

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H01501

研究課題名(和文) 哺乳類の生殖腺の性的2型の維持と破綻の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Molecular characterization of mouse gonadal supporting cell lineages in a partial sex reversal

研究代表者

金井 克晃 (Kanai, Yoshiakira)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：30260326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,500,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の生殖腺の支持細胞は、睾丸、卵巣への性的2型を作り出し個体の性を決定する。この支持細胞は、皮質-髄質側に沿って性的2型の偏った多様性が存在する。髄質側にはオスに偏った支持細胞(オスのセルトリ細胞になりやすい卵巣の顆粒膜細胞)が存在し、皮質側にはメス型の支持細胞(性周期卵巣の顆粒膜細胞)が存在している。本研究は、この性的2型に偏った支持細胞の分子基盤とその性転換を誘導できる外因性のパラクライン因子を同定した。この性転換に共通して、オス型の誘導・維持、メス型への抑制に、FGFとテストステロンが機能していることを証明した。この特殊な性的未分化性を維持する分子基盤をscRNA解析により解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳動物の睾丸、卵巣の組織中に、性的に未分化性を維持した特殊な支持細胞が存在し、外からのFGFシグナルとテストステロンの作用によりこの細胞の性が逆転することと、この特殊な支持細胞の分子基盤の特徴の一端を解明したことに学術的な意義がある。ごく一部の特殊な支持細胞の性の揺らぎが、ヒト早期卵巣不全、牛フリーマーチン症などの不妊症の引き金となり得ることから、この細胞を標的とした新たな不妊症の治療、予防法の開発につながられるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In mammals, sex differentiation is initially induced in the gonadal supporting cell lineages which include two minor subpopulations with intersexual states in the dorsal or ventral edges of the developing gonads. In this project, we have characterized the molecular basis of their heterogeneity and the transcriptome alterations during the sexual reversal processes in them. Here, we demonstrate that, by using two sex-reversal model systems, both FGF9 and testosterone contribute to the ectopic appearance of XX Sertoli cells in the ventral edge of the ovary, in addition to their induction of ectopic XY granulosa cells in the dorsal surface area of the testes.

研究分野：生殖生物学

キーワード：支持細胞 性的2型 heterogeneity 性転換 卵精巣 性決定 哺乳動物

### 1. 研究開始当初の背景

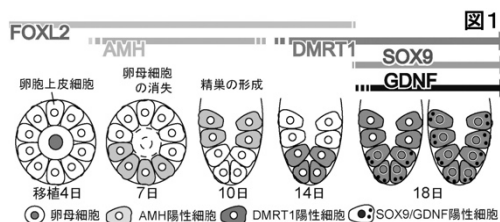
哺乳動物における生殖腺の発生は”one tissue, two fates”であり、配偶子をサポートする支持細胞(オス型のセルトリ細胞、メス型の顆粒膜細胞)が、精巣あるいは卵巣への運命決定(性腺の性決定)の主角を担う。この支持細胞の性決定は、Y染色体上の性決定遺伝子 *Sry* に支配され、雄の支持細胞は *Sry* 発現を契機として、精巣化因子 SOX9(哺乳類では精巣化因子、メダカでは生殖幹細胞のニッチ形成因子)、GDNF(精原幹細胞の主要ニッチ因子)、AMH(ミューラー管阻害因子)、SOX8(SOX9の相補因子)、DMRT1(線虫、ハエの段階から保存されたDM転写因子)などの精巣化遺伝子を正確な時間制御のもとに発現させることでセルトリ細胞へと分化し、精巣を構築する。雌の胎子性腺では、その支持細胞は、WNT4 や FOXL2 などの卵巣化因子を発現することで、顆粒膜細胞へと分化し、卵胞を有する卵巣を構築する。

