

国際宇宙ステーションでのマウス飼育により 宇宙滞在が精子受精能力に及ぼす影響を解析

野田 大地*¹ 芝 大*² 伊川 正人*¹

Noda Taichi

Shiba Dai

Ikawa Masahito

1. はじめに

1961年にユーリイ・ガガーリンが有人宇宙飛行を成功させてから、現在までに550人以上が有人宇宙飛行を行った^{1,2)}。近年の技術進歩や民間宇宙開発による低コスト化で、誰もが宇宙に行ける時代が現実味を帯びている。しかし、宇宙環境（重力・放射線・精神的なストレス等）は人体の生理学的機能に様々な影響を及ぼす。例えば、私たちは離着陸時に7Gにも及ぶ重力を受け、この過重力は脳血流や動脈圧の低下を招く^{3,4)}。また、無重力環境は宇宙飛行士の筋肉や骨密度の低下、及び視神経の障害を引き起こす^{5,7)}。国際宇宙ステーション（ISS）での1日当たりの放射線量は、私たちが地上で浴びる約半年分に相当する^{8,9)}。無論、高い線量の被ばくは、ゲノム変異や癌発生を引き起こす¹⁰⁾。

宇宙旅行や滞りが次世代に予期せぬ影響を与えることを防ぐために、実験動物を使って生殖システムへの影響が調べられてきた。宇宙空間でメダカ、イモリ、及びカエルを飼育したところ〔飼育期間：2か月（メダカ）、9日（イモリ）、18時間（カエル）〕、生殖能力に異常は認められなかった¹¹⁻¹³⁾。一方、凍結乾燥マウス精子をISSで9か月間保存したところDNAダメージを受けることや、約2週間宇宙空間でラットを飼育すると精子形成異常や精子数減少が見られることも報告された^{14,15)}。しかし、適切な飼育装置がない等の技術的影響も無視できず、また多頭数の哺乳類実験動物を宇宙空間で飼育し、地球へ生還させることは難しいために、分子レベルでの影

響や次世代に与える影響はよく分かっていなかった。

今回、筆者らの研究チームでは、人工重力環境（AG, 約1G）と微小重力環境（MG, 約0G）を比較できる遠心機能付き小動物飼育装置を開発し、ISSでの雄マウスの長期飼育（35日間）と全頭生還に世界で初めて成功した¹⁶⁾。また、生還した宇宙滞在マウスの精子受精能力や次世代への影響を分子レベルで解析した¹⁷⁾。これらの研究成果について、本稿で紹介したい。

2. 遠心機能付き小動物飼育装置の開発

宇宙での小動物飼育ミッションの歴史は古く、米国（NASA）は1980年代よりスペースシャトルで数多くのマウス/ラットミッションを実施している。JAXAミッションが後発であるため、より科学的に厳密な重力影響評価を行うことをコンセプトに掲げ、「宇宙」での可変重力環境を構築することで、宇宙で「無重力」と「人工1G」の厳密な比較を行えるコンパクトな飼育装置と人工重力発生器（遠心機）の総合システムをISSに構築した。宇宙では飼育ケージ等の機器にトラブルが生じても迅速な対応が図れない場合が多い。過去の他国の開発した装置は多頭数を同時に飼育できるシステム（群飼育）であったが、そのような装置では万が一装置のトラブルが発生すると、すべてのマウスが影響を受け、科学的な評価が難しい場合が多かった。そのため、トラブルが飼育群全体へ拡散することを防ぐために、複数のケージで飼育しリスクを分散させ、更に、ト

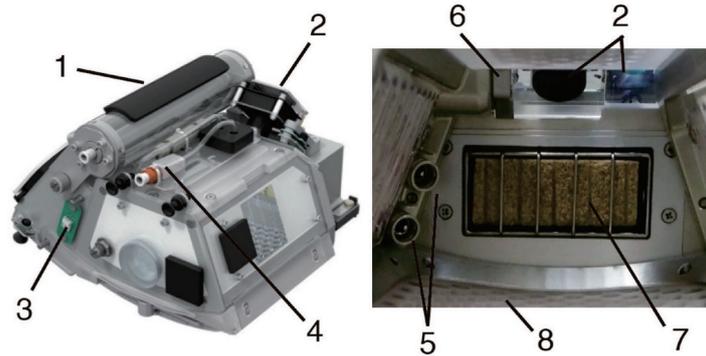


図1 新たに開発した小動物飼育装置

軌道上飼育装置の外観および内部写真。この装置1つで小動物（マウス）1匹を飼育する。計12個の装置を使用し宇宙飼育を行った。
1. 給水システム（水バルーン）、2. 行動観察用カメラと明暗ライト、3. 温度センサー、4. ワイパー水用タンク、5. 給水ノズル（2個）、6. カメラ面用ワイパー（水出し機能付き）、7. 餌、8. 床面（参考文献16より抜粋改変）

