

国際宇宙ステーションで凍結保管したマウス精子幹細胞からの子孫作出

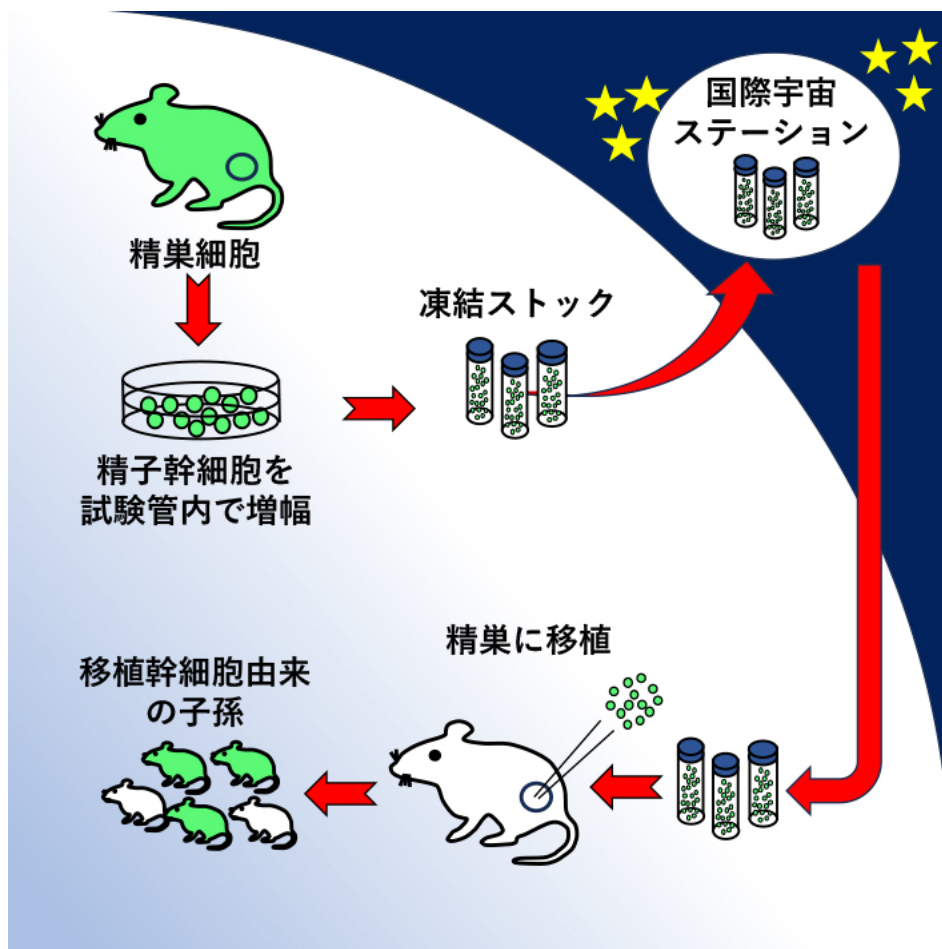
—宇宙環境のリスクと可能性を検証—

概要

京都大学大学院医学研究科の篠原美都助教と篠原隆司教授らのグループは、国際宇宙ステーション(ISS)で半年間凍結保存したマウス精子幹細胞からの子孫作出に成功しました。

これまでに宇宙環境で飼育された動物に精子形成の異常が起こることが指摘されてきましたが、これがどのような原因で生じるのかについては明らかになっていません。宇宙では宇宙線による障害に加えて無重力環境がホルモンのバランスを崩すことも知られており、生体をそのまま解析するだけではその原因に迫ることは困難です。今回、我々は凍結保存された精子幹細胞をISSで維持して、純粋な生殖細胞にどの程度のダメージがあるのかについて検討しました。半年間にわたりISSで保存した精子幹細胞は地上への帰還後に正常に分裂を開始し、不妊マウスの精巣内へ注入するとメスマウスとの交配後に正常な産仔を産むことが確認されました。本研究から、宇宙環境が精子幹細胞に与える影響は少なくとも半年の間はマウスの妊孕性に影響を与えるものではないと言えます。

本研究成果は、2025年8月15日午前1時(日本時間)に国際学術誌「*Stem Cell Reports*」誌にオンライン掲載されました。



1. 背景

最初の動物が宇宙に送られてから 60 年以上が経過しました。それ以来、ヒトを含む複数の動物種が長期間の宇宙飛行を経験し、無事に地球へ帰還しています。しかし宇宙飛行中は、放射線、微小重力、過重力、概日リズムの乱れなどのストレス因子が避けられません。これらの有害因子は、幹細胞を含むさまざまな臓器の機能障害を引き起こす可能性があります。生殖細胞の研究は特に重要です。なぜならそれらは次世代に直接影響を及ぼすからです。Fedrova らは、宇宙で 75 日間過ごした犬の精子において、尾部が曲がっていたり欠損しているなどの異常精子の割合が 30~70% 増加したことを報告しました。また、COSMOS 2044 および 1887 ミッション中のラットの精巣では、精原細胞が 5~10% 減少していたという報告もあります。マウスでは 91 日間の宇宙飛行後にさらに深刻な精巣障害が観察され、多くの精細管から精子形成細胞がほぼ完全に消失し、わずかな精原細胞だけが残っていました。このように、宇宙空間での異常な精子形成はヒトを含む多くの動物種に影響を与える可能性があります。