申請者らは、近年、性を決定する支持細胞の性的 2 型において heterogeneity が存在し、髄質側にはオス型、皮質側にはメス型の支持細胞が、片側の性に偏った特殊な支持細胞系譜の存在を見出した。オス化しやすい特殊な顆粒膜細胞は、生後すぐに開始する最初の(1<sup>st</sup> wave)卵胞形成に寄与し(Harikae et al., *J Cell Sci* 2013)、成体では髄質領域の卵巣間質腺の形成に寄与することを見出している(Shinomura et al., *Reproduction* 2014)。さらに、この精巣での相同細胞(髄質側のセルトリ細胞)は、生後 2 週齢から直精細管を構築し、精原幹細胞ニッチとしてセルトリバルブを形成することを明らかにしている(Aiyama et al., *Stem Cells* 2015)。一方、精巣の皮質側ではメス型の二次性索を構築する支持細胞が維持されていることも見出している(Imaimatsu et al., in prep)。しかし、この性的 2 型に偏りをもつ特殊な支持細胞の起源とその heterogeneity の分子基盤は不明のままである。

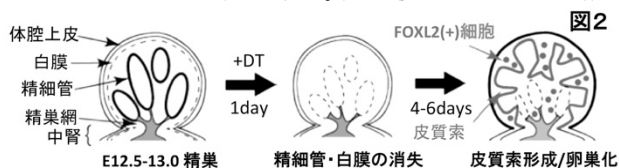
### 2. 研究の目的

本研究課題により、性的 2 型に偏りがある特殊なマウス支持細胞(セルトリ細胞、顆粒膜細胞)の皮質-髄質に沿った heterogeneity の分子基盤を一細胞トランスクリプトーム解析により明らかにする。さらに、マウスの胎子セルトリ細胞、顆粒膜細胞の雄性ホルモンの有無による性的 2 型の揺らぎの分子機序について、下記の雌雄双方向の性転換の誘導モデルを用いる:

① 卵巣からの精巣化モデル:通常、雌ヌードマウス(腎臓皮膜下)に胎子卵巣(野生型、胎齢 13 日 [E13.0])を移植すると正常な卵胞発育が誘導され、卵巣へと発達する。しかし、雄ヌードマウス(父性環境)に移植した胎子卵巣は、移植後 7 日目まで卵巣発生が維持されるが、その後、卵胞は退行し、精巣化因子の一つである AMH の発現が一過性に上昇し、精細管様構造の形成が誘導される。移植後 18 日までに髄質領域の精巣様構造での雌マーカー FOXL2 が発現低下し、雄マーカー SOX9/GDNF 陽性のセルトリ様細胞へと性転換する(図 1)。



② 精巣からの卵巣化モデル(AMH-TRECK による XY 卵精巣化モデル):ヒト AMH プロモーターによりジフテリア毒素(DT)受容体を支持細胞で発現する AMH-TRECK 系統(Shinomura et al. 2014)を利用して、胎齢 12.5-13.0 日の精巣からセルトリ細胞を DT 処理により除去する。除去後 2-3 日目から精巣上皮から二次性索(卵巣皮質)の形成が開始し、4 日目以降には FOXL2 陽性の顆粒膜細胞が出現し、卵巣化が誘導される。この際、*Wnt4*, *Lgr5* の発現の上昇に伴い、FOXL2 陽性の顆粒膜様細胞が出現する。



これらの卵巣からセルトリ細胞、精巣から顆粒膜細胞を誘導する性転換系を用いて、この性転換を基盤とする特殊な支持細胞の遺伝子背景と性転換へと誘導される引き金、その下流の分子カスケードを解明する。これにより、哺乳類での一部の支持細胞の性転換と性分化疾患との関連性を紐解く。

### 3. 研究の方法

雌雄双方向の卵精巣化の誘導モデルを用いて下記の実験を行い、そのデータを解析する。

① 雄マウスへの移植卵巣の精巣化モデル:i) 卵巣の雄ヌードマウス移植におけるホスト側の性ホルモンの影響: 既に、マウス E13.0 の XX 卵巣の精巣化での網羅的なトランスクリプトーム解析を行い、父性環境下による XX 精巣化誘導において、E12.5 の XY,XX 支持細胞での各々約 1/3 の精巣、卵巣特異的遺伝子が、移植後 14-18 日目までに雌雄逆転することが判明している。そこで、雄ホストマウスの去勢、去勢後のテストステロン(T)、ジヒドロテストロン(DHT)投与、雌ホストマウスと雌ホストに T、DHT 投

