息**
- **ラットと同程度の大きさ**
- **絶滅危惧IB類(EN)に選定**
- **染色体型（2n=25, XO型）**



アマミトゲネズミ染色体標本
（性染色体がX染色体１本）

図１：絶滅危惧種アマミトゲネズミ

奄美大島に生息するアマミトゲネズミは、その進化の過程ですでにY染色体を失っており、雌雄共にXO（エックスオー）型という極めて珍しい動物です(図１）。つまり、X染色体一本で（Y染色体なしでも）オスが生じます。外見から雌雄は明確に判別できるものの、ゲノム間の雌雄差はほとんど見いだされておらず、哺乳類進化という観点ではるかに進んだ動物なのかもしれません（図２） 。たいへん興味深い研究対象ですが、森林伐採やノネコ・マングースの影響により個体数が激減し、レッドデータブック絶滅危惧種IBに選定されていることから、アマミトゲネズミを直接解析するような研究は非現実的です。

ほとんどの哺乳類

メス：XX　　オス：XY

Y染色体をもつことでオスが生じる

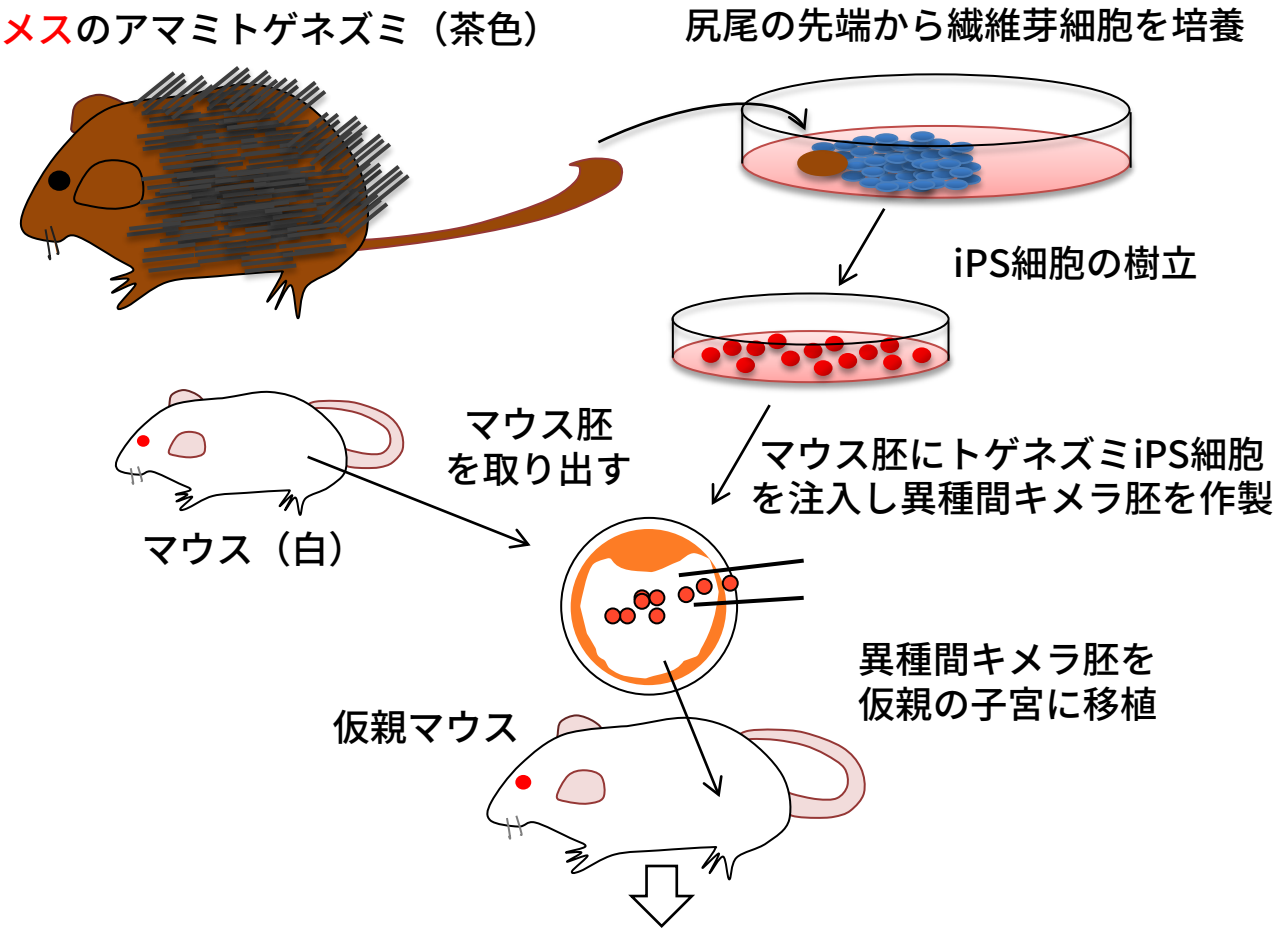
アマミトゲネズミ

メス：X　　オス：X

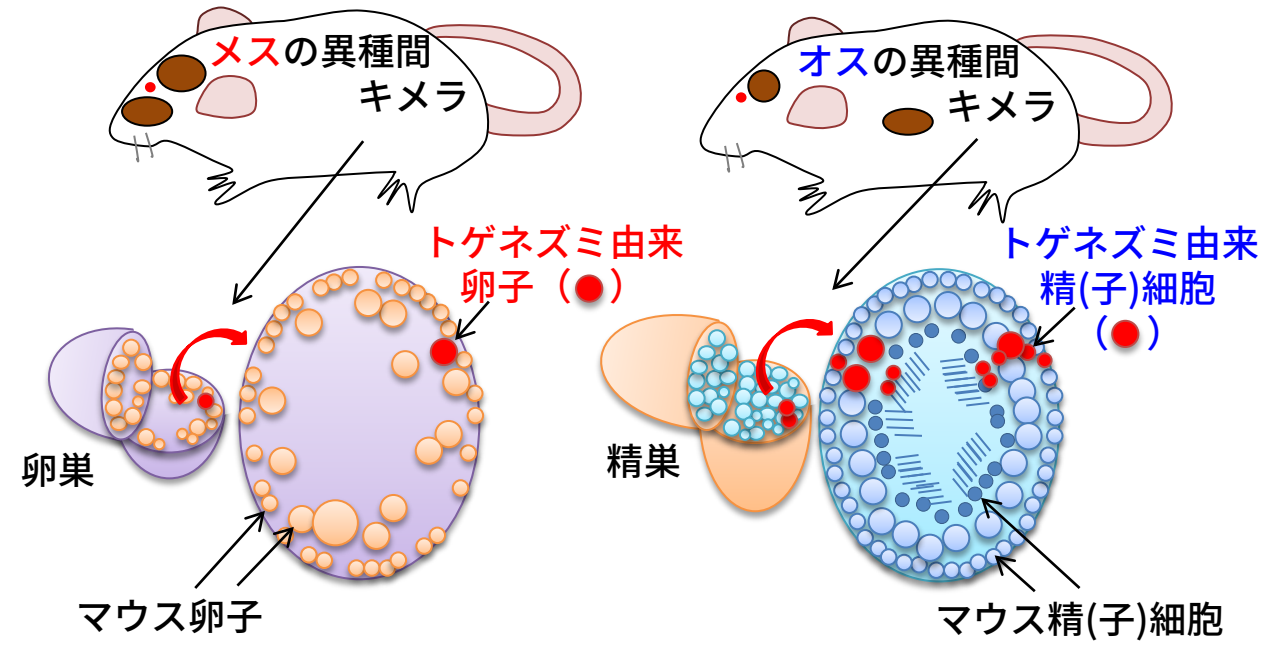
Y染色体がなくてもオスが生じる

図２：アマミトゲネズミ性染色体の不思議

研究の概要



マウスとアマミトゲネズミの細胞が混在している異種間キメラが誕生[注1]

