

宇宙での哺乳類繁殖の可能性を探る研究動向調査

山梨大学 教授 若山 照彦

地球上の生物が宇宙で生殖可能かどうかは重要なテーマであり、これまでイモリやメダカを用いて研究が進められてきた。しかし胎盤を形成してメスの子宮内で発育するという独特な生殖手段をとる哺乳類については、飼育の難しさから宇宙での生殖実験はほとんど行われていない。以前、我々は、疑似微小重力再現装置（3D-クリノスタット）を用いてマウス初期胚の発生における重力の影響を調べた。その結果、疑似微小重力環境下ではマウス初期胚は胎盤への分化が抑制され、出産率が大きく低下してしまうことが明らかになった。もし本当に初期発生および胎盤形成に重力が必要だとしたら、人類を含む哺乳類は宇宙では繁栄できないことになる。

そこで本研究では、凍結したマウス 2 細胞期胚を国際宇宙ステーションへ打ち上げ、微小重力環境下で解凍し 4 日間培養を試みる。そして 2 細胞期胚が胚盤胞へ発生するのか、発生した場合、胚の発育速度は正常なのか、胎児側と胎盤側への細胞分化が正しく起こるのかなどを調べる。最後に試料を回収し、網羅的遺伝子発現解析によって宇宙で発生させた胚の正常性を明らかにする。

宇宙ステーションでの実験は、我々が行って実験することが出来ないため、宇宙飛行士に実験を依頼することになる。宇宙飛行士が宇宙で胚を解凍し、数回洗浄後に胚を無重力で培養することで、胚の初期発生に重量が必要なのか明らかにするものである。しかし宇宙飛行士は 0.08mm のマウス胚を扱った経験はなく、練習する時間もない。そこで我々は、まったく練習したことのない宇宙飛行士でも胚を洗浄できるデバイスを開発することにした。凍結した胚をこのデバイスに入れて打ち上げ、宇宙飛行士は注射器で解凍液、洗浄液および

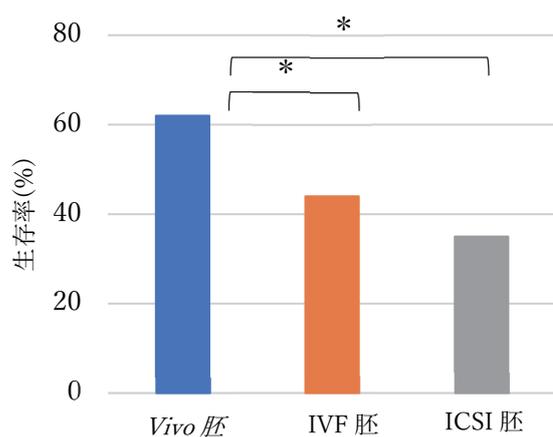


図 1. 受精卵の種類と凍結融解後の生存率。体内受精（Vivo 胚）がもっとも高い生存率を示し、顕微授精（ICSI 胚）が一番低かった。

培養液を入れ替えるだけなので、0.08 mm の胚に触れる必要がなく、練習をしなくても実施可能のはずだった。ところが実際に予備実験を行ったところ、成績が安定せず、解凍直後に死んでしまう胚が多かった。そこでこの分野では有名な麻布大および理化学研究所へ学生が出張し、原因究明や技術改良のアドバイスを受けた。原因の 1 つは胚（受精卵）の作製方法にあった（図 1）。本研究では膨大な試行錯誤によってのみ最適条件を決定することができる。そのためには胚を大量に

用意し使う必要があり、我々は最も胚の入手が容易な体外受精卵を用いていた。ところが受精方法によって、胚の凍結耐性が大きく低下することがこの研究によってはじめて判明した。

確実に受精卵を作る方法として最も適しているのは、精子を卵子内へ直接注入して受精させる顕微授精卵（ICSI 胚）である。この方は完全に人為的であり失敗はない。次に確実な方法は、ディッシュ上で卵子と精子を混ぜ合わせ、精子自身に卵子へ深有してもらい受精させる体外受精（IVF 胚）である。体外で実施するため交尾の失敗はないが、精子の動きが弱ければしっばいしてしまう。最後に、メスをオスと交尾させ、卵管から受精卵を回収する方法（Vivo 胚）がある。この方法はメスが交尾をしなければ失敗してしまうため、確実性は一番低い。この3種類の胚を凍結し、その後融解したところ、胚の生存率は交尾したメスから回収した Vivo 胚が最もよく（60%以上の生存率）、続いて体外受精（IVF 胚）、最も悪いのが顕微授精（ICSI 胚）だった（図1）。この結果から、我々は宇宙ステーションで実施するための胚の種類は、胚の入手方法としては適さないが、交尾したメスから回収した Vivo 胚を用いることに決定した。