このような極端な環境変化のため、宇宙飛行中の動物の生理機能の解析は、全身のおよび局所的な要因によって複雑になります。一部の全身的影響は、視床下部-下垂体-精巣軸のホルモンの乱れによって媒介されます。ホルモン変化に加えて、精巣内での細胞間相互作用も生殖細胞の生存に影響を及ぼします。生殖細胞と直接接触しているセルトリ細胞の遺伝子発現は微小重力によって変化します。また宇宙線にも細胞障害性があるために、それぞれの要因がどの程度の異常を引き起こしているのか区別することは不可能です。このように宇宙飛行中の異常な精子形成の背景にあるメカニズムには未解明な点が多く残されています。

この課題に取り組む 1 つの方法として、宇宙で保存された純粋な生殖細胞の機能を調べることが挙げられます。Wakayama らは 2017 年、国際宇宙ステーション (ISS) で 288 日間にわたり宇宙放射線に曝露された凍結乾燥マウス精子において、受精率や出生率に有意な変化がなかったことを報告しました。わずかに DNA 損傷の増加は見られたものの、卵細胞への顕微授精 (ICSI) (注 1) により受精は正常に進みました。これは、凍結乾燥が生殖細胞保存の有望な手段となることを示しています。その後、Wakayama らは ISS で最大 5 年 10 か月間保存された凍結乾燥精子からも子孫を得ることに成功しました。ただし、最近の研究で ICSI は生まれた産子のゲノムインプリンティングに影響を及ぼし、孫世代でも行動異常や奇形を引き起こす可能性があることが明らかになっており、その影響についてのさらなる解析が必要です。

過去の研究では、宇宙飛行が幹細胞に悪影響を及ぼすことが報告されています。例えば、胚性幹 (ES) 細胞は生殖細胞保存の代替資源として期待されていますが、いくつかのグループはアポトーシスおよび細胞老化に関連する遺伝子の発現上昇を報告しており、宇宙で保存された ES 細胞から子孫は得られていません。特に DNA 修復遺伝子の発現低下は、潜在的な生殖細胞への損傷を示唆しています。ES 細胞は特に宇宙飛行に対して感受性が高い可能性があり、前核期胚は宇宙飛行中に著しく発育不全を示しました。また、別の研究では胚盤胞内に内細胞塊マーカーの異所性発現が報告されています。そのため、現在のところ人工生殖技術は宇宙における生殖細胞保存において応用に限界があり、有人宇宙飛行中の生殖保護に懸念が残ります。

精子形成は、自己複製を繰り返しながら多数の精子を生み出す精原幹細胞に始まります。精原幹細胞のユニークな特徴の一つは、刺激により自己複製を促進してその数を増やせることです。GDNF や FGF2 など、精原幹細胞の自己複製を促進する重要因子を添加することで、精原幹細胞を長期的に増殖させた培養細胞 (GS 細胞) を 2 年以上維持することができます。これは、減数分裂を行う GS 細胞が精子とは異なり、遺伝的多

様性を生み出せる新たなリソースであることを意味します。さらに、GS 細胞は凍結保存が容易であるという利点があります。一方、精子の凍結保存は種ごとに異なる頭部形状を持つため、種特異的なプロトコルが必要であり、汎用的な方法の確立は困難です。またその数を増やすことは不可能です。しかしながら、ヒトを含むさまざまな種の精子幹細胞は、体細胞と同様の方法で凍結保存が可能で、凍結保存された GS 細胞を移植し、自然交配によって子孫を得ることも実証されています。

本研究では、宇宙飛行中の長期凍結保存のために GS 細胞を使用しました。GS 細胞は ISS 上で 6 か月間凍結保存されました。これまで ISS で生きた動物が最長で 3 か月間飼育された例はありますが、宇宙空間における生殖細胞の詳細な解析は、動物の長期維持が困難なため限定的でした。凍結された細胞は DNA 修復機構を持たないため、GS 細胞に生じる潜在的な損傷を検出するのに感度の高い実験系を提供します。地球帰還後、凍結細胞を解凍して DNA 損傷および遺伝子発現のプロファイルを解析しました。また、無精子症マウスの精巣への SSCs 移植を通じて、その生殖幹細胞としての機能も評価しました。

2. 研究手法・成果

我々は地上実験により凍結状態にある GS 細胞は比較的放射線照射に対して抵抗性があることを見出しました。しかし一般的には生殖細胞は放射線に弱いことが知られています。このために宇宙では GS 細胞に ISS に半年の間保管することで地上に帰還した際には相当な損傷を受けているのではないかと想像していました。ところが宇宙で維持された GS 細胞は対照群の地上で保管された GS 細胞とほぼ変わることなく生存し、増殖を起こすことを確認しました。