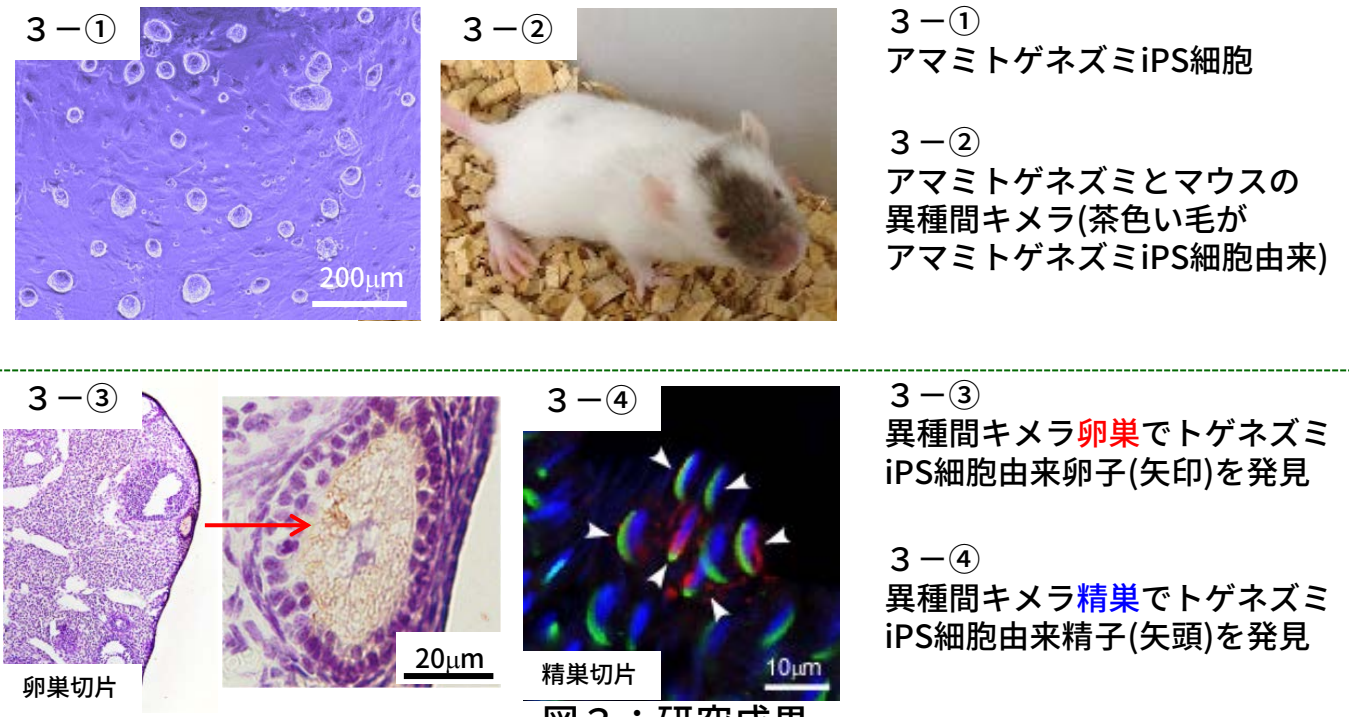


注１｜一般的に、生まれてくる異種間キメラの性別は、トゲネズミiPS細胞が注入される**マウス胚の性別に依存**します。オスのマウス胚にメスのiPS細胞を注入すれば、オスの異種間キメラが生まれ、メスのマウス胚に注入すればメスの異種間キメラが生まれます。

研究成果とその意義

研究チームは「稀少動物」という制限を克服するために、フィールド調査で得られたメスのアマミトゲネズミ尾部先端の細胞を増やし、最適なiPS細胞の培養条件の模索を重ねて、ナイーブ型※7のiPS細胞を樹立しました（図３－①）。次に研究チームは、アマミトゲネズミのiPS細胞を体に含むキメラ動物の作製に挑みました。もしもアマミトゲネズミiPS細胞がキメラとして個体の様々な細胞や組織に分化すれば、アマミトゲネズミの細胞に特徴的な生体内挙動を捉えられるからです。しかしながら、絶滅危惧種の胚や仮親は用意できないため、マウスを用いてアマミトゲネズミとの異種間キメラを作製しました。メスのアマミトゲネズミiPS細胞は、異種間キメラとして成体の全身に寄与しただけでなく（図３－②）、卵巣では卵子に分化していました（図３－③）。

これまで、マウスとラット以外のiPS細胞がキメラとして成体に寄与し生殖細胞にまで分化した例はなく、また絶滅危惧種の細胞を体に含む個体が作製されたのも世界で初めてです。さらに驚くべきことに、メスのアマミトゲネズミiPS細胞がオスのキメラに寄与した場合、精子にも分化していました（図３－④）。



３－①
アマミトゲネズミiPS細胞

３－②
アマミトゲネズミとマウスの異種間キメラ(茶色い毛がアマミトゲネズミiPS細胞由来)

３－③
異種間キメラ卵巣でトゲネズミiPS細胞由来卵子(矢印)を発見

３－④
異種間キメラ精巣でトゲネズミiPS細胞由来精子(矢頭)を発見

図３：研究成果

一般的にマウスなどではメスのiPS細胞が精子に分化することはありません。精子として維持されるためにはY染色体（の遺伝子）が必要不可欠だからです。しかし、Y染色体がなくてもオスが生じるように進化したアマミトゲネズミは、メスの細胞でも精子に分化できることが判明しました。

また、本研究ではもう一つ大きな示唆が得られました。現在、地球は深刻な生物の絶滅期にあり、その多様性が脅かされています。もしも種が完全絶滅してしまえば、そこからの生物資源復活は容易ではありません。研究チームは、絶滅危惧種一個体のiPS細胞から卵子と精子を生じさせることに成功しています。種の完全喪失の備えとしてiPS細胞が非常に効果的であることも証明されました。