与した4種類ホストを作出し、そのホスト側の性ステロイドホルモンの胎子卵巣の精巢化のパターンを遺伝子発現、形態計測により検討する。また、AR (androgen receptor) の発現部位、その下流に位置する応答遺伝子群の発現パターンを解明する。ii) ドナーの胎子卵巣側の精巢関連因子の影響: *Sox8* および *Amh* 遺伝子の各々の欠損マウスを Crispr/Cas9 にて作出し、*Sox8*<sup>-/-</sup>, *Amh*<sup>-/-</sup> 胎子の卵巣をドナーとして雄ヌードマウスに移植する。野生型の場合と比較し、移植された *Sox8*<sup>-/-</sup>, *Amh*<sup>-/-</sup> 卵巣の卵胞退行への抵抗性、SOX9 陽性のセルトリ様細胞の出現頻度を定量化する。これらの実験により、卵巣の髄質領域の雄側に偏った卵胞からの雄性化過程で、ホスト側のテストステロン、卵巣側の内在性の *Sox8*, *Amh* 遺伝子の関与について明確化する。iii) 卵巣の体細胞の heterogeneity の解析: 性転換しやすい卵巣の髄質の顆粒膜細胞の特性を理解するため、野生型マウスの胎齢 13 日の性分化後 (LGR5<sup>+</sup>, FOXL2<sup>+</sup>, NR2F2<sup>+</sup> 細胞が共存するステージ) の卵巣をシングルセル化し、次世代シーケンサーにより一細胞ごとの遺伝子発現の定量データを得る。そこから、Seurat package を用いてクラスタリング、t-SNE 解析、マーカー遺伝子解析を行い、顆粒膜細胞の heterogeneity の分子基盤を理解する。

②胎子セルトリ細胞の除去後の精巢の卵巣化モデル: i) 胎子精巢の卵巣皮質形成モデルにおいては、AMH-TRECK Tg 精巢から DT 処理によりセルトリ細胞を除去後、2日目頃から卵巣皮質索の誘導と XY 顆粒膜細胞の分化が誘導される。DT 投与後、12 時間から 96 時間までの AMH-TRECK サンプルを継時的に回収し、遺伝子発現の変化を次世代 RNAseq 解析により明確化する。この卵巣皮質形成において発現上昇する遺伝子群と正常な卵巣化で上昇する遺伝子群 (既知の RNAseq データ) の間の共通のコア・カスケードを抽出する。

ii) 器官培養系を用いて、卵巣皮質形成を抑制しているセルトリ細胞由来のシグナル因子の同定を試みる。AMH-TRECK 胎子精巢を DT 存在下で 24 時間培養した後、FGF9, AMH, テストステロン etc の候補因子を加え、FOXL2 陽性の顆粒膜細胞 (皮質索) の形成への阻害効果を検討する。

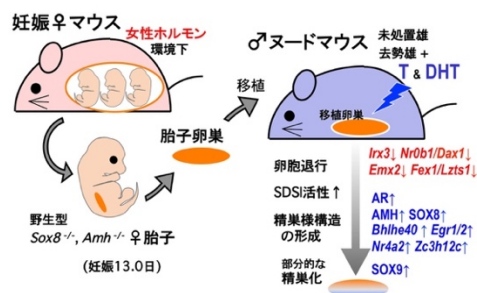
これにより、シグナル刺激等による雌雄双方の卵精巢化の誘導過程での性転換のコアカスケードを決定する。その性転換の基盤となる支持細胞の heterogeneity の分子基盤を解明する。

#### 4. 研究成果

①髄質領域に存在するオス型に偏った支持細胞の特性解析:

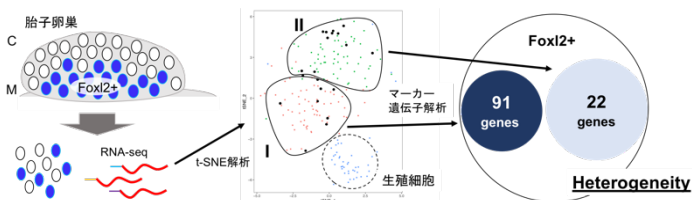
i) テストステロン (T) 依存的な SOX9<sup>+</sup>セルトリ様細胞の誘導: 通常雄ヌードマウスに胎子卵巣を移植した場合、性転換の過程 (移植後 0~20 日) での遺伝子発現の変化は、初期卵巣遺伝子 (*Irx3*, *Nr0b1/Dax1*, *Emx2*, *Fez1/Lzts1* など) の発現が急速に減少、移植中盤に、精巢化に関わる *Ar* (androgen receptor), *Amh*, *Sox8* の発現が一過性に上昇し、移植後半までに幾つかの初期精巢転写因子 (*Egr2*, *Nr4a2*, *Zc3h12c* etc) の発現が増加し、SOX9 陽性セルトリ様細胞が出現する。本研究では、ホスト側の去勢雄、雌ヌードマウスに T、ジヒドロテストロン (DHT) 処理を施すことで、移植卵巣での雄性化に対するホスト側の性ホルモンの影響を検討した。その結果、T, DHT 処理により去勢雄、雌ヌードマウスともに移植卵巣の雄性化が進行し、雌ヌードマウスのホストに T, DHT を処理することにより SOX9 陽性セルトリ細胞数が有意に増加することが判明した。このテストステロンの作用機序を確認するため、移植卵巣での AR の発現を検討した結果、退行中の卵胞上皮、精細管様構造の支持細胞に強く発現しており、さらに AR の下流遺伝子 *Ube2*, *B4gaint1*, *Tubb3* の発現も上昇することを確認した。この結果から、「移植卵巣の精巢化の引き金は、ホスト由来のテストステロンである」ことが証明された。

一方、ドナー側を野生型、*Sox8*<sup>-/-</sup>, *Amh*<sup>-/-</sup> 胎子の移植卵巣と比較した結果、卵胞退行は野生型と比べ *Sox8*<sup>-/-</sup>, *Amh*<sup>-/-</sup> 群で有意に抑制され、*Sox8*, *Amh* の一過性の発現が、卵胞の退行・精巢様構造の形成へ正に関与していることが示唆された。しかし、移植 20 日目の時点では、野生型、*Sox8*<sup>-/-</sup>, *Amh*<sup>-/-</sup> 胎子のいずれの移植卵巣も、誘導される SOX9 陽性セルトリ細胞数には有意な差異がなく、SOX9 陽性セルトリ細胞の出現には、移植卵巣側の SOX8, AMH 活性が必須でないことが遺伝学的に証明された。なお、興味深いことに、この性転換における一部の発現上昇した初期精巢化因子は、成体雌の成熟卵胞の退行、黄体化の過程に発現する因子と overlap していることが判明した。つまり、テストステロンが引き金となる「移植卵巣の精巢化 (精巢様構造の形成) は、通常卵巣の卵胞閉鎖・黄体化の転写カスケードにより起動されている」ことが判明した (Miura et al., *PLoS ONE*, 2019; 右図)。



ii) 胎子卵巣の single cell RNA seq 解析: E13.0 の胎子卵巣の 418 個のシングルセル (中腎遠位側で 184 個、近位側で 234 個) の遺伝子発現プロファイルを得ることに成功した。また、中腎遠位側と近位側からそれぞれ得られた *Lgr5*, *Foxl2*<sup>+</sup> 細胞の分布に偏りが認められなかったことから、中腎近位側においても側面に位置する皮質層の細胞を多く含んでいることが想定された。次に、全ての細胞集団において、各細胞間で発現変動がみられる遺伝子を抽出し、クラスタリングと t-SNE 解析を行ったところ、卵巣細胞は 3 つのクラスターに分けられた。これらクラスタリングされた各細胞集団で

