

課題番号	LS065
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ホーミングにおける精子幹細胞の動態の分子的解析
研究機関・ 部局・職名	京都大学・医学研究科・助教
氏名	篠原美都

1. 当該年度の研究目的

本研究は精子幹細胞のホーミングに関わる分子群を明らかにすることを目的とし、平成25年度の研究ではセルトリ細胞や接着分子がホーミングにおいて果たす役割を明らかにするために、以下の3点について調べた。**1)セルトリ細胞側での分子機構**:セルトリ細胞側で発現する α -catenin, β -catenin, cdc42, Rac-1, aPKC λ /z など他の候補分子について、ホーミングへの関与を調べた。**2)他の接着因子の検索**: Adherens junction の形成に関与し Cadherin 分子とも相関する Nectin3 およびその下流の Vav2 や E-cadherin など、GS 細胞に発現する分子を中心に、ホーミングへの関与を調べた。**3)Tight junction 構成分子 claudin の関与**:精子幹細胞やセルトリ細胞には Tight junction を構成する複数の claudin ファミリー分子が発現している。これらの claudin 分子が、精子幹細胞の精子形成における生殖細胞の移動や分化の制御など様々な局面において使い分けをされており、移植時のホーミングではその機能の一部が転用されているという仮説をたて、検証した。

2. 研究の実施状況

1)セルトリ細胞側での分子機構: α -catenin, β -catenin, cdc42, Rac-1, aPKC λ /z の conditional ノックアウトマウスを宿主として、精子幹細胞の移植アッセイにて、これらの分子のホーミングへの関与を調べた。また、overexpression による効果も判定するため、これらの分子を発現するレンチウイルスベクターを作成し、内因性の精子形成の欠損した W マウスのセルトリ細胞に感染させ、移植アッセイにて関与を調べたが、有意な変化は見られなかった。**2)他の接着因子の検索**:Nectin3 および Vav2 の変異体を GS 細胞に遺伝子導入し、試験管内で MEF への接着効率を調べる他、in vivo でも精細管への移植アッセイでホーミングへの影響を調べたが、有意な差は見られなかった。**3)Tight junction 構成分子 claudin の関与**:精子幹細胞培養株および W マウス精巣の両方で発現する claudin 分子についてレンチウイルスにて強制発現した GS 細胞株を樹立した。これらの細胞を精細管内に移植したがコロニー形成効率に影響はなかった。また宿主精巣では正常な精子形成像が見られることから、これらの分子はドナー細胞の分化には影響を及ぼさないことが分かった。また in vivo にてセルトリ細胞に claudin 分子を強制発現させ、精子幹細胞の移植アッセイを行ったが、コロニー形成率に影響しないことから、セルトリ細胞におけるこれらの分子の発現はホーミングに関与しないことが分かった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計5件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計5件 *corresponding author</p> <p>Ishii K., <u>Kanatsu-Shinohara M.</u>, *Shinohara T. Cell-cycle-dependent colonization of mouse spermatogonial stem cells after transplantation into seminiferous tubules. <i>J. Reprod. Dev.</i> 60(1), 37-46 (2014).</p> <p><u>Kanatsu-Shionohara M.</u>, Mori Y., Shinohara T. Enrichment of mouse spermatogonial stem cells based on aldehyde dehydrogenase activity. <i>Biol. Reprod.</i> 89(6), 140 (2013).</p> <p>*<u>Kanatsu-Shinohara M.</u>, Shinohara T. Spermatogonial stem cell self-renewal and development. <i>Annu. Rev. of Cell and Developmental Biology</i> 29, 163-187 (2013).</p> <p>Takashima S., Hirose M., Ogonuki N., Ebisuya M., Inoue K., <u>Kanatsu-Shinohara M.</u>, Tanaka T., Nishida E., Ogura A., *Shinohara T. Regulation of pluripotency in male germline stem cells by Dmrt1. <i>Genes Dev.</i> 27(18), 1949-1958 (2013).</p> <p>Morimoto H., Iwata K., Ogonuki N., Inoue K., Ogura A., <u>Kanatsu-Shinohara M.</u>, Morimoto T., Yabe-Nishimura C., *Shinohara T. ROS are required for spermatogonial stem cell self-renewal. <i>Cell Stem Cell</i> 12(6), 774-786, 2013.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表</p> <p>計1件</p>	<p>専門家向け 計1件</p> <p>平成25年11月18日</p> <p>JST 戦略的創造研究推進事業(さきがけ)第4回「細胞機能の構成的な理解と制御」領域会議</p> <p>篠原美都「精子幹細胞の寿命と精子形成への寄与の動態解明」</p> <p>沖縄科学技術大学院大学(OIST)</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	<p>篠原研究室ホームページにて研究成果を紹介。 http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/~molgen/index.html</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>平成 25 年 12 月 21 日 篠原美都「精子を作る幹細胞のお話」 「京都大学アカデミックデイ 2013 –京都大学の研究者とあなたで語り合う日-」 京都大学百周年時計台記念館 対象者：広く一般国民 参加者数：529名（1日の延べ来場者数） 内容：市民や研究者、文系、理系を問わず、誰もが学問の楽しさ・魅力に気付くことができる「対話」の場となることを目指している。国民と科学・技術に関わる本学の研究者が直接対話することで、本学の研究活動をわかりやすく説明するとともに、国民の声を本学における研究活動に反映させることを1つの目的としている。</p>
新聞・一般雑誌等掲載計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	124,000,000	82,500,000	41,500,000	0	0
間接経費	37,200,000	24,750,000	12,450,000	0	0
合計	161,200,000	107,250,000	53,950,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	57,545	41,500,000	0	41,557,545	41,557,545	0	0
間接経費	22,212,956	12,450,000	0	34,662,956	34,662,956	0	0
合計	22,270,501	53,950,000	0	76,220,501	76,220,501	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	35,500,626	細胞培養用試薬、プラスチック、一般試薬等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	6,056,919	動物飼育管理費、サンプル配送料等
直接経費計	41,557,545	
間接経費計	34,662,956	
合計	76,220,501	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		