

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

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

【研究目的】

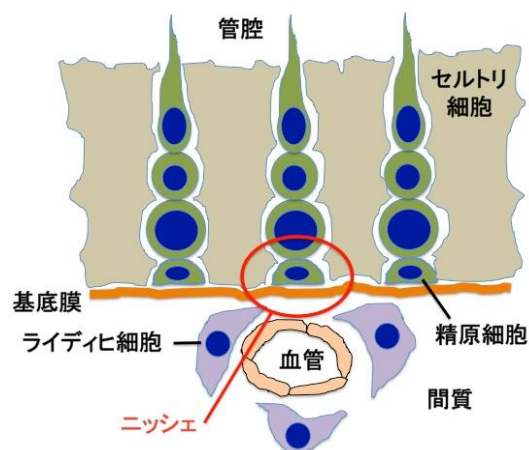
幹細胞はニッチと呼ばれる特殊な微小環境において生息している。ハエや線虫ではニッチが自己複製や分化といった幹細胞の機能調節の根幹をなしていることが知られているが、哺乳類では未だ十分にニッチを捉えることができていない。

精子形成の源である精子幹細胞は、精巣の精細管内に移植すると(精子幹細胞移植法)、骨髓移植における血液幹細胞と同じように、精巣のニッチに到達しコロニーを形成する。このホーミング現象において、幹細胞は管腔側からセルトリ細胞間の Tight junction を通過後、基底膜上のニッチへと到達する。血液幹細胞のニッチは骨髓の構造が複雑なため理解することが困難であるのに対し、精巣は解剖学的にもニッチの構造が単純で理解しやすく、かつ幹細胞の移動経路も明確に捉えられることから、精巣はニッチの機能解明に極めて適したモデル系となりうる。

研究代表者は精子幹細胞のニッチへのホーミング現象を明らかにすることを旨とし、これまで独自に(1)精子幹細胞培養系(GS細胞培養系)を確立し、また(2)精子幹細胞の遺伝子操作と精細管への移植アッセイを作った。それにより2008年に精子幹細胞のホーミング制御分子として初めて b1-Integrin 分子を同定した(Kanatsu-Shinohara M. et al. *Cell Stem Cell* 2008; 3(5): 533-542)。

初めての関与分子として b1-Integrin が同定されたものの、ホーミングは多段階に進行する現象であり多数の制御分子の関与が予想される。そこで本研究では、それらの分子群を一網打尽に同定し、ホーミングにおける精子幹細胞の動態の全体像を理解することを目標に定めた。また技術面では、精子幹細胞のホーミング

を in vitro でアッセイすることのできる培養系がないことが研究の進捗を妨げていたため、セルトリ細胞を用いたアッセイ系を確立し、多数の候補分子のスクリーニングに活用することを目指した。



【総合評価】	
	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は精巣における幹細胞ニッチの構成要素を明らかにするため、精子幹細胞のホーミングの諸過程に関わる分子メカニズムを解析した。研究の推進とその進展経過に大きな問題はみられず、順調に推移しているとの印象を持つ。得られた研究成果には先進性および優位性がみられる。さらに期待すると、これまでの研究でホーミングに関わる分子として同定されたものは細胞間、細胞—細胞外基質接着には一般的な分子であり、精子幹細胞の特異性を十分には説明できておらず、この課題への挑戦という点である。一方、in vitro 実験系が確立されたことから、細胞生物学の専門家との共同研究が可能であり、有益な手段と思われる。今後の進展と努力を大いに期待する。研究成果の社会的・経済的な貢献については、現時点ではその到達には疑問の余地がある。事業終了後も、研究成果の実現に努力するだけでなく、社会貢献に繋がる成果、国民への情報発信・対話・交流に、より一層の工夫と努力を期待したい。

② 目的の達成状況

・所期の目的が
 全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった

精巣における幹細胞ニッチの構成要素を理解するという研究目標に向けて、研究申請段階では6つの具体的な課題を設定されている。これらの課題は研究代表者が所属する研究室で得られた成果を基にしたものであり、非常に高い独創性を有する。この中で当初の予定通りに成果が得られたものと、予期せぬ結果に終わったものがある。中でも Claudin3 がホーミングに関与するとの発見は興味深い。本実験における in vivo (精巣への幹細胞の移植) のホーミングが生体内でどのような意味があるかは十分に理解できないところであるが、生殖細胞が分化の過程でセルトリ細胞のタイトジャンクションを越えて移動することを考えれば、更なる広がり期待できる成果である。また、CXCR4/CXCL12 シグナルがホーミングを活性化する分子メカニズムの理解も進んだと言える。E-cadherin ノックアウトマウスからは期待した結果が得られなかったものの、行うべき実験であったと思う。