マーカーとなる遺伝子について数理的処理により探索を行なった結果、卵母細胞などの生殖細胞(Germ cell)は1つの細胞集団として分けられ、一方の体細胞は 2 つの大きな集団(Soma 1, 2)に区別できることが判明した。二分された体細胞集団は、*H19*, *Fst*, *Cdkn1c* といった増殖制御に関与する因子の発現差により特徴づけられた。*Lgr5*, *Foxl2*, *Nr2f2* 遺伝子の発現は、多くの一細胞で重複した発現が認められなかったことから、各陽性細胞は異なる体細胞集団を形成することが再確認された。*Foxl2*<sup>+</sup>, *Lgr5*<sup>+</sup>, *Nr2f2*<sup>+</sup> 細胞に特徴的な遺伝子群として、*Foxl2*<sup>+</sup> 細胞で 83 遺伝子、*Lgr5*<sup>+</sup> 細胞で 54 遺伝子、*Nr2f2*<sup>+</sup> 細胞で 44 遺伝子を同定した。また、*Foxl2*<sup>+</sup>, *Lgr5*<sup>+</sup>, *Nr2f2*<sup>+</sup> 細胞は、それぞれ Soma-1, -2 にまたがって分布したことから、各陽性細胞の遺伝子発現には heterogeneity が存在することが示唆された。この時期の *Foxl2*<sup>+</sup> 顆粒膜細胞は、分裂を停止した休止状態であることから、さらにその heterogeneity の分子基盤を探索するため、*Foxl2* 陽性細胞において別クラスタに分類された細胞間の発現変動遺伝子を解析した。その結果、Soma-1 に属する群では *Hmgb2*, *Hdac3*, *Hist1h1b* を含む 91 遺伝子、Soma-2 では *Hmgb1* を含む 22 遺伝子の発現がそれぞれ他方に比べて上昇していることが明らかとなり、クロマチンのリモデリング、エピジェネティック因子がこの heterogeneity を特徴づけていることが判明した。この結果、おそらく「髄質側(精巣網)からの何らかのパラクライン因子によりこれらの heterogeneity が付加されている」ものと想定された (Imaimatsu, Takano 未発表; 右図)。



iii) 髄質領域のオス型に偏った支持細胞の精巣での相同細胞の解析: 上記のオス型の *SOX9*<sup>+</sup> 顆粒膜細胞の雄での相同の細胞は、曲精細管の基部(最も髄質側)に存在するセルトリバルブ(SV; セルトリ細胞で構築された弁構造)である。SV と通常の曲精細管のセルトリ細胞の形成機序を解明するため、AMH-TRECK マウスの SV 領域をジフテリア毒素により除去し、ドナー由来のセルトリ細胞を移植・置換する SV 再構築実験を行った結果、SV 領域に移植されたセルトリ細胞は非細胞自律的に SV を再構築することが判明している。この SV 領域化は、髄質側(精巣網組織)に存在するパラクライン因子により精巣網と接しているセルトリ細胞が SV へと誘導されているものと想定されるため、SV、精巣網での遺伝子発現解析を行なった結果、そのパラクライン因子の有力候補として、精巣網由来の FGF, TGFβ シグナルが同定された (Imura-Kishi et al. 2021; Uchida et al., submitted)。

② 皮質領域に存在する雌に偏った支持細胞の特性解析: i) 胎子精巣の体腔上皮からの顆粒膜細胞の誘導: 胎子精巣のセルトリ細胞除去による卵巣化については、AMH-TRECK 系統の Tg と同腹の Wt の XY 胎子精巣を用いて、DT 処理後 12 時間目(セルトリ細胞除去)の培養群と卵巣形成が誘導される 4 日目の培養群での RNA 発現変化についてマイクロアレイ/RNAseq 解析を行った(雌特異的な 156 個の遺伝子を同定)。AMH-TRECK の胎子精巣を DT 存在下で 24 時間培養した後、DT 非存在下で培養を継続した場合、セルトリ細胞の消失に伴い卵巣化遺伝子 *Foxl2*, *Hmgs2*, *Wnt4*, *Irx3*, *Esr1* の発現上昇が誘導された。さらに、In situ hybridization による解析の結果、発生後期から生後卵巣の卵巣皮質素において特異的な発現が知られている *Lgr5*, *Gng13* の皮質側における局所的な発現が確認された。以上の結果から、「セルトリ細胞除去による卵巣索の形成は、通常の生後 1-4 日目で生じる性周期卵胞の誘導と共通のコア・カスケードにより起動されている」ことが判明した。この精巣からの卵巣索の誘導の引き金は、FGF シグナルによる抑制の解除で、*Foxl2* の誘導には胎子卵巣と同様の tissue autonomous event であると想定されるが、*Foxl2* 発現制御に関わるエストロゲンの一過性の低下による feedback 機構が寄与している可能性も示唆された。

