



UNIVERSITY
OF
YAMANASHI

平成 26 年 7 月 30 日
国立大学校法人山梨大学

世界初、宇宙で保存したマウス精子から産仔作出に成功

ー人類は宇宙で繁栄できるかー

本研究のポイント

- マウスの精子を、国際宇宙ステーション・「きぼう」日本実験棟で長期保存
- 保存後に回収し、世界初の宇宙保存精子由来のマウス（宇宙マウス）を誕生させた
- 継続実験にて、宇宙放射線に対する生殖細胞への影響を明らかにする

山梨大学（前田秀一郎学長）は、フリーズドライにしたマウスの精子を昨年 8 月 4 日に H-IIB ロケット 4 号機/宇宙ステーション補給機「こうのとり」4 号機で打ち上げ、国際宇宙ステーション（ISS）・「きぼう」日本実験棟で長期保存し、宇宙放射線が次世代にどのような影響を与えるかを調べる実験を行っています。このほど、最初の長期保存したマウスの精子が回収され、この宇宙保存精子から健康なマウスの産仔を得ることに世界で初めて成功しました。これは、生命環境学部生命工学科の若山照彦教授、若山清香特任助教、水谷英二助教、宇宙航空研究開発機構の矢野幸子主任開発員、有人宇宙システム株式会社の長田郁子副主任技師、多田基紀副主任技師、一般財団法人日本宇宙フォーラムの鈴木ひろみ研究員、嶋津徹主任研究員らによる共同研究であり、プロジェクト名は「Space Pup」です。

将来月面基地やスペースコロニーなどが建設された場合、宇宙空間では人類だけでなく動物の生殖・繁殖も必要になると考えられ、それに関する基礎実験を行う必要があります。しかし、従来の技術では宇宙で哺乳類の生殖に関する実験を行うことは出来ませんでした^{*1}。今回、我々は精子をフリーズドライ状態で保存する技術^{*2}を用いて、マウス精子を ISS へ運び長期保存する実験を開始しました。打ち上げたマウス精子は、「きぼう」内で最長 3 年間保存したのち 3 回に分けて地上へ回収後、当研究室にて宇宙保存精子由来の産仔を作出し、宇宙放射線が精子に与える影響を調べます

このほど 9 カ月間 ISS 内で保存されていた精子が地上に回収され、卵子との受精能や精子の DNA 損傷度などが、同一条件で保存しておいた地上対象区と比較されました。その結果、宇宙保存精子は 9 カ月間宇宙放射線にさらされていたにもかかわらず、顕微授精^{*3}によって大部分の卵子が受精し、実験に用いた 4 系統のマウスすべてから合計 57 匹の産仔を得ることに成功しました。地上対照区と比較しても出産率に有意な差は見られませんでした。今後は、生まれてきた宇宙保存精子由来マウス（宇宙マウス）が正常かどうか、妊性や子孫への影響、寿命、網羅的遺伝子発現解析^{*4}などを行って調べる予定です。来年以降に回収予定の 2-3 年間保存した精子についても同様に実験を行い、今回の結果と比較する予定です。

この実験によって、生殖細胞が長期間宇宙放射線にさらされた場合の影響、特に次世代へ遺伝子変異などの悪影響が生じるかどうかは初めて明らかになると考えられます。

1. 背景

宇宙空間での生殖に関する研究は魚類や両生類で盛んに行われ、それらの動物種は微小重力環境でも問題なく繁殖可能なことが確かめられています。ところがほ乳類の生殖に関する研究は、妊娠後期における微小重力の影響について調べられているだけであり、受精及び初期発生についての研究はほとんど行われていません。なぜなら、ほ乳類は環境の変化に敏感であり、せつかく宇宙へ運んでも交尾をしない可能性が高いこと、つまりリスクファクター（実験に失敗する可能性）の高さが、哺乳類の生殖実験を阻んできました。実際に宇宙でラットの繁殖を試みた実験では、宇宙どころか地上のコントロール実験でも繁殖行動をせず失敗しています。

一方、動物を打ち上げる代わりに生殖細胞を用いた研究も提案されましたが、ほ乳類の生殖細胞は小さすぎるため顕微鏡を使わなければ扱うことができず、微小重力環境下で宇宙飛行士による実験はほぼ不可能です^{*1}。しかも受精卵の培養器内での発生可能な期間はわずか4日間しかなく、それ以降は手術により雌マウスの子宮へ移植しなければならないのですが、宇宙での手術の実施は当面不可能です。未受精卵に至っては、その寿命はわずか半日しかありません。