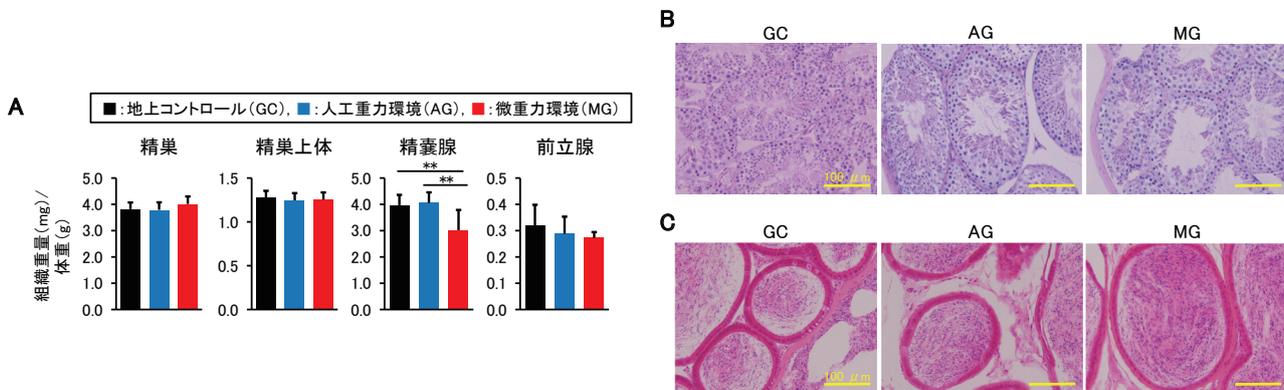


図2 雄生殖組織の特性解析

A. 組織重量の測定。MG環境下で飼育されたマウスの精嚢腺重量が低下した。**：<math>< 0.01</math>
B. 精子形成の観察。精巣切片を Periodic acid-Schiff-Hematoxylin 染色した。AG や MG 環境下で飼育されたマウスの精細管内には生殖細胞が存在した。
C. 精巣上部尾部に蓄えられる精子の観察。射出されるまで、精子は精巣上部尾部に蓄えられる。精巣上部尾部の切片を Hematoxylin-Eosin 染色したところ、いずれの実験群においても精子が観察できた。

ラブルが生じても状態を識別し、個体毎の解析精度を高めることができるよう、筆者らは「個別飼育」が可能な独立ケージタイプの装置を開発した（図1）。

3. 宇宙環境が雄生殖組織に与える影響

精巣で作られた直後の精子は、運動能力や受精能力を持っていない。それらの能力は、精子が精巣の隣に存在する管組織（精巣上部と呼ばれる）を通過する間に、精子膜上のタンパク質が翻訳後修飾を受けたり、精巣上部因子が精子へと取り込まれたりして獲得される。その後、精子は精巣上部尾部に蓄えられ、射出時に、精嚢腺や前立腺から主に構成される副生殖腺由来の分泌液と混合される。副生殖腺分泌液も、雌性生殖路内で精子が適切な時期に受精能

力を獲得するために関与する。このように、雄生殖組織（精巣・精巣上部・副生殖腺）は、体内で精子が卵と受精するために重要な役割を果たす。

筆者らは、遠心機能付き飼育装置を用いてISSでAG（人工重力環境）とMG（微重力環境）の環境下で雄マウスをそれぞれ6頭ずつ35日間飼育して、全頭地球に生還させることに成功した。この宇宙滞在雄マウスの生殖組織を採取して、地上で飼育した雄マウス（地上コントロール（GC））の生殖組織と重量を比較したところ、MG群で副生殖腺重量が減少した（図2A）。一方、宇宙滞在雄マウスの生殖組織の構造や精子産生能力は正常で（図2B-C）、遺伝子発現レベルを3群間で比較しても大きな違いはなかった。

