

研究 成 果 報 告 書

研究テーマ (和文)	精子幹細胞の運命決定における『幹細胞の揺らぎ』の存在意義を示す		
研究テーマ (英文)	Deciphering the role of stem cell fluctuation in mammalian spermatogenic system.		
研究期間	2019年 ~ 2020 年		研究機関名 信州大学
研究代表者	氏名	(漢字)	高 島 誠 司
		(カタカナ)	タカシマ セイジ
		(英文)	Seiji Takashima
	所属機関・職名		信州大学 学術研究院理工学域・准教授
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字～800字程度にまとめてください。)

体内の精子幹細胞は定期的かつ一様に強力な分化誘導に曝されるが、実際に分化するのはごく一部である。このとき、幹細胞が分化／未分化状態維持のどちらを選択するか、その決定機序は不明である。一方私は、培養精子幹細胞において、『分化誘導因子受容体の揺らぎ(発現変動)』を見出し、この現象が幹細胞の運命決定に関わるのではないかと考えた。本研究では、幹細胞の運命選択に『幹細胞の揺らぎ』が関与するかを検証することを目的とした。

申請者は2014年度の住友財団の助成を受け、精巣内の精子幹細胞集団を『FGF2-dependent spermatogonia (F-SPG)』『GDNF-dependent spermatogonia (G-SPG)』の2つの亜集団に分類できることを見出した。*In vivo*, *in vitro* 双方においてこれらの細胞は分化マーカーで区別でき、F-SPGはGFRA1⁺RARG⁺、G-SPGはGFRA1⁺RARG⁻であった。RARGは分化誘導因子レチノイン酸の受容体であり、幹細胞マーカーGFRA1陽性の細胞集団内でこの分子の発現が揺らぐことで、分化誘導感受性の低いG-SPG、高いF-SPGの亜集団が形成されるものと推察される。

これらの知見に基づき、2つの亜集団が周囲環境の変化によりどのように変化するかを、精巣精細管のホールマウント免疫染色により調べた。まず、加齢が与える影響について調べたところ、加齢に従いG-SPGの割合が減少し、一方でF-SPGの割合が上昇することが確認できた。しかし、実際の細胞数を調べると、7週齢から104週齢(2年齢)にかけてG-SPG, F-SPGともに増加することを突き止めた。これは、『精子幹細胞は加齢とともに減少する』という従来報告と矛盾するものであった。

現在、2つの亜集団の動態をライブイメージングでとらえるためのデバイス、及びレポーターマウスを開発を進めている。これらの技術を統合し、これらの観察結果の*in vitro*での再現と、F-SPG⇄G-SPGのゆらぎの有無を検証する予定である。

本研究課題のに関連し、精子幹細胞移植の際のドナー精巣のレチノイン酸合成・代謝能力の変化が精子幹細胞の動態に与える影響についてまとめた論文をScientific Reports誌に発表した。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）								
雑誌	論文課題	Germ cell depletion in recipient testis has adverse effects on spermatogenesis in orthotopically transplanted testis pieces via retinoic acid insufficiency.						
	著者名	Tsuchimoto et al.	雑誌名	Scientific Reports				
	ページ	10796	発行年	2	0	2	0	巻号
雑誌	論文課題							
	著者名		雑誌名					
	ページ	～	発行年			巻号		
雑誌	論文課題							
	著者名		雑誌名					
	ページ	～	発行年			巻号		
図書	書名							
	著者名							
	出版社		発行年		総ページ			
図書	書名							
	著者名							
	出版社		発行年		総ページ			

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）	
We previously found that undifferentiated spermatogonia, the subpopulation which includes stem cell, can divided into two subsets “FGF2-dependent spermatogonia (F-SPG)” and “GDNF-dependent spermatogonia (G-SPG)”. However, the roles of these subsets still remain to be elucidated. In this project, we tried to grasp the dynamics of spermatogonial stem cell subsets along with various conditions. Simultaneously we also tried to develop the live imaging system to monitor the fluctuation of stem cell subsets. Whole mount immunofluorescence analysis revealed the age-dependent change of population size of G-SPG and F-SPG. As expected, population size of G-SPG declined over adolescence, while that of F-SPG increased. However, unexpectedly, we also found that both subsets expanded their population with aging, inconsistent with the previous studies reported by Ryu et al. (Stem Cells, 2006). Simultaneously, we also developed an organ culture device and reporter mouse for capturing the dynamics of spermatogonial subsets by live imaging. We are now planning to integrate these technologies and verify our observations and observe interconversion of stem cell population between G-SPG and F-SPG.	