今後の展開

●アマミトゲネズミiPS細胞を『体外』で効率良く卵子や精子に分化誘導する

アマミトゲネズミとマウスの異種間キメラでは、体に含まれるアマミトゲネズミ細胞の割合がマウス細胞に比べて少ないことが判明しています。特に卵子や精子に分化したアマミトゲネズミ細胞はごくわずか（全体の0.29～0.03%）でした。今後は、体外で効率良くアマミトゲネズミの卵子や精子を分化誘導します。

●XX型、 XO型、 OO型の胚発生を追跡する

将来、体外で効率良く卵子や精子が作られるようになれば、体外受精や顕微受精などにより、 XX型、 XO型、 OO型のアマミトゲネズミ胚を得ることができます。それらの胚がどのような発生運命をたどるのか解析できます。

●性決定機構を発生工学的に解析する

アマミトゲネズミの細胞は卵子にも精子にも分化できる柔軟性がありましたが、アマミトゲネズミの卵巣や精巣がいつどのように発生するのかは未知のままです。今後はアマミトゲネズミの生殖巣がどのように決定されるのか、iPS細胞と発生工学を駆使して調べるような研究も期待されます。

●他の絶滅危惧動物種に適用する

本研究では世界で初めて絶滅危惧種由来の細胞を体に含む個体や、その生殖細胞の作製に成功しました。今後は他の絶滅危惧種への適用も期待されます。

論文情報

Arata Honda, Narantsog Choijookhuu, Haruna Izu, Yoshihiro Kawano, Mizuho Inokuchi, Kimiko Honsho, Ah-Reum Lee, Hiroki Nabekura, Hiroshi Ohta, Tomoyuki Tsukiyama, Yasuhide Ohinata, Asato Kuroiwa, Yoshitaka Hishikawa, Mitinori Saitou, Takamichi Jogahara, Chihiro Koshimoto.
Flexible adaptation of male germ cells from female iPSCs of endangered *Tokudaia osimensis*. *Science Advances* (2017) 3: e1602179

用語解説

※１『アマミトゲネズミ』鹿児島県の奄美大島のみに生息するトゲネズミ属の一種で、国指定天然記念物です。森林伐採やノネコ・マングースによる影響で個体数が激減し、環境省のレッドデータブックでは絶滅危惧IB類に選定されています。

※２『XO（エックスオー）型』ヒトを含むほとんどの哺乳類は性染色体構成が雌/雄＝XX/XY型です。Y染色体があればオスに、Y染色体がなければメスとして生まれてきます。一方、アマミトゲネズミは雌雄共にX染色体が１本のみという性染色体構成であり、そのような性染色体構成のことをXO型と呼びます。

※３『胚』母体内で成長する胎仔（たいじ）のこと。特に本研究では着床する前のマウス胎仔（初期胚）にアマミトゲネズミのiPS細胞を注入しています。

※４『異種間キメラ』キメラとは一つの個体内に異なる遺伝情報をもつ細胞が混ざりあった状態、あるいはその個体のことをいいます。異種間キメラとはマウスとラットなど、別の動物種の細胞が混ざり合った一つの個体のことを意味し、これまでiPS細胞で作製された異種間キメラで、成体にまで成長したのはマウスとラットの異種間キメラのみです。

※５『分化』iPS細胞などの多能性幹細胞は様々な細胞に変化する能力をもっています。幹細胞が他の細胞に変化することを「分化」といいます。本研究では、マウスの初期胚に注入したトゲネズミiPS細胞が、異種間キメラ胎仔として発生する過程で、全身の細胞だけでなく卵子や精子にも分化しました。

※６『iPS細胞樹立から貴重な生物資源の保存へ』本研究では絶滅危惧種アマミトゲネズミのiPS細胞から卵子と精子を生じさせることに成功しました。今後は他の絶滅危惧種への展開も期待されます。しかし、iPS細胞から卵子や精子を作製し、さらに個体を作出するのは、現在の技術では非常に困難です。この実現にはさらなる研究の発展が必要不可欠です。また、もしも将来個体が作出されたとしても、その個体は貴重な生物資源として厳重に管理された屋内環境などでのみ、復活・飼育されるべきです。そのような個体を野生に放つような展開は、野生個体群への新たな悪影響を与えかねないため、現段階では絶対に行われるべきではありません。絶滅危機への最も有効な手段は生息域内での保護活動に他なりません。

