

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 23 日現在

機関番号：12614

研究種目：新学術領域研究

研究期間：平成 20 年度 ～ 平成 24 年度

課題番号：20116006

研究課題名（和文） サケ科魚類生殖腺 GSC/ニッチ・システムを構成する細胞の同定と季節制御

研究課題名（英文） Regulatory mechanism of gamete stem cells in salmonidae

研究代表者

吉崎 悟朗 (YOSHIZAKI GORO)

東京海洋大学・海洋科学部・准教授

研究者番号：70281003

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物化学・発生生物学

キーワード：配偶子幹細胞、精原幹細胞、ニジマス

## 1. 研究計画の概要

①詳細な移植実験により GSC を機能的に同定し、これらの細胞を prospective に同定可能な分子マーカーを探索する。これには、GSC を高濃度で含むと予想される集団と、その他の精原細胞間でのマイクロアレイ解析を用いる。さらに、②これらの GSC の挙動を基に、GSC の維持、増殖に機能特化したセルトリ細胞、すなわち GSC のニッチ形成に貢献していることが予想されるセルトリ細胞を形態的に同定する。これらのセルトリ細胞を同定するために、本細胞で特異的に発現しているマーカー分子の探索を GSC マーカーの探索と同様のアプローチで行う。続いて、ここまでの研究で得られた情報を用いて単離した GSC およびセルトリ細胞を用いて、③GSC の in vitro 培養実験と、それに続く in vivo への移植実験を組み合わせることで、単離したセルトリ細胞のニッチ形成能を明らかにする。また、ニジマスは明瞭な季節繁殖性を有するため、④これらの GSC とニッチ細胞の出現パターンの季節変化を、その数と生殖腺内における 3 次元的位置に注目して明らかにする。なお④の解析は精巣のみならず⑤卵巣においても行うことで、哺乳動物では解析不可能な、雌性生殖腺における GSC およびニッチ形成機構の解明にも迫る。

## 2. 研究の進捗状況

ニジマスの配偶子幹細胞の性的可塑性を検証するとともに、これらの細胞の prospective な同定法構築を目指し、以下の成果を得た。

1) ニジマス卵原細胞が雌雄の配偶子に分化する能力を持つこと、さらに精巣に取り込まれた卵原細胞は精原幹細胞として振舞うこ

とを、生殖細胞移植系を用いて発見した。魚類の性の可塑性を支える GSC の柔軟な性質が明らかとなった。（吉崎：Development 2010）

2) ニジマスの GSC を組織学および移植に基づき機能的に同定することに成功した。さらに、side population 法により、移植可能な GSC を高率で濃縮できることを見出した（吉崎：未発表）。なお、得られら SP 細胞集団は哺乳類において既知のいくつかの GSC マーカーを高発現していることが確認された。これにより、繁殖期、非繁殖期の GSC/ニッチ・システムを詳細に解析する基盤が整った。さらに、この side population 法を全精巣細胞を用いて SP 集団を単離した場合でも、得られた細胞集団のほぼすべてが生殖細胞であり、本法が遺伝子組み換えを施していない、多くの産業上重要種の GSC を濃縮する際にきわめて有効な手法であることが実証された。

3) クロマグロの精原細胞を各種サバ科魚種の腹腔内に移植し、生殖腺内に到達させることに成功した（矢澤：Biol Reprod 2010; 吉崎：未発表）。宿主生殖腺内で機能的な GSC として機能し、精子と卵を作ることが期待される。

## 3. 現在までの達成度

③やや遅れている。

魚類の GSC を機能的に同定するために予定以上の時間を要した。しかし、SP 法で GSC を大幅に濃縮可能であることが明らかになったため、今後はスムーズに進行することが期待される。

## 4. 今後の研究の推進方策

上記の SP 集団に関しては現在マイクロアレイ解析を進めており、次年度中には GSC の分子マーカーを単利できるものと期待される。また、セルトリ細胞解析もすでに開始しており、後半はこの研究にも重点をおく予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① G. Yoshizaki, M. Ichikawa, M. Hayashi, Y. Iwasaki, Y. Miwa, S. Shikina, T. Okutsu, Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. **Development** 137, 1227-1330 (2010)、査読有り
- ② R. Yazawa, Y. Takeuchi, K. Higuchi, T. Yatabe, N. Kabeya, G. Yoshizaki, Chub mackerel gonads support colonization, survival, and proliferation of intraperitoneally transplanted xenogenic germ cells. **Biol. Reprod.** 82, 896-904 (2010)、査読有り
- ③ Y. Takeuchi, K. Higuchi, T. Yatabe, M. Miwa, G. Yoshizaki, Development of spermatogonial cell transplantation in Nibe croaker, *Nibea mitsukurii* (Perciformes, Sciaenidae). **Biol. Reprod.** 81, 1055-1063 (2009)、査読有り

[学会発表] (計 7 件)

- ① 吉崎悟朗、生殖細胞移植を用いた魚類の発生工学：サバからマグロは生まれるか？ 日本発生生物学会 秋季シンポジウム、2009年11月28日、静岡・三島
- ② G. Yoshizaki、Germ cell transplantation in fish. larvi 2009 5th fish & shellfish larviculture symposium、2009年9月7日、Ghent, Belgium
- ③ G. Yoshizaki、Spermatogonial Transplantation in Fish, The Second International Symposium for Fish Growth and Reproduction Satellite Symposium for 16th ICCE Meeting, 2009、2009年6月20日、香港、中国
- ④ G. Yoshizaki、Germ cell transplantation in fish: can mackerel make tuna? Genomics in Aquaculture, 2009年6月7日、Bodo, Norway.
- ⑤ G. Yoshizaki、Germ cell transplantation in fish. Second National Symposium on Aquaculture Biotechnology 2008、2008年8月14日、Bogor, Indonesia
- ⑥ G. Yoshizaki、Germ cell transplantation in fish: Application to aquaculture. Australasian Aquaculture 2008、2008年8月4日、Brisbane, Australia
- ⑦ M. Ichikawa, G. Yoshizaki、Ovarian germ cells can produce functional

sperm in rainbow trout. 6th International Symposium on fish endocrinology、2008年6月26日、Calgary, Canada