生殖細胞を凍結すれば超低温冷凍庫で保存可能ですが、卵子の凍結技術はいまだ開発途上で、解凍には顕微鏡下での高度な熟練技術が必要です。また、現時点では生物サンプルの輸送・回収には温度管理の条件の制約があり、生殖細胞を宇宙へ運ぶことは難しく、そのため、哺乳類の生殖に関する宇宙実験は、進んでいないのが現状です。

そこで我々は、宇宙環境を再現できる疑似無重力模擬装置^{*5}を用い、哺乳類の受精および初期発生における無重力の影響を調べてきました。その結果、驚いたことにはほ乳類の初期胚は疑似無重力環境下では胎盤の形成が困難になり、その後子宮へ戻しても産仔への発育率は大きく低下してしまうことがわかりました (Wakayama. S et al. PloS One 2009、2009年8月21日ごろの新聞各紙で報道されました)。もしこの結果が宇宙でも事実なら、ほ乳類は宇宙での生殖・繁殖が不可能ということになってしまいます。そのため宇宙ステーション（および「きぼう」）を利用した実際の宇宙環境下で実験を行うことが必須なのですが、上記の理由から実現できていませんでした。

一方我々は、長年精子の保存方法に関する研究をしてきました。なかでも精子をフリーズドライ状態にして保存する技術^{*2}は、精子の室温保存を初めて可能にした画期的な論文として発表されました (Wakayama and Yanagimachi Nature Biotech 1998。雑誌の表紙を飾っている)。この技術を用いれば、宇宙実験で最大の弱点となっていた生殖細胞の室温での宇宙への運搬と回収、および長期保存の問題を同時に解決できるはずでした。

2. 研究方法と期待される成果

(1) 打ち上げた試料の種類

遺伝的背景の異なるマウス4系統 (BDF1、BCF1、B6およびGFPTgマウス) から2-4匹、合計12匹の雄マウスを用い、個体ごとに24本フリーズドライ精子のアンブルビンを作りました。それらのアンブルビンを、宇宙保存用および地上保存用 (対照区) で、それぞれ短期間保存 (9か月)、1.5年間保存および2-3年間保存用の合計6箱に分けました。各箱には各個体につき4アンブルビンで12個体分、計48本入っています。

(2) 宇宙保存の実施

アンプルビンの入った箱は8月4日に種子島宇宙センターからH-II Bロケット4号機で打ち上げられました。9か月保存区はアメリカのスペースX社のドラゴン補給船運用3号機にて本年5月19日に国際宇宙ステーションから地上に回収されました。残りの2箱も保存予定期間終了後に順次ドラゴン補給船にて回収する予定です。

(3) 回収した精子への宇宙放射線の影響について

回収された精子は、長期間保存による宇宙放射線の影響を調べるために、以下の実験を行い地上保存区（対象区）と比較します。1. 精子核のDNAの損傷度を調べます（コメットアッセイなど）。2. マイクロマニピュレーターを用いて精子を卵子へ注入します（顕微授精^{*3}）。卵子が受精反応を示せば、宇宙保存精子が正常な受精能を有しているのか確認できます。3. 受精が確認できたら、初期発生（胚盤胞までの発生）を確認し、次いで宇宙保存精子から世界初の宇宙マウスの作出を試みます。4. 宇宙マウスの作出に成功したら、宇宙放射線の次世代への影響を調べるために、健康状態や妊性（繁殖能）、寿命、網羅的遺伝子発現^{*4}などを調べます。

(4) 今回の成果

本年5月19日に宇宙ステーションの「きぼう」で9か月間保存されていた精子が回収され、29日にJAXA（つくば）でロケットによる打ち上げ時の振動の影響、回収時の着水の影響などが調べられましたが、保存状態は良好でアンプルビンの破損は見られませんでした。そこで山梨大学へ持ち帰り、直ちに顕微授精およびコメットアッセイを行い、精子への宇宙放射線の影響を調べました。その結果、精子核への影響、受精率、および出産率への宇宙放射線の影響は見られませんでした。産仔は4種類のマウスすべてから現時点で合計57匹生まれており、一部は網羅的遺伝子解析を行い、残り飼育を続け繁殖能力や寿命を調べます。

