

令和5年10月28日

各報道機関 御中

国立大学法人山梨大学  
国立研究開発法人理化学研究所

---

国際宇宙ステーションの「きぼう」日本実験棟でマウス凍結胚を解凍し、  
無重力で胚を発生させることに成功  
—哺乳類の初期発生における重力の影響が明らかに—

---

山梨大学発生工学研究センターの若山清香助教、宇宙航空研究開発機構（JAXA）、日本宇宙フォーラム、理化学研究所バイオリソース研究センター（BRC）、明治大学農学部などからなる研究グループは、凍結したマウス2細胞期胚を国際宇宙ステーション（ISS）へ打ち上げ、宇宙飛行士が微小重力下で胚を解凍し、重力が無い宇宙でも哺乳類の胚が正常に発生し分化出来るのか調べました。マウスの胚の大きさは0.08mmしかなく、解凍や培養には高度な技術が必要です。そこで本研究では最初に、ISS内で容易に胚操作出来るデバイスを開発することで、宇宙飛行士による胚の宇宙実験を可能にしました。このデバイスによりISSで解凍された胚は、微小重力および人工1G区に分け4日間宇宙で培養されました。ほぼ同時に筑波宇宙センターで地上1G実験を実施しました。その結果、マウス2細胞期胚は微小重力でも胚盤胞期まで発生でき、胎児側と胎盤側の細胞へ正しく分化出来ることが明らかとなりましたが、一部の胚は胎児側の細胞が2か所に分かれており、一卵性双生児が生まれる可能性も示されました。本成果はCellの姉妹誌iScienceにオンライン掲載（月日付け：日本時間10月28日（土）午前0時）されました。

タイトル：**Effect of microgravity on mammalian embryo development evaluated at the International Space Station**

【本研究のポイント】

- 哺乳類の胚は微小重力でも胚盤胞まで発育可能
- 胚の最初の運命決定（胎児と胎盤への分化）に重力は影響しない
- わずかだが一卵性双生児の割合が高まる可能性が示された
- 哺乳類が宇宙でも繁殖出来る可能性を示した初めての論文

## 1. 背景

近年、月だけでなく火星への有人探査の計画が本格的になってきました。近い将来、月面基地やスペースコロニーなどが建設され永住する時代が来るとされています。しかし宇宙環境は微小重力や低重力、強力な宇宙放射線が降り注ぐため、哺乳類が宇宙で子孫を作り繁栄出来るのかわかっていません。たとえば哺乳類の受精卵（初期胚）は、受精後3~4日後に将来胎児へ発育する細胞（内部細胞塊：ICM）と胎盤になる細胞（栄養外胚葉：TE）の2種類に分化し、そして胚盤胞と呼ばれる胚へ発生します。この最初の分化がどのようにして決定されるのか、ICMとTEがきれいに2つに分かれるのはなぜか、ICMが1か所に集まるのはなぜか、などはまだ明らかになっていません（注1）。もし最初の分化や胚盤胞の形成に地球の重力が関与している場合、微小重力の宇宙では、初期胚は正しく発生できない可能性があります。

しかしマウスなどの哺乳類を宇宙で交配させることは難しく、哺乳類の宇宙生殖実験はほとんど行われたことがありません。また、マウスの卵子や初期胚は非常に小さく（0.08mm）、高度な操作技術を習得しなければ扱うことが出来ないため、初期胚を用いた宇宙実験も実施できませんでした。

山梨大学の研究グループらは以前から哺乳類の宇宙生殖に関する研究を、実際に国際宇宙ステーション（ISS）／「きぼう」日本実験棟を利用して行ってきました（注2）。しかし初期胚を宇宙で培養する実験は当時不可能だったため、地上で疑似宇宙環境を用いた実験を行ったところ、微小重力では初期胚は正しく発生できない可能性が示されました（注3）。このシミュレーション実験の結果を確かめるためには、実際に宇宙で実験することが不可欠です。そこで本研究に先立ち、受精卵を特別な練習をすることなしに、誰でも説明書を読むだけで簡単に解凍や培養することが可能な、全く新しいデバイスの開発を行いました（注4）。また、受精卵の凍結保存には $-196^{\circ}\text{C}$ の液体窒素が必要ですが、ISSでは液体窒素を使うことが出来ないため、このデバイスには理化学研究所BRCが開発した $-80^{\circ}\text{C}$ で受精卵を凍結保存できる方法（HOV法）を組み込みました。

