

「内分泌かく乱物質」

平成10年度採択研究代表者

諸橋 憲一郎

(岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所 教授)

「性分化機構の解明」

1. 研究実施の概要

本研究は生物個体の性分化機構を解明することを目的に行われている。特に本研究で着目している点は生殖腺の性分化過程を支える分子メカニズムであり、各種転写因子や細胞増殖因子の機能を通じて、これらの問題を理解したいと考えている。これまでに胎仔生殖腺で発現する数種の転写因子と細胞増殖因子の機能をもとに、性差の誘導機構を解析した結果、生殖腺の性分化過程で発現する遺伝子の活性化や抑制機構が分子レベルで理解されつつある。また、これらの転写因子の調節に関わる因子の解析も行っており、その中のひとつが生殖腺に異常をきたす疾患の原因遺伝子であることを明らかにした。一方、生殖腺の分化に不可欠なAd4BP/SF-1やDax-1などの核内受容体型転写因子をコードする遺伝子の転写制御機構も明らかになってきた。以上の研究から生殖腺の性分化を支える分子メカニズムが徐々に解明されつつある。今後は、更に生殖腺の性分化機構を詳細に解析すると共に、個体全体の性分化の流れを理解したいと考えている。

2. 研究実施内容

本研究は個体の性分化の分子メカニズムを理解するために行われているものであるが、主に生殖腺と脳における性差の獲得過程と機能の差異を中心に解析している。以下に研究項目毎の内容をまとめる。

1) Ad4BP/SF-1遺伝子の組織特異的転写調節機構

Ad4BP/SF-1遺伝子は遺伝子破壊マウスから生殖腺と副腎が消失することから、これらの組織の形成には必須の転写因子であることが分かっている。従ってAd4BP/SF-1がこれらの組織で特異的に発現するメカニズムを明らかにすることは極めて重要なことである。トランスジェニックマウスを作製することでAd4BP/SF-1遺伝子内に存在する組織特異的転写調節領域を解析したところ、これまでに副腎皮質と脳下垂体、視床下部腹内側核特異的転写を支配する領域を同定した。また、Ad4BP/SF-1遺伝子とその上流及び下流、およそ300 Kbを含むBACクローンを持ちいて生殖腺における発現を再現することができた。

2) M33とAd4BP/SF-1遺伝子との関連

M33はクロマチンの構造を通じ遺伝子の転写調節をおこなうことが知られている。M33

遺伝子破壊マウスがXY個体に卵巣の分化を誘導することから、生殖腺の分化に必要な遺伝子の転写を調節することが示唆されていた。実際にAd4BP/SF-1遺伝子の発現はM33遺伝子破壊マウスで減少しており、M33がAd4BP/SF-1の転写を正に調節することが示唆された。そこで生殖腺以外にAd4BP/SF-1遺伝子破壊マウスで異常を示す副腎と脾臓を調べたところ、これらの組織にも異常が認められた。さらに、両者の遺伝子破壊をヘテロに持つマウスにおいて、単独ヘテロには認められない異常が検出されたことで、両遺伝子間には遺伝子間相互作用の存在が指摘された。この結果はM33がAd4BP/SF-1遺伝子の転写調節因子としての機能を有することを支持するものであった。

3) 生殖腺と副腎の発生に関与する細胞増殖因子

我々は生殖腺と副腎が同一の細胞集団から由来することをマウス胎仔の解析を通じ明らかにしてきた。この過程で二つの組織の形成に必要な因子の存在が示唆されたので、ニワトリ胚を用いてこの点を検討した。予定中腎領域にはFGF8の発現が検出され、後に中腎細管で発現するが、この刺激を受けてWNT4の発現が誘導される。WNT4は生殖腺-副腎の原基の予定領域でのAd4BP/SF-1の発現誘導を通じ生殖腺-副腎原基を決定する。その後、FGF9が生殖腺-副腎の原基の腹側で発現することで、生殖腺-副腎の原基の腹側を生殖腺へと誘導することが明らかになった。

4) これまでにAd4BP/SF-1と相互作用する因子としてFox3とVinexinを単離していた。これらの因子の生殖腺分化過程における機能を明らかにする目的で、遺伝子破壊マウスを作製し、現在解析中である。

3. 研究実施体制

諸橋グループ

① 研究分担グループ長：

諸橋 憲一郎（岡崎国立共同研究機構、基礎生物学研究所
発生生物学研究系 細胞分化研究部門 教授）

② 研究項目：転写因子の発現調節機構の解析、胎仔生殖腺の分化機構の解析

川尻グループ

① 研究分担グループ長：

川尻 要（埼玉県立がんセンター、生化学部、がん基礎研究部門、主幹）

② 研究項目：ダイオキシンレセプターの機能解析と核内受容体の細胞内存在状態の解析

井上グループ

① 研究分担グループ長：

井上 聡（東京大学、医学部附属病院、老年病学教室、助手）

② 研究項目：エストロゲンレセプターの標的遺伝子の解析

本岡グループ

① 研究分担グループ長：

本岡 覚（エーザイ株式会社、薬理安全性研究所、開発安全性研究部、部長）

② 研究項目：代表的内分泌攪乱物質の影響の解析

吉岡グループ

① 研究分担グループ長：

吉岡 秀文（兵庫教育大学、自然系生物、助教授）

② 研究項目：ニワトリ胚生殖腺における転写因子や増殖因子の機能解析

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文発表（原著論文）

○ Tokuo Mukai, Masatomo Kusaka, Ken Kawabe, Kiminobu Goto, Hajime Nawata, Kenji Fujieda, Ken-ichirou Morohashi

Sexually dimorphic expression of Dax-1 in the adrenal cortex.

Genes Cells **7**, 717-729, 2002

○ Kunio Kitamura, Masako Yanazawa, Noriyuki Sugiyama, Hirohito Miura