3. 今後の期待

今回は9か月間という比較的短期間保存の結果ですが、宇宙放射線の生殖細胞への影響は見られませんでした。長期間保存でも影響がないことが確認できたら、「ノアの箱舟」など将来の可能性につながります。また我々は、宇宙飛行士が取り扱い容易な初期胚の自動解凍装置の開発を行っており、本当の宇宙でマウス初期胚の培養実験を行いたいと思っています。

関連Webページ <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/second/spacepup/>

（問い合わせ先および詳細な資料請求）

山梨大学生命環境学部生命工学科

教授 若山 照彦（わかやま てるひこ）

特任助教 若山 清香（わかやま さやか）

TEL : 055-220-8826 FAX : 055-220-8827

e-mail: sayakaw@yamanashi.ac.jp

<補足説明>

※1 これまで技術的に難しかった哺乳類の宇宙での生殖実験をフリーズドライ技術で実現

1. 長期間のサンプル輸送に対応

現在、サンプル試料は、ロケットへの積み込みから ISS 到着まで 2 週間程度に対応できるよう要求されています。生きた生殖細胞の胚をそのまま輸送することは難しいため、今回、若山教授のフリーズドライの技術を生かしました。

2. ISS の冷凍庫(-80℃)にも対応

地上では、卵子や精子は液体窒素 (-196℃) で長期間保存されますが、ISS の冷凍庫はドライアイス程度の低温 (-80℃) のため、卵子や精子が溶けてしまう可能性があります。

3. 複雑な実験操作が不要

卵子や初期胚は 0.8mm 程度の大きさのため、その取扱いは高度な専門技術が必要となります。フリーズドライ精子を扱うことで、宇宙飛行士の作業を効率よく行うことができます。

※2 フリーズドライ精子

精子はフリーズドライ状態にすると、数か月間なら常温保存が可能になります。ただし細胞としては死んでしまうため、受精させるためにはマイクロマニピュレーターで卵子に直接注入しなければなりません。我々が 1998 年に世界で初めて成功した技術です。

※3 顕微授精

マイクロマニピュレーターで精子を卵子内へ直接注入して受精させる方法。奇形精子や死滅精子などからでも産仔を作出できます。フリーズドライ精子はすべて死んでしまうため、顕微授精しなければ子供を作ることはできません。

※4 網羅的遺伝子解析(DNA マイクロアレイ)

小さなガラス板上に、人工的に合成した多数の 1 本鎖 DNA 断片を貼り付けたもの。細胞から複雑な処理を経て調製し、蛍光色素をつけた RNA (リボ核酸: DNA から転写されて、タンパク質を作る基になるもの) をこの DNA 断片が張り付いているガラス板上に加えます。結合した RNA の蛍光を測ることで、一度に多数の遺伝子の発現量を調べることができます。

※5 疑似無重力模擬装置

培養装置内で培養フラスコを 3 次元に回転させることで重力方向をかく乱する、3D-クリノスタットという装置。培養細胞を利用した実験では、この装置による結果は実際の宇宙で行った実験と同じになることが確かめられているが、初期胚でも同じ結果になるかは実際に宇宙で実験が行われていないため不明です。

※6 宇宙放射線の被曝について: ISS 滞在時の被曝線量は 1 日当たり 0.5-1 ミリシーベルトであり、地上での約半年分に相当する。<http://iss.jaxa.jp/med/research/radiation/>

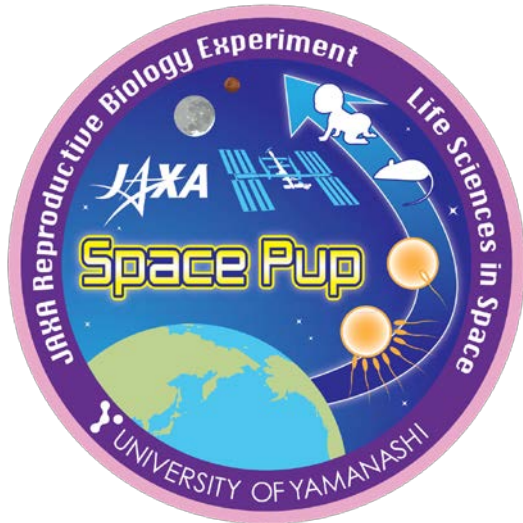


図1. 本プロジェクトのために作られたデカール (ステッカー)