※７『ナイーブ型』iPS細胞などの多能性幹細胞は二つのタイプに分類することができます。ナイーブ型とプライム型です。ナイーブ型ならば、キメラ動物や生殖細胞を作ることができますが、真のナイーブ型iPS細胞はマウスとラット以外からは樹立されていません。一方、ヒトを含む多くの哺乳類のiPS細胞はプライム型であるため、キメラや生殖細胞を作ることが困難と考えられています。本研究ではマウスとラットに次ぐ３例目としてアマミトゲネズミから真のナイーブ型iPS細胞の樹立に成功しました。

共同研究グループ

宮崎大学

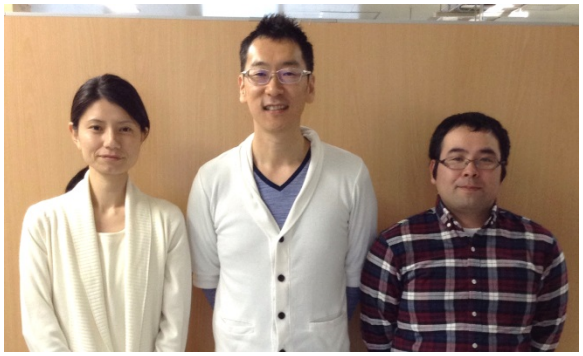
本多新、Narantsog Choijookhuu、伊豆美奈、河野好裕、本勝希実子、
猪口瑞穂、Ah-Reum Lee、鍋倉弘樹、菱川善隆、城ヶ原貴通、越本知大

理化学研究所
本多新、大日向康秀

京都大学
大田浩、斎藤通紀

滋賀医科大学
築山智之

北海道大学
黒岩麻里



（左から）伊豆美奈、本多新、河野好裕

研究資金

本研究成果は、以下の事業・研究課題によって得られました。

科学研究費補助金・基盤研究（B）
課題名：iPS細胞とゲノム編集技術による難治性疾患克服モデルの構築
代表者：本多　新（平成２７年度～平成２９年度）

科学研究費補助金・挑戦的萌芽研究
課題名：胚盤法補完法を用いたウサギ/サル異種間キメラ動物の作製
代表者：本多　新（平成２７年度～平成２９年度）

戦略的創造研究推進事業（さきがけ）「iPS細胞と生命機能」
課題名：「ウサギを用いたiPS細胞総合（完結型）評価計の確立」
代表者：本多　新（平成２１年１０月～平成２５年３月）

科学技術人材育成補助金 テニュアトラック普及・定着事業
テニュアトラック個人選抜型研究予算
課題名：複数種の実験動物でマウスとヒトの種間差を補う
　　トランスレーショナルリサーチの構築」
代表者：本多　新（平成２４年１０月～平成２７年３月）

公益財団法人自然保護助成基金　プロ・ナトゥーラ・ファンド助成（南西諸島枠）
課題名：南西諸島の固有小型絶滅危惧哺乳類
　　（トゲネズミ・ケナガネズミ）の保全調査
代表者：城ヶ原　貴通（平成２４年１０月～平成２６年９月）

科学研究費補助金・基盤研究 (C)
課題名：日本固有種と欧州種が並在する独創的な野生由来アカネズミ属
バイオリソースの質的評価
代表者：越本　知大（平成２６年度～平成２９年度）

戦略的創造研究推進事業　総括実施型研究（ERATO）
課題名：斎藤全能性エピゲノムプロジェクト
代表者：斎藤　通紀（平成２２年１０月～平成２９年３月）

問い合わせ先

研究に関すること
宮崎大学　テニュアトラック推進機構　本多研究室
本多　新
Tel/Fax: 0985-85-9866
E-mail: a-honda@med.miyazaki-u.ac.jp
研究室HP：http://www.cc.miyazaki-u.ac.jp/maruhon/index.html

報道担当
宮崎大学　企画総務部　広報・渉外課
Tel: 0985-58-7114/ Fax: 0985-58-2818
E-mail: kouhou@of.miyazaki-u.ac.jp

理化学研究所　広報室
Tel: 048-462-9272/ Fax: 048-462-4715
E-mail: ex-press@riken.jp

京都大学　広報室
Tel: 075-753-2071
E-mail:kohho52@mail.adm.kyoto-u.ac.jp
kikuchi.noel.4e@kyoto-u.ac.jp (菊池　乃依琉)

滋賀医科大学　企画（IR担当）課
E-mail: hqkouhou@belle.shiga-med.ac.jp

北海道大学　総務企画部広報課
広報・渉外担当
〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目
Tel: 011-706-2610/ Fax: 011-706-2092
E-mail: kouhou@jimu.hokudai.ac.jp