

**【目的】** 生殖細胞系譜は次世代に遺伝情報を伝達し、生物進化の連続性を担う基幹的役割を担うことから、その系譜分化の機構究明は進化生物学・発生学上の重要課題とされてきた。近年、マウス多能性幹細胞から生殖系列細胞を誘導し産仔形成能をもつ機能的配偶子が作出されたという成果 (Hayashi et al, Cell 2011、Hayashi et al., Science 2012、Hikabe et al, Nature 2016) は、「多能性幹細胞からの *in vitro* での配偶子形成」という革新的生殖技術に繋がり、ヒト ES/iPS 細胞についても *in vitro* 配偶子形成研究の新領域を拓いた。しかし、マウス (齧歯類) と霊長類の生殖発生の機序には明確な進化的隔差があり、ヒト生殖医療への応用を踏まえた場合、実験的検証を可能とする非ヒト霊長類の細胞を用いた培養系の開発が求められていた (図)。

**【方法】** そこで本研究では、1年という限られた期間ながら、小型霊長類のコモンマーモセットを対象として、多能性幹細胞から生殖系列細胞、生殖幹細胞からの配偶子分化を *in vitro* で再現する培養系の確立を目標とし、ヒトでは倫理的に不可能である正常産仔形性能という機能的検証を行う事を目指した。

**【結果】** 報告者はこれまでに、マーモセット多能性幹細胞における高効率なノックイン型遺伝子改変系の確立や、将来的な多能性幹細胞からの配偶子誘導に向けた“Transgene-free”マーモセット iPS 細胞の樹立、始原生殖細胞様細胞 (Primordial germ cell-like cells : PGCLCs) の分化誘導法の確立を行った。まず多能性幹細胞からの生殖系列細胞分化を可視化する 3 種類の蛍光レポーター-BLIMP1-Venus (BV : 始原生殖細胞マーカー)、STELLA-Cerulean (SC : 多能性幹細胞及び成熟生殖細胞マーカー)、VASA-tdTomato (VT : 成熟生殖細胞マーカー) をマーモセット ES/iPS 細胞に導入した。さらに、これらの細胞において始原生殖細胞の分化に関わるサイトカイン (Activin-A, BMP4 等) の処理及び遺伝子 (SOX17, BLIMP1) の強制発現を組み合わせることで、BV 強陽性の PGCLCs の出現を認め、これらの細胞の RNA-seq 解析によって、生殖細胞特異的な遺伝子発現を示す細胞特性を明らかにした。マウスやヒト多能性幹細胞を用いた研究において (Hikabe et al, Nature 2016、Yamashiro et al, Science 2018)、PGCLCs の成熟・減数分裂、機能的配偶子の誘導には、同種の胎児生殖巣由来体細胞 (GSCs) との共培養が必要とされた。しかしながら、胎児の霊長類に由来する組織はマーモセットに限らず極めて希少性が高く、その検証は今まで実施困難であった。そこで本研究においては、所属先の九州大学のグループで開発された、多能性幹細胞から生殖単体細胞系列の誘導による“胎児組織に依存しない配偶子誘導法”を検討するために、GSC レポーター系の確立を行った。

非ヒト霊長類を用いた生殖細胞誘導研究の意義