ii) セルトリ細胞からの二次性索(卵巣皮質)誘導のパラクライン因子の同定: AMH-TRECK 胎子精巣を DT 存在下で 24 時間培養した後、FGF9, AMH, テストステロン等の候補因子を添加した結果、FGF9 の添加により *Foxl2* の発現が抑制された。また、テストステロンも同様に *Foxl2* 発現へと抑制的に関与することが示唆された。以上の結果から、「精巣上皮からの卵巣索(性周期卵胞系譜)の tissue-autonomous な誘導は、セルトリ細胞からの FGF シグナルとテストステロンにより抑制される」ものと想定された。

本研究課題により、雌雄の生殖腺には、髄質側にオス型の支持細胞(SDS1<sup>+</sup>顆粒膜細胞、セルトリバルブ細胞)が存在し、中腎(精巣網)側からのパラクライン因子により制御されているものと想定された。皮質側にはメス型の顆粒膜細胞(性周期卵胞の顆粒膜細胞で、雄では精巣の被覆上皮が相同)が存在しており、その卵巣皮質素の誘導は、セルトリ細胞由来のパラクライン因子により抑制されていることが証明された。両者の共通のオス型への誘導・維持、メス型の抑制に FGF9 シグナル、テストステロンが機能していることが共通のコア・カスケードとして同定された。卵巣の髄質内のセルトリ細胞への誘導の引き金は、テストステロンであることが証明され、それにより通常の卵巣での卵胞閉鎖・黄体化の転写カスケードが精巣化誘導を起動していることが判明した。ツチガエルなどでは AR が精巣性決定に関与し、テストステロン/エストロゲンによる双方向の個体の性転換の引き金となることが知られている。本研究課題により、哺乳動物でもテストステロンによる精巣化の作用が一部保存されていることが証明された。特に雌では、ヒト早期卵巣不全、牛フリーマーチン症の引き金が、胎子期のアンドロゲン暴露であることを強く支持する研究成果となった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Imura-Kishi K, Uchida A, Tsunekawa N, Suzuki H, Takase HM, Hirate Y, Kanai-Azuma M, Hiramatsu R, Kurohmaru M, Kanai Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Low retinoic acid levels mediate regionalization of Sertoli Valve in the terminal segment of mouse seminiferous tubules.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 1110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-79987-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamada R, Oguri A, Fujiki K, Shirahige K, Hirate Y, Kanai-Azuma M, Takezoe H, Akimoto Y, Takahashi N, Kanai Y.	4. 巻 14
2. 論文標題 MAB21L1 modulates gene expression and DNA metabolic processes in the lens placode.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dis Model Mech	6. 最初と最後の頁 dmm049251.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dmm.049251.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamada R, Oguri A, Fujiki K, Shirahige K, Takezoe H, Takahashi N, Kanai Y	4. 巻 543
2. 論文標題 Single-cell transcriptional analysis reveals developmental stage-dependent changes in retinal progenitors in the murine early optic vesicle.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 80-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.01.043.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yanai S, Baba T, Inui K, Miyabayashi K, Han S, Inoue M, Takahashi F, Kanai Y, Ohkawa Y, Choi, MH, Morohashi K	4. 巻 11
2. 論文標題 Gene expression and functional abnormalities in XX/Sry Leydig cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80741-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miura K, Harikae K, Nakaguchi M, Imaimatsu K, Hiramatsu R, Tomita A, Hirate Y, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Ogura A, Kanai Y.	4. 巻 14
2. 論文標題 Molecular and genetic characterization of partial masculinization in embryonic ovaries grafted into male nude mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0212367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0212367.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nomura R, Kashimada K, Suzuki H, Zhao L, Hosokawa-Tsuji A, Yagita H, Takagi M, Kanai Y, Bowles J, Koopman P, Kanai-Azuma M, Morio T.	4. 巻 132
2. 論文標題 Nr5a1 suppression during the fetal period optimizes ovarian development by fine-tuning of Notch signaling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cell Sci	6. 最初と最後の頁 pii: jcs223768.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.223768.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitadate Y, Jorg DJ, Tokue M, Maruyama A, Ichikawa R, Tsuchiya S, Segi-Nishida E, Nakagawa T, Uchida A, Kimura-Yoshida C, Mizuno S, Sugiyama F, Azami T, Ema M, Noda C, Kobayashi S, Matsuo I, Kanai Y, Nagasawa T, Sugimoto Y, Takahashi S, Simons BD, Yoshida S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Competition for Mitogens Regulates Spermatogenic Stem Cell Homeostasis in an Open Niche.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell.	6. 最初と最後の頁 79-92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2018.11.013.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Imaimatsu K, Fujii W, Hiramatsu R, Miura K, Kurohmaru M, Kanai Y.	4. 巻 64
2. 論文標題 CRISPR/Cas9-mediated knock-in of the murine Y chromosomal Sry gene.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Reprod Dev.	6. 最初と最後の頁 283-287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2017-161.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takase MH, Kanai-Azuma M, Kanai Y	4. 巻 2014