次に、メスの体内からの回収時間が凍結融解後の生存率および出産率に影響を与える可能性を検討した。メスマウスから朝9時に胚を回収し、10時に凍結した区、同じく9時に胚を回収し、9時間ほど培養器で回収時のダメージを回復させてから凍結した区、およ

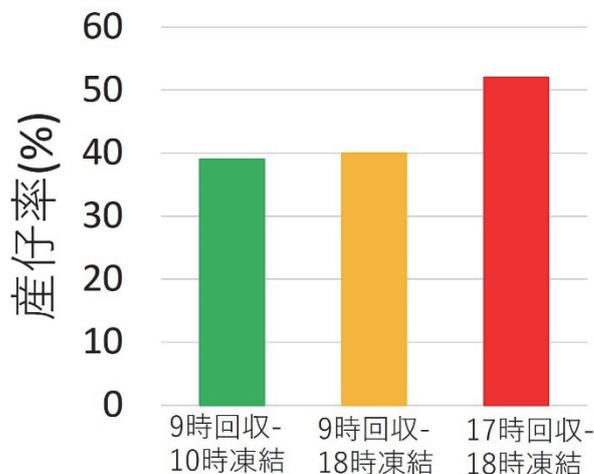


図2. 体内受精胚の回収時間と凍結融解後の産仔率。2細胞期胚を夕方回収し、すぐに凍結する方法が最も高い産仔率になる。

び夕方5時に回収し6時に凍結した区と比較した（図2）。凍結融解後の生存率およびそれらの胚をメスの子宮に移植して子供になるかどうか（産仔率）を調べた結果、胚はわずかでも発生が進んでいた方が凍結耐性が高くなること（赤い棒グラフ）、および回収のダメージから回復させても効果はないこと（黄色い棒グラフ）が明らかとなった。これらの結果から、最終的に国際宇宙ステーションへ運ぶ胚は、交尾したメスマウスから夕方胚を回収し、すぐに凍結する、ということに決定することができた。

この情報をもとにデバイスの改善を行い、ついに宇宙実験に耐えられる信頼性の高いデバイスを開発することができた。この成果はすでに国際誌において論文として発表されている（Hayashi et al., Journal of Reproduction and Development 2022, 68: 118-124. 2022）。

だが、宇宙ステーションでの実験は、地上と異なり無重力のため、実験台の上で培養する、といった基本的な操作も困難である。そのためには、アメリカの NASA やヨーロッパの ESA、および国内の JAXA など国内外の研究機関の最新の研究成果を調査し、宇宙ステーションでの生物実験のノウハウを収集しなければならない。また、2021 年に宇宙ステーションで実施が予定されていた我々の実験 (Space Embryo project) では、現地 (フロリダ、アメリカ) へ出張し、そこで打ち上げ試料の準備を行わなければならない。

これらの研究調査および打ち上げ準備には学生たちの協力が不可欠だが、アメリカやヨーロッパへの渡航費を大学で負担することはできない。そこで本研究を遅滞なく進めるために、我々は渡辺記念会に応募することにし、この度採択していただいた。

ところが、2020 年初頭から世界的にコロナウィルスが蔓延し、海外への渡航が一切できなくなってしまった。参加を予定していた国際学会はすべて中止あるいは延期となり、翌 2021 年に開催された学会もオンラインで開催された。本研究は予定通り 2021 年 9 月に実施されが、学生だけでなく我々教員も渡航制限により出張することができなかった。結局 JAXA の研究員らに我々のプロジェクトに必要な技術の指導を行い、現地で試料の打ち上げ準備をしてもらった。

このように、本助成金は、学生をアメリカの学会あるいはフロリダの打ち上げ場へ連れていき、情報収集および打ち上げ準備を手伝ってもらうために使用する予定だったが、海外出張はすべて不可能となってしまう、本助成金を使用することがほとんどできなかった。しかし、海外出張の旅費が出る、という安心感があったから研究に専念できたのだと我々は考えている。また国内での出張で得られた情報により、国際宇宙ステーションでマウスの初期胚を培養する Space Embryo プロジェクトの骨格となる部分が確立した。したがって、渡辺記念会の本プロジェクトへの貢献は非常に高いものだった。ご支援に研究員および学生一同深く感謝しております。ありがとうございました。