2021年8月28日、このデバイスを使ってマウスの凍結2細胞期胚はISSへ打ち上げられ、9月6日に星出彰彦宇宙飛行士がISSで初期胚を解凍し、培養実験を開始しました。哺乳類の初期胚をISSの完全な微小重力環境下で培養した世界初の実験になります。

本プロジェクトはJAXAによる2014年のライフサイエンス国際公募で採択されたもので、山梨大学とJAXAの共同研究のもと、理化学研究所、明治大学も研究参加機関として参加し、また、一般財団法人日本宇宙フォーラム、有人宇宙システム株式会社、株式会社エイ・イー・エスの協力を得て実施されたプロジェクト（プロジェクト名：Space Embryo（注5））です。

## 2. 研究方法

新規開発した宇宙胚解凍培養デバイス（ETC）に凍結したマウスの2細胞期胚を90個入れ、 $-80^{\circ}\text{C}$ を維持しながらISSへ8個打ち上げました。ISSに到着後、星出宇宙飛行士が胚を解凍し、4つのETCはそのまま微小重力で培養し（宇宙0G区）、残りの4つはISS／「きぼう」日本実験棟内に設置してある遠心力を利用した人工重力発生装置に入れ、地上と同じ1Gで培養しました（宇宙1G区）。ほぼ同じ時刻に筑波宇宙センターでも4つのETCを解凍して培養しました（地上1G区）。培養開始から4日後、ETCへ化学固定液（低濃度ホルマリン）を注入して胚を固定

し、冷蔵庫で約3週間保存後に帰還船に載せて地球に戻されました。

山梨大学に届けられたETCから胚を取り出し、最初に胚が微小重力で胚盤胞へ発生したのか顕微鏡観察しました。得られた胚は、その後ICMとTEへ分化したのか、正しい配置になっているか、DNA損傷はどうか、および網羅的遺伝子発現解析を行い、宇宙微小重力区、宇宙1G区および地上1G区と比較されました。また、地上で疑似微小重力再現装置を使った実験も行いました。

### 3. 結果

#### 予備実験とリハーサル（注6）

宇宙実験は失敗が許されない一度きりの挑戦のため、宇宙実験を行う直前まで、予想されるありとあらゆる状況にETCを置き、胚の解凍と培養が問題なく行えるよう調整しました。たとえば、地球に帰還する際の衝撃にETCが耐えられるか調べるために、ETCを2階から落下させても壊れず胚の観察に影響がでないことや、帰還船の到着が1か月遅れてもISS内の冷蔵庫で保存すれば胚の観察に影響ないことなどを確かめました。最後にリハーサルとして、胚操作を全く行ったことのない学生4名がETCを使って胚の融解と培養を行い、問題なく胚を胚盤胞まで発生させられることを確かめました。

#### 宇宙実験

ISSで実施した宇宙0G区と宇宙1G区、および地上で実施した地上1G区それぞれのETCから胚を回収し、発生状況を調べました（表1）。地上1G区では、回収できた胚のうち82個（61.2%）が胚盤胞へ発生していました。ISSで行った実験では、宇宙1G区で19個（29.5%）が胚盤胞へ発生していただけでなく、宇宙0G区でも17個（23.6%）が胚盤胞へ発育していました（図1）。

宇宙0G区で発生した胚盤胞のうち12個を使って、ICMとTEへの分化やDNA損傷率を調べたところ、宇宙1G区および地上1G区の結果とほぼ一致し、胚盤胞の品質に差はないことが分かりました（図2）。宇宙0G区に残りの5個の胚盤胞は、1つずつ分けて網羅的遺伝子発現解析を行いました。他の1G区と有意に変化した遺伝子発現は見られませんでした。