2. 論文標題 Differentiation of ovaries.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reference Module in Biomedical Sciences	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-801238-3.65395-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miura K, Tomita Y, Kanai Y	4. 巻 -
2. 論文標題 Sex determination and differentiation in mammals.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reproductive & Developmental Strategies: the Continuity of Life	6. 最初と最後の頁 407-433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56609-0_20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Igarashi H, Uemura, M, Hiramatsu R, Hiramatsu R, Segami S, Pattarapanawan M, Hirate Y, Yoshimura Y, Hashimoto H, Higashiyama H, Sumitomo H, Kurohmaru M, Saijoh Y, Suemizu H, Kanai-Azuma M, Kanai Y.	4. 巻 99
2. 論文標題 Sox17 is essential for proper formation of the marginal zone of extraembryonic endoderm adjacent to a developing mouse placental disk.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biol Reprod	6. 最初と最後の頁 578-589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/iory079.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miura K, Murata C, Harikae K, Suzuki H, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Tsunekawa N, Kanai Y.	4. 巻 63
2. 論文標題 Defects in the first wave of folliculogenesis in mouse XO ovaries.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Reprod Develop	6. 最初と最後の頁 333-338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2017-033.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kishi K, Uchida A, Takase HM, Suzuki H, Kurohmaru M, Tsunekawa N, Kanai-Azuma M, Wood SA, Kanai Y.	4. 巻 154
2. 論文標題 Spermatogonial deubiquitinase USP9X is essential for proper spermatogenesis in mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Reproduction	6. 最初と最後の頁 135-143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/REP-17-0184.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Uchida A, Kanai Y.
2. 発表標題 Non-Cell Autonomous Regionalization of Sertoli Valve Niche in the Terminal Segment of the Seminiferous Tubules of Mouse Testes.
3. 学会等名 Germinal Stem Cell Biology in Gordon Research Conference, May in 2019, Hong Kong, CN. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiakira Kanai
2. 発表標題 High-FGF9/low-retinoic acid signaling states in Sertoli valve niche for spermatogenic stem/progenitor cells.
3. 学会等名 8th International Symposium on vertebrate sex determination. Kona Hawaii, April 16 - 20, 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平松竜司、村田千晴、三浦健人、平手良和、金井正美、金井克晃
2. 発表標題 Amh欠損雄マウスを用いたミューラー管遺残症における遺残子宮の比較病態解析 ワークショップ「脊椎動物の性決定、性分化の分子機構」
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2018年11月29日
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Kanai Y.
2. 発表標題 A Niche for GFR 1-Positive Spermatogonia in the Terminal Segments of the Seminiferous Tubules in Mammalian Testes.
3. 学会等名 The International Research Symposium on Regulation of Germ Cell Development in vivo and in vitro. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今井松 健也、板橋 寛嗣、富田 絢子、平松 竜司、金井 克晃
2. 発表標題 マウス性分化期におけるFGF9による生殖腺上皮の卵巣皮質の誘導制御.
3. 学会等名 第114回 日本繁殖生物学会大会, オンライン開催2021.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井松 健也、板橋 寛嗣、富田 絢子、平松 竜司、金井 克晃
2. 発表標題 マウス精巣上皮の性的2型とその可塑性の分子基盤.
3. 学会等名 新学術領域研究「配偶子インテグリティの構築」「全能性プログラム」 合同シンポジウム, 東京農業大学2020.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉垣 太聖、内田 あや、今井松 健也、平松 竜司、金井 克晃
2. 発表標題 精巣内圧の増加による精巣の大きさ及び精子発生への影響
3. 学会等名 第 162 回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場2019.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今井松 健也、平松 竜司、金井 克晃
2. 発表標題 哺乳類の性決定後精巣における性的2型の維持と破綻の分子基盤の解明
3. 学会等名 先進ゲノム解析研究推進プラットフォーム・拡大班会議, ホテルメルパルク名古屋2019.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今井松 健也、平松 竜司、平手 良和、金井 正美、金井 克晃
2. 発表標題 マウス胎子卵巣支持細胞における性的2型に關与する不均一性の解析
3. 学会等名 第 162 回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場2019.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今井松 健也、平松 竜司、平手 良和、金井 正美、金井 克晃
2. 発表標題 シングルセル RNA-seq 解析によるマウス胎子卵巣のheterogeneity.
3. 学会等名 第 161 回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場2018.
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 潮田 裕紀、高瀬 比菜子、上村 麻実、平手 良和、平松 竜司、金井 正美、金井 克晃
2. 発表標題 luminal flow を形成する精巣網上皮でのマウス Sox17遺伝子の役割.
3. 学会等名 第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば国際会議場2018.
4. 発表年 2018年