遺伝子発現解析や DNA メチル化の異常についても検討しましたが、特に大きな変化は認められなかったことから、宇宙で維持された GS 細胞を不妊マウスの精巣へ移植することで産仔を得ることも可能ではないかと考えました。凍結融解後、GS 細胞を先天不妊マウスの精巣に移植を行ったところ、8 匹のマウスの中で 3 匹が産仔を無事に産むことができました。これは地上で保管されていた対照群の GS 細胞と同等なレベルの成果がありました。

生まれてきた産仔の DNA を解析したところ、特に異常な DNA メチル化は見当たらないことから、正常なゲノムインプリンティングパターンを示すことが示唆されました。さらに肝臓の遺伝子発現を検討しましたが、これも自然交配で得たマウスと大きな差は認められませんでした。

以上の結果により、我々は ISS において凍結保存した GS 細胞により妊孕性の回復に初めて成功しました。これまで凍結乾燥精子を用いた保存法が報告されていますが、今回の成果により宇宙環境での新たな生殖細胞の保存が可能となりました。

3. 波及効果、今後の予定

現在、宇宙への関心が高まっています。しかしながら宇宙環境が生殖細胞に及ぼす影響についてはほとんどわかっていません。ヒトは世代交代にかかる時間が長いため、生殖サイクルが短いマウスを用いて安全性の評価を行うことは重要です。特に精子幹細胞に異常が起これば子孫にも伝達されていく可能性が高く、そのリスクを評価することは避けては通れません。このような背景から、凍結保存した精子幹細胞の妊孕性を評価することは、生殖細胞の保存手段としての新たな資源となるだけでなく、宇宙飛行に関連するリスク評価にも有用で

す。

ES 細胞や胚において宇宙飛行による大きな損傷が報告されていることから、GS 細胞でも強いダメージが生じることが予想されました。特に GS 細胞は ES 細胞よりも DNA 二本鎖切断に敏感です。ところが、GS 細胞では凍結保存の方が宇宙飛行よりも大きな損傷を与えるという意外な結果が得られました。これは、宇宙飛行後に異常な細胞分裂を示す神経幹細胞とは対照的です。また、宇宙空間では ES 細胞の GDNF シグナルが抑制されることが懸念されていましたが、GS 細胞では自己複製能が維持されたことが示されました。

最も重要な成果は、宇宙で保存した GS 細胞から正常な子孫が自然交配によって誕生したことです。誕生までの期間も予想どおりで (3~4 ヶ月)、子孫には先天異常は見られず、ゲノム刷り込みや遺伝子発現にも問題は認められませんでした。ただし、寿命や次世代への影響については今後の評価が必要です。実際に過去の研究では、宇宙飛行後の精子を用いた ICSI により得られたマウスに短命が観察されており、凍結 GS 由来の子孫にも長期的なモニタリングが必要だと考えています。

次の目標として以下の二点が挙げられます。一つ目は ISS で GS 細胞をどのくらい長期間保存できるかです。凍結状態では DNA 修復が行われなため、時間とともに宇宙線によるダメージが蓄積される可能性があります。実際、宇宙で保存した GS 細胞では、Trp53 などの細胞ダメージを示す遺伝子の発現量が上昇する傾向にありました。今後月面探索ではかなり長期の宇宙滞在が求められるために、その安全性を検討するためにもこうしたデータは必須です。もう一点は宇宙放射線によるゲノム損傷が、子孫や次世代にどのような影響を与えるかです。健康に見える子どもが生まれたとしても、DNA 損傷が完全に修復されたかは不明です。これも世代時間が短いマウスを用いて定量的に評価していくことが求められます。

このように宇宙環境が生殖細胞に与える影響は、長期的な人類の宇宙滞在における重大な課題です。本研究は、凍結 GS 細胞が宇宙空間での生殖細胞保存に有用である可能性を実証しました。今後は、GS 細胞を ISS 上で培養し、宇宙線の影響や DNA 修復機構をライブで追跡することで、さらに深い知見が得られると期待されます。この成果は、宇宙での生殖医療・生殖保護に向けた重要なステップとなります。

4. 研究プロジェクトについて

今回の研究は JAXA, AMED (JP24zf0127011), 科研費 (25H01357, 24H02045, 24K21291, 23K27727, 23H00399, 23K20043)で行われました。

<用語解説>

(注1) 顕微授精 (ICSI) : 卵子の細胞質内へ精子を注入し受精卵を作製する技術

<研究者のコメント>

宇宙環境がどのくらい安全かについて最初のデータを取ることができほっとしています。今後はどの程度の悪影響があるのかについてヒトの宇宙飛行に有用なデータを出していければ幸いです (篠原隆司)。

<論文タイトルと著者>

タイトル： Germline transmission of cryopreserved mouse spermatogonial stem cells maintained on the International Space Station (国際宇宙ステーションで凍結保存された精子幹細胞からの子孫作出)

著者： Mito Kanatsu-Shinohara, Takuya Yamamoto, Yusuke Shiromoto, Hiroko Morimoto, Tianjiao Liu, Tohru Yamamori, Tomokazu Yamasaki, and Takashi Shinohara

掲載誌： *Stem Cell Reports* DOI : 10.1016/j.stemcr.2025.102602