しかし、宇宙0G区の胚盤胞を詳しく観察したところ、ICMが2か所に分離している胚盤胞が12個中3個（25%）で見つかりました（注：ICMはNANOGタンパクの有無で判定しているため、NANOGの異所性発現として発見されました）。一方、人工1G区、地上1G区では、そのような胚はわずかしか見つかりませんでした（6~7%）。通常ICMは胚盤胞の1か所に集まっており、もしICMが2か所に分離してしまうと一卵性双生児として産まれてくる可能性があります（注：ココノオビアルマジロはICMが4か所に分離しており、一度の出産で一卵性4仔が産まれてくる）。しかしICMがなぜ胚盤胞の中で1か所に集まるのかわかっていません。そこで地上で胚盤胞を培養液の上層にそっと置き、底に沈んだ時のICMの位置を調べてみたところ、90%の確立でICMは胚盤胞の下部に位置することが分かりました。もしICMが重力によって胚盤胞の底に集まっているのであれば、微小重力ではICMが胚盤胞の中で1か所に集まるのが難しくなるかもしれません。

表 1. 国際宇宙ステーションで培養した 2 細胞期胚の胚盤胞への発生率

場所	重力	使用した 2 細胞期胚数	回収できた胚数 (%)	胚盤胞数 (%)
地上	1 G	360 個	134 (37.2)	82 (61.2)
ISS	人工 1 G	360 個	61 (16.9)	19 (31.1)
ISS	微小重力	360 個	72 (20.0)	17 (23.6)

#### 4. 今後の期待

本研究により、哺乳類の初期胚がISS内の微小重力環境下でも胚盤胞期まで発生でき、最初の運命決定であるICMとTEへ正しく分化出来ることが確かめられました。網羅的な遺伝子発現解析でも、宇宙OG区の胚盤胞は正常な遺伝子発現をしていることが確かめられました。しかし本当に正常な胚盤胞であることを調べるためには、胚盤胞から産仔を産ませなければなりません。将来的には、ISSで発生した胚盤胞をISS内で再凍結し、地上に持ち帰り、レシピエント雌の子宮へ移植して子供を産ませる研究も行う必要があるでしょう。

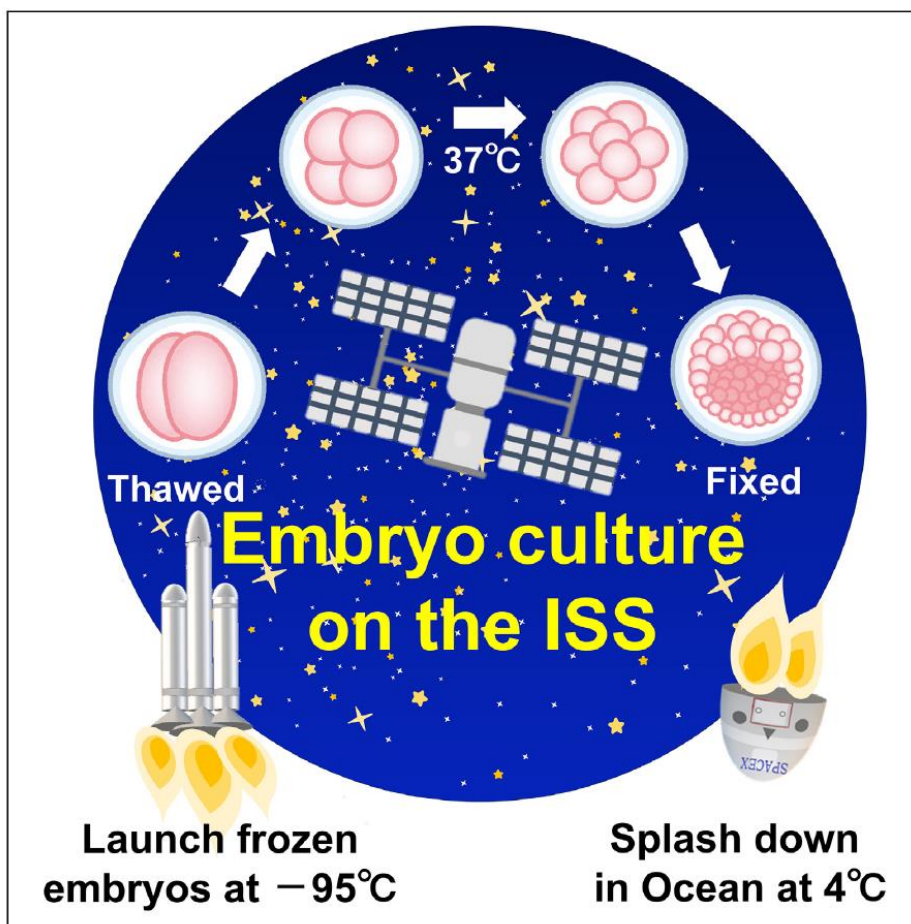
一方、今回の研究では、ICMが2か所に分離している胚盤胞が宇宙OG区で発生した胚の25%で観察され、一卵性双生児の出現頻度が高まる可能性が示されました。しかし残念ながら本研究では、ETCから回収できた胚盤胞の数が少なすぎて、この結果が本当に正しいかどうかわかりません。もっとたくさんの胚をISSで胚盤胞へ発生させ、その品質を調べる必要があります。