本プロジェクト名は JAXA Reproductive Biology Experiment (宇宙生殖生物学実験)、略称は Space Pup です



写真1



写真2

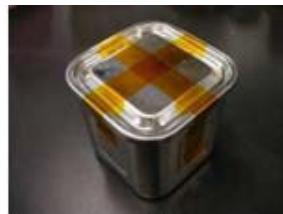


写真3



写真4

図2. 宇宙へ持って行く予定のフリーズドライ精子

アンプルビン内に粉上になったフリーズ精子が入っている。それぞれのアンプルビンに破損防止用テープを巻き、小さな金属製の箱に 48 本詰め込む。この箱を 3 つ宇宙ステーションへ運び、2-3 年間保存する



図3. 種子島へ運んだフリーズドライ精子。左側が打ち上げ用の 3 箱。右側が地上対照群の 3 箱。どの箱にも同じ 12 匹のマウスから作られたフリーズドライ精子が 48 本入っている。

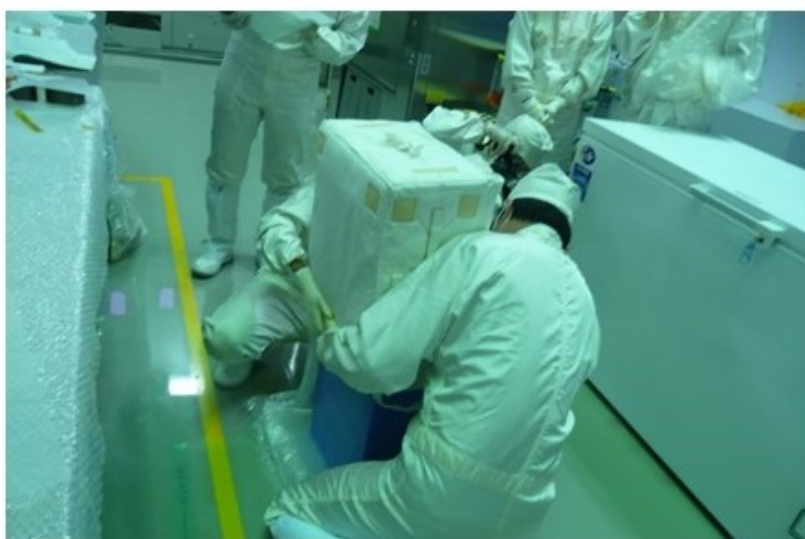


図4. 宇宙へ打ち上げる試料を梱包している様子。上、中：種子島の JAXA の施設内で、3 箱の打ち上げ用試料は、この実験のために特別に制作された保冷箱及び保護箱に詰められた。下：H2B ロケットの先端（後ろに見える白い円錐状のも）に試料が収納された。

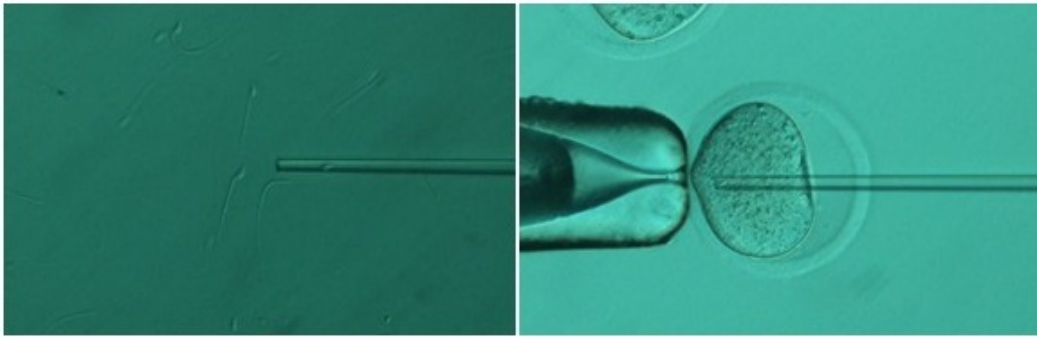


図5 宇宙から回収した試料と世界初の宇宙マウス。上：回収した宇宙保存精子のアンプルピンに損傷がないか1つずつ丁寧に確認。中：顕微授精の様子。下：宇宙保存精子から生まれた世界初の哺乳類（宇宙マウス）。生後1週間目（中央の7匹）。右上はホスターマザー