一般に幹細胞研究は実験系に多くの制約があり、特に幹細胞の複製の場であるニッチの複雑さから分子レベルでの解析が遅れている。申請者らの開発した精子幹細胞系では in vivo および in vitro のユニークな実験系により従来は困難であった幹細胞研究の問題点を分子レベルで解決できる可能性がある。申請者はこれらの実験系を用いて既に具体的な研究結果を得ており順調な進捗状況である。また、実験系が確立

されたことにより目標設定は具体的であり、初期の目的は十分に達成されたと思う。また、平成25年度計画で新たに付け加えられた claudin の解析は、これまでの研究から見出された新たなホーミング分子であり、研究課題のさらなる発展が期待される分野である。

さらに期待するところは、これらの実験系を用いてホーミングに限らず幹細胞・ニッチ細胞との相互作用を広く研究してほしい点である。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

セルトリ細胞を用いた in vitro ホーミングの実験系は非常に興味深い。精子幹細胞の長期培養法、in vitro の精子幹細胞ホーミングアッセイ系を確立することにより国際的にも本研究分野における圧倒的な技術的優位性ならびに先進性を保持していると考えられる。特に無血清培地を用いてセルトリ細胞の機能維持を可能にした点、セルトリ細胞への直接 in vivo 遺伝子導入法などは素晴らしい。移植時に見られる精子幹細胞のホーミングが何を意味するのかは議論の余地があるものの、本研究で明らかになった claudin ファミリーの精子幹細胞のホーミングへの関与は非常に興味深い発見である。これは単に幹細胞のホーミングのみならず、生殖系列細胞がセルトリ細胞のタイトジャンクションを越えて精細管腔内に移動する現象との関連も想起させることから、今後の展開が大いに期待できる。

本研究課題では、セルトリ細胞の初代培養によりニッチ機能を in vitro で再現することに成功した点が技術的なブレークスルーであると考えられる。この実験系を用いて精子幹細胞のホーミング分子を複数個明らかにした点も特筆すべき研究成果といえるが、これらの研究成果が及ぼす具体的な波及効果や社会的貢献が今の段階では未知数であり、これを考えるとこれらの結果がブレークスルーと呼ぶべき成果であるかどうかは疑問である。

他分野への波及効果という点では特に無さそうである。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

本研究課題は基本的には基礎研究であり、細胞研究領域ならびに生殖生物学研究領域に大きな貢献が認められる。すなわち、研究成果は他の動物種の精子幹細胞動態の理解や、また造血幹細胞や神経幹細胞など他の幹細胞システムの理解に役立つものと

十分に予想されるが、現段階で社会的・経済的課題の解決に直結するものではない。男性不妊症治療や小児癌などを対象とした精子幹細胞保存などへの貢献が見込まれるとしているが、具体的なロードマップなどは不明確で実現にはかなりの時間がかかるのではないかと予想される。また貢献は見込まれるとしてもその効果は限定的であり、現実的な有用性は未知数と言わざるをえない。多くの基礎研究がそうであるように、中には将来的にその成果が社会的・経済的課題の解決に寄与することがある。そのような観点から本研究課題にもそのような可能性があるはずである。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが（行われた ・ 行われなかった）

研究目的達成に向けてプロジェクトは順調に進行しており、それに伴って実施体制、マネジメント、助成金の使途などは適切に行われたと思える。ただ1点指摘するとすれば、研究に参加している人数（平成24年度は研究代表者の他に大学院生1名）からは物品費の使用額が明らかに多過ぎる。特殊な培養や多数のマウスを維持（マウスの維持については別経費として計上）していることから、それなりの費用がかかることは理解するが、この人数でこの金額を使用するのは不可能と思われる。

研究成果の発表は適切かつ積極的に行われていると考えられる。補助事業期間内に発表した論文15報とあるが、この全てが本研究課題の成果として発表されているのか、それとも他の研究費による成果なのかは不明である。

京都大学学術支援室と研究国際部による京都大学アカデミーにおいてポスター発表を行い、大学生・高校生に自身の研究成果と関連の事項を説明している。これは日々の研究を推進する中で、それなりに時間をとられるものの重要な活動である。ただし、もう少し積極的な関与があっても良いのではないかと感じる。これはかならずしも研究代表者個人の問題に帰結するものではなく所属機関等がオーガナイズすることで、そのような場を研究者に提供するような企画が必要と思われる。研究代表者はその必要性を感じていると思うが、日々の研究の中でそのようなことをひとりで企画・実施する時間はないと思われる。