この研究のために開発したETCは、胚に一切触れずに誰でも胚の解凍と培養が出来る画期的な世界初のデバイスです。しかし、まだ完成されたものではなく、地上でのリハーサルでも100%の胚を回収することは出来ていません。すべての胚を回収でき、胚盤胞へ発生させることが出来るデバイスを開発することが出来れば、今後の宇宙実験でより多くの胚盤胞を得られ、確固たる証拠を出すことが可能になるはずです。改良されたデバイスを使えば、畜産分野で行われている受精卵移植や、実験動物施設で遺伝子改変マウスを作製するとき、経験の浅い技術者でも胚を無くさずに扱うことが出来るようになるでしょう。さらに改良が進み不妊治療クリニックで利用されるようになれば、高度な技術を持った胚培養士などの人材不足を補えるようになるかもしれません。

謝辞 この研究は浅田生殖医学研究助成金などで実施されました。

Article

# Effect of microgravity on mammalian embryo development evaluated at the International Space Station



Sayaka Wakayama,  
Yasuyuki Kikuchi,  
Mariko Soejima, ...,  
Atsuo Ogura,  
Takashi Kohda,  
Teruhiko  
Wakayama

sayakaw@yamanashi.ac.jp  
(S.W.)  
twakayama@yamanashi.ac.jp  
(T.W.)

Highlights

Mouse 2-cell embryos can develop into blastocysts under microgravity

Gravity did not affect initial differentiation of mammalian embryos

Mammals can thrive in space

Q10

Sayaka Wakayama,<sup>1,\*</sup> Yasuyuki Kikuchi,<sup>2</sup> Mariko Soejima,<sup>2</sup> Erika Hayashi,<sup>2</sup> Natsuki Ushigome,<sup>2</sup> Chiaki Yamazaki,<sup>3</sup> Tomomi Suzuki,<sup>3</sup> Toru Shimazu,<sup>4</sup> Tohru Yamamori,<sup>4</sup> Ikuko Osada,<sup>5</sup> Hiromi Sano,<sup>5</sup> Masumi Umehara,<sup>6</sup> Ayumi Hasegawa,<sup>7</sup> Keiji Mochida,<sup>7</sup> Li Ly Yang,<sup>2</sup> Rina Emura,<sup>2</sup> Kousuke Kazama,<sup>2</sup> Kenta Imase,<sup>2</sup> Yuna Kurokawa,<sup>2</sup> Yoshimasa Sato,<sup>2</sup> Akira Higashibata,<sup>3</sup> Hitomi Matsunari,<sup>8,9</sup> Hiroshi Nagashima,<sup>8,9</sup> Atsuo Ogura,<sup>7</sup> Takashi Kohda,<sup>2</sup> and Teruhiko Wakayama<sup>1,2,10,\*</sup>