## 〔図書〕 計4件

1. 著者名 金井克晃	4. 発行年 2022年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 690
3. 書名 遺伝学の百科事典. 日本遺伝学会編 (分担執筆, 性決定 Sex Determination項目)	

1. 著者名 金井克晃、平松竜司 (分担執筆)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 541
3. 書名 「遺伝子から解き明かす「性」の不思議な世界」田中実編 (分担執筆, 第6章 哺乳類の生殖腺の性)	

1. 著者名 金井克晃、金井正美	4. 発行年 2019年
2. 出版社 学窓社	5. 総ページ数 434
3. 書名 獣医発生学 第2版 T. A. McGeady 他著 木曾監修 (担当:共訳)	

1. 著者名 Kento Miura, Ayako Tomita, Yoshiakira Kanai	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer, Tokyo.	5. 総ページ数 789
3. 書名 Reproductive and Developmental Strategies. Editors: Kobayashi et al. (Eds.) (分担執筆, Chapter 20: Sex determination and differentiation in mammals.)	

## 〔産業財産権〕

〔その他〕

<p><a href="http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/kaibo/seibunka.html">http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/kaibo/seibunka.html</a> マウス生殖細胞 / 生殖腺の発生、性分化および精子発生の分子機構の解明</p> <p><a href="http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/kaibo/Sox17.html">http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/kaibo/Sox17.html</a> 発生、病態におけるSRY関連遺伝子SOXの機能</p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	平松 竜司  (Hiramatsu Ryuji)  (70555284)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教    (12601)	
研究分担者	平手 良和  (Hirate Yoshikazu)  (70342839)	東京医科歯科大学・統合研究機構・講師    (12602)	
研究分担者	九郎丸 正道  (Kurohmaru Masamichi)  (00148636)	岡山理科大学・獣医学部・教授    (35302)	
研究分担者	高瀬 比菜子  (Takase Hinako)  (40754528)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・テニュアトラック助教    (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------