ラットやヒトにおいて宇宙フライト中にテストス

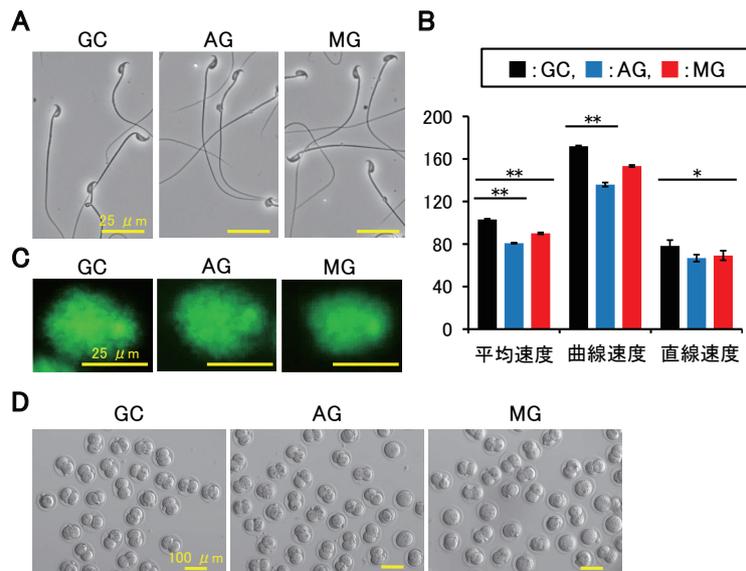


図3 精子の特性解析

A. 形態観察。いずれの実験群においても、精子形態は正常だった。
 B. 運動性の測定。精子を体外受精用培地で2時間培養後、精子運動解析システムを用いて各運動性パラメータを測定した。宇宙滞在マウスの精子で、運動性の低下が認められた。* : < 0.05, ** : < 0.01
 C. DNAダメージの観察。コメットアッセイにより精子DNA損傷度合いを測定したが、3群間で差はなかった [移動距離 (Comet tail の長さ) : 41.7 ± 9.1 μm (GC), 41.0 ± 7.1 μm (AG), 43.4 ± 9.6 μm (MG)]。
 D. 体外受精能力の検討。精子を卵と共培養したところ、いずれの実験区においても8割以上の卵が受精した [受精率 : 86.7 ± 14.3% (GC), 88.5 ± 10.3% (AG), 88.6 ± 9.6% (MG)]。

テロン濃度が減少することや、血中テストステロン濃度の低下による副生殖腺重量の減少が報告されている¹⁸⁻²⁰⁾。今回筆者らはサンプル数の関係で血中ホルモン濃度を測定できなかったが、副生殖腺重量の減少は血中テストステロン濃度の低下により引き起こされたのかもしれない。また、先行研究と異なり精子産生能力に影響がなかった原因は明確ではないが、飼育装置の改善が功を奏した可能性も考えられる。

筆者らの解析から、副生殖腺重量は宇宙環境の影響を受けやすいものの、精子産生能力や遺伝子発現に宇宙滞在の影響はほとんどないことが明らかになった。

4. 宇宙滞在が精子受精能力や次世代に与える影響

次に、宇宙滞在マウスが産生した精子の受精能力と次世代マウスの成育・繁殖能力への影響を調べた。宇宙滞在マウスの精巣上部尾部から精子を取り出して顕微鏡下で観察したところ、精子形態は正常だったが、運動速度が地上マウスの精子と比べて低下した(図3A-B)。一方、精子DNA損傷の度合いは3群

間で差はなく、これらの精子を卵と共に培養したところ8割以上の卵が受精した(図3C-D)。受精卵を培養すると胚盤胞期まで正常に発生し(図4A)、その発生率や胚盤胞の内部細胞塊や栄養外胚葉の細胞数にも3群間で差がなかった。更に受精卵を交尾刺激した雌マウスに移植したところ、健康な次世代マウスが得られた(図4B)。次世代マウスの成長曲線は正常で、次世代マウス同士の交配で得られる産子数はコントロールとほとんど同じだった(図4C)。長期滞在により凍結精子のDNA損傷が認められた先行研究と異なり、宇宙滞在マウスの精子DNAで大きな損傷が観察できなかったのは、ISSに滞在した期間の違いや個体レベルではDNA損傷が修復された可能性が考えられる。

以上から、宇宙滞在マウスの精子は運動性低下が見られるものの正常な受精能力を持ち、次世代マウスの成育や繁殖能力においても親世代が宇宙滞在した影響は観察されないことが明らかとなった。

5. おわりに

マウスにおいて、精巣内で精原幹細胞から減数分

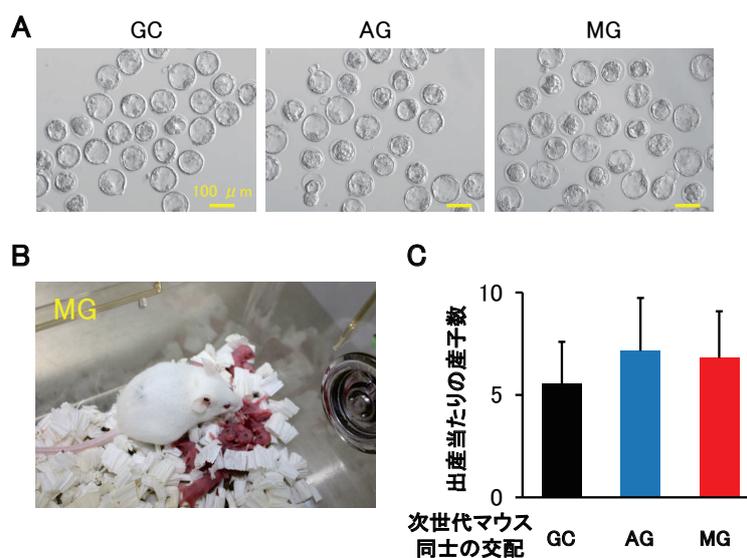


図4 胚発生と次世代マウスの妊孕性

A. 胚盤胞の観察。受精した卵は正常に胚盤胞期まで発生した〔胚盤胞への発生率：58.3% (GC), 80.9% (AG), 73.5% (MG)〕。
 B. 次世代マウスの誕生。受精卵を交尾刺激を与えた偽妊娠マウスに移植したところ、健康な次世代が誕生した〔産子数/移植した受精卵：41.0 ± 6.1% (GC), 44.3 ± 7.6% (AG), 36.9 ± 3.6% (MG)〕。写真は、MG マウスから得られた次世代マウスを示す。
 C. 次世代マウス同士の交配により得られる産子数。宇宙滞在マウスを親に持つ次世代マウスからも、正常な産子数が得られた。

裂を経て精子ができるまでに約 35 日間、精巣上体を精子が移行して受精能力を獲得するまでに約 10 日間かかる。筆者らの結果は、宇宙滞在が精子産生能力や受精能力獲得に影響しないことを示している。更に、次世代マウスの成育・繁殖においても親世代の宇宙滞在の影響を観察できなかった。宇宙環境は人体の生理学的機能に様々な影響を及ぼすことが報告されているので、この結果は筆者らにとって予想外だった。今後更に長期間の飼育や、エピゲノム解析等詳細な解析が必要だが、筆者らの結果は将来予想される短期間の宇宙旅行等人類が宇宙へと活動領域を広げるにあたっての基礎的な知見の蓄積に貢献すれば幸いである。

参考文献

- 1) West, J.B., *J Appl Physiol* (1985), **91**, 1501-1511 (2001)
- 2) Kerschmann, R.L., *Current Pathobiology Reports*, **6**, 145-147 (2018)
- 3) Akiyama, T., *The Journal of Space Technology and Science*, **9**, 21-23 (1993)
- 4) Konishi, T., *et al.*, *Aerosp Med Hum Perform.*, **89**, 787-791 (2018)
- 5) Williams, D., *et al.*, *CMAJ* **180**, 1317-1323 (2009)

- 6) Keyak, J.H., *et al.*, *Bone*, **44**, 449-453 (2009)
- 7) Shinojima, A., *et al.*, *JAMA Ophthalmol.*, **136**, 1075-1076 (2018)
- 8) Rask, J., *et al.*, *Radiation Educator Guide*. (National Aeronautics and Space Administration) (2008)
- 9) Ohnishi, K., *et al.*, *Biol Sci Space.*, **18**, 201-205 (2004)
- 10) Hada M., *et al.*, *J Radiat Res.*, **49**, 203-210 (2008)
- 11) Murata, Y., *et al.*, *PLoS One.*, **10**, e0138799 (2015)
- 12) Aimar C., *et al.*, *Biol Reprod.*, **63**, 551-558 (2000)
- 13) Souza, K.A., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **92**, 1975-1978 (1995)
- 14) Wakayama, S., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **114**, 5988-5993 (2017)
- 15) Serova, L.V., *et al.*, *Physiologist*, **32**, S29-30 (1989)
- 16) Shiba, D., *et al.*, *Sci Rep.*, **7**, 10837 (2017)
- 17) Matsumura, T., *et al.*, *Sci Rep.*, **9**, 13733 (2019)
- 18) Alison, M.R., *et al.*, *Cell Tissue Kinet.*, **12**, 461-475 (1979)
- 19) Deaver, D.R., *et al.*, *J Androl.*, **13**, 224-231 (1992)
- 20) Meleshko, G.I., *et al.*, in *Safe Passage: Astronaut Care for Exploration Missions*, 37-74, National Academies Press (2001)

(*1 大阪大学微生物病研究所, *2(国研)宇宙航空研究開発機構 (JAXA) 有人宇宙技術部門きぼう利用センター)