図

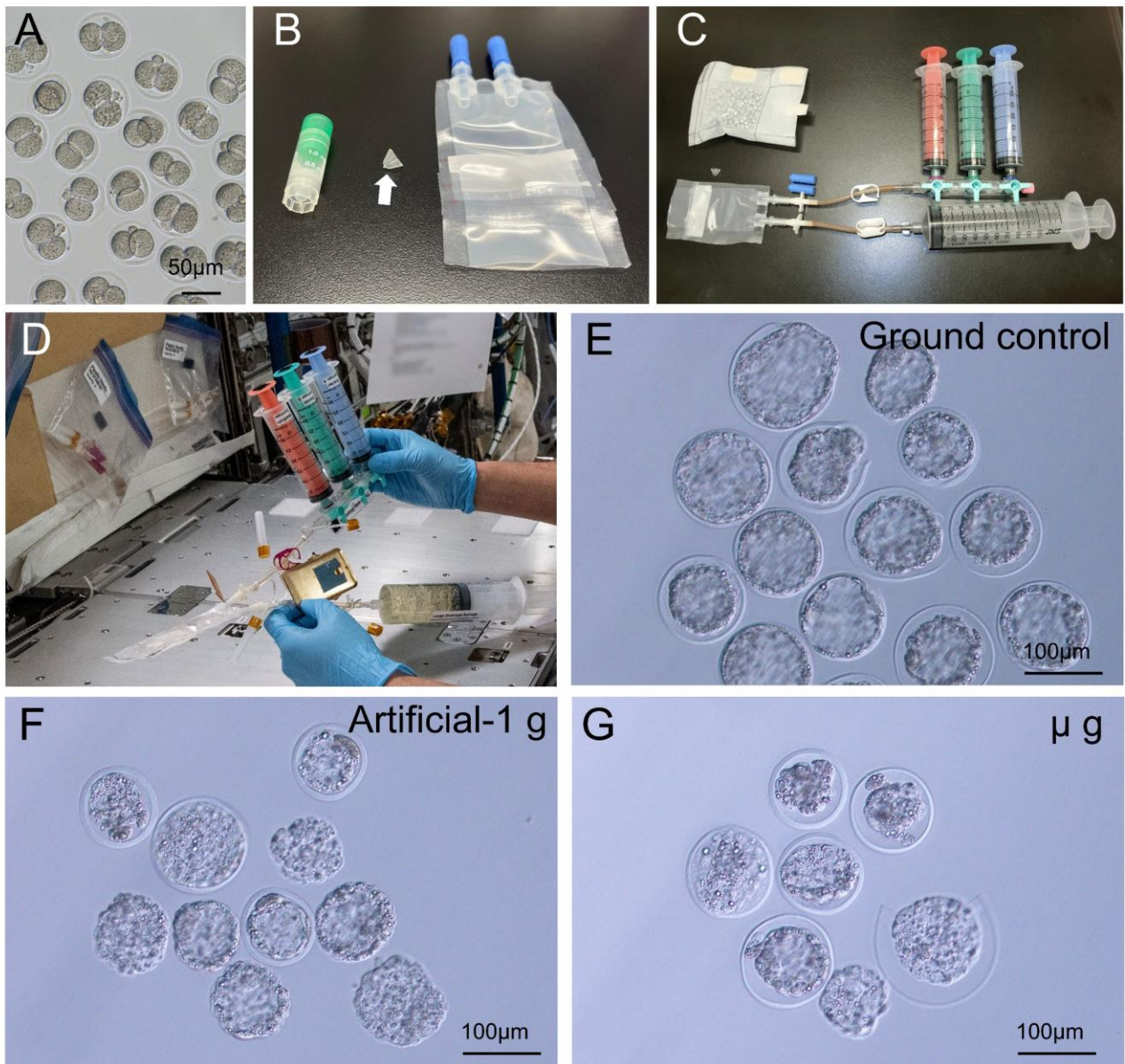


図 1. ISS の微小重力環境で発生したマウス胚盤胞

A. 凍結前のマウス 2 細胞期胚。B と C. 本研究で開発した胚の解凍培養デバイス (ETC)。D. ISS 内で星出宇宙飛行士が ETC を使って胚の解凍と培養を行っている様子。E. 地上で発生した胚盤胞。F. ISS 内の人工 1G 環境で発生した胚盤胞。G. ISS 内の微小重力環境で発生した胚盤胞。これらの胚盤胞は化学固定されているため平たくなっている。提供 : A-C, E-G: 山梨大 ; D: JAXA/NASA。

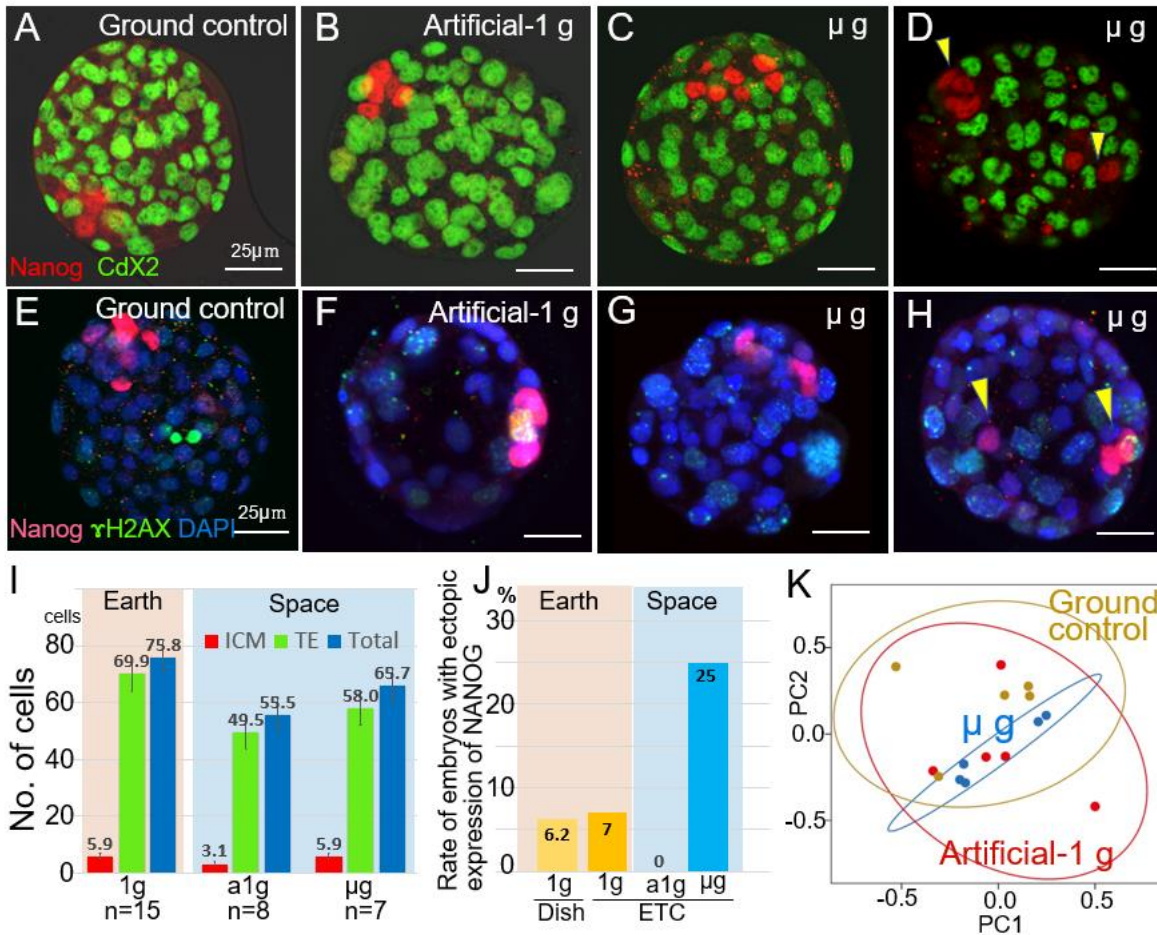
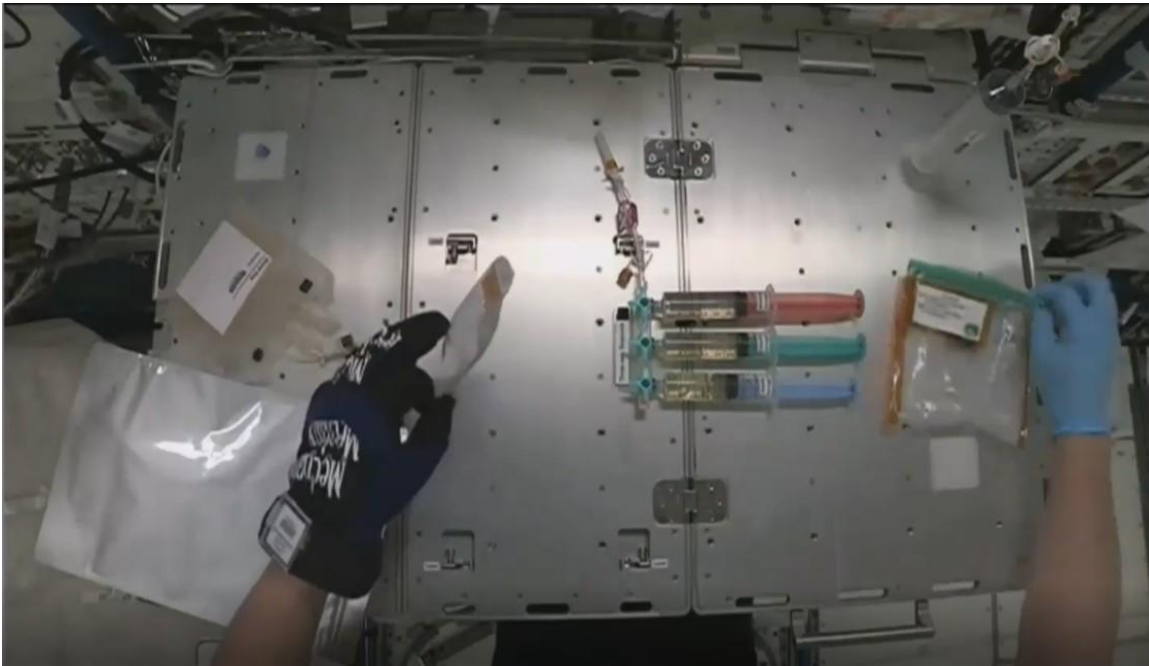


図2. ISS内で発生した胚盤胞の品質

A-D. 胚盤胞の ICM と TE を染色したもの。A:地上 1G、B:宇宙 1G、CとD:宇宙 OG。E-H.  $\gamma$ H2A. x 蛍光免疫染色により DNA ダメージを検出したもの。ICM も同時に観察した。E:地上 1G、F:宇宙 1G、GとH:宇宙 OG。DとHは ICM が分離（あるいはマーカーの NANOG が異所性発現）しているのが分かる。I. 胚盤胞の ICM と TE および総細胞数のグラフ。X 軸の 1g は地上 1G、a1g は宇宙 1G、 $\mu$ g は宇宙 OG。J. ICM が分離していた胚盤胞の割合。Dish とは、ETC を使わず、通常の培養方法で発生させたもの。地上 1G および Dish は追加実験を行い、合計 300 個以上の胚盤胞を調べている。K. 網羅的遺伝子発現解析の主成分分析。宇宙 OG ( $\mu$ g: 青色の円) で発生した 5 個の胚盤胞はいずれも、地上 1G (Ground control: 茶色の円) および宇宙 1G (Artificial-1g: 赤い円) の内側にあり、差が無いことを示している。提供: 山梨大。





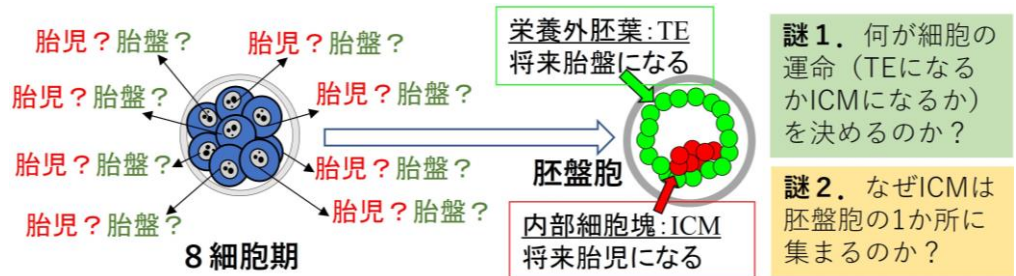
ビデオ 1. 星出宇宙飛行士が ISS 内で胚の解凍培養作業を行っている様子。(提供: JAXA/NASA)

[素材詳細](#) | [検索結果一覧](#) | [JAXA デジタルアーカイブス](#)

## <補足説明>

### 注 1. 細胞の最初の分化

哺乳類（マウス）の受精卵は 8 細胞期まではすべての細胞が同じ状態（未分化）だが、胚盤胞へ発生する過程で「最初の分化」を行い、胎児側（ICM）と胎盤側（TE）の細胞に分かれる。しかし、どうやって分化（運命）が決定されるのかわかっていない。また、なぜ ICM が胚盤胞の中の 1 か所に集まるのかもわかっていない。



注 2. ISS でマウスの精子を長期保存し、宇宙放射線が精子 DNA、および次世代にどのような影響を与えるのか明らかにした実験。

[Space pup press release 20170523.pdf \(yamanashi.ac.jp\)](#)

[20210607pr.pdf \(yamanashi.ac.jp\)](#)

### 注 3. 疑似無重力再現装置を用いた、胚発生への無重力の影響

山梨大学の研究グループは以前、地上で疑似無重力環境を再現する装置を用いて、マウスの体外受精および胚の発生が無重力でも可能かどうか調べる実験を行いました。その結果、微小重力環境では胎盤の発育が悪くなり、出産率が大きく減少してしまうことが示されました。

[地球の重力がほ乳類の正常な胚発生に必須の可能性を示す | 理化学研究所 \(riken.jp\)](#)



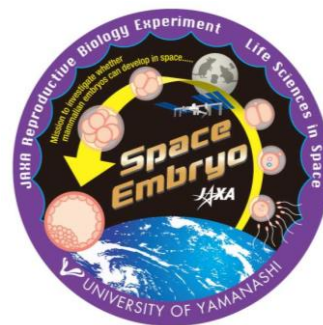
#### 注4. 凍結胚の解凍培養デバイス (Embryo thawing and culturing unit: ETC)

本研究では、胚操作を全く行ったことのない宇宙飛行士に実験を依頼しなければならなりません。そこで誰でも練習なしで胚の融解と培養が出来る全く新しいデバイスを開発しました。ISSで使用できるように、-80℃で受精卵を凍結保存できるHOV法を使用し、シリンジで液交換をしても受精卵が流れ出さないようになっています。

特許番号：WO2022/025092 A1

#### 注5. 国際公募で採択された Space Embryo テーマ

[微小重力環境下での哺乳類初期胚の発生能について | 「きぼう」利用のご案内 | JAXA 有人宇宙技術部門](#)



#### 注6. 打ち上げ前に行った予備実験

まだ誰も試みたことのないまったく新しい実験を始めるときは、失敗を繰り返しながら最適な実験方法やデバイスを開発して、ようやく実験を開始できます。しかし宇宙実験は経費がかかりすぎるため一発勝負でありながら失敗が許されません。そこで我々は本研究を成功させるために、宇宙実験を想定した膨大な量の試行錯誤を繰り返し、新しいデバイスの開発や最適な実験条件を見つけ出しました。この時の予備実験の結果は、新しい発見や新技術であったため下記の3つの論文として発表しています。さらに、本論文の補足資料で Table S1-S11, Figure S1-S13 として発表します。

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36206235/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34941870/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34980785/>

(注) カラー写真等をご入用の方は下記広報担当までお知らせください。

(本件に関する問い合わせ先)

山梨大学 発生工学研究センター

助教 若山 清香 sayakaw@yamanashi.ac.jp

教授 若山 照彦 twakayama@yamanashi.ac.jp

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

(広報担当)

同 総務企画部総務課広報企画室

TEL : 055-220-8006 FAX : 055-220-8799

E-mail : [koho@yamanashi.ac.jp](mailto:koho@yamanashi.ac.jp)

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL : 050-3495-0247

E-mail : [ex-press@ml.riken.jp](mailto:ex-press@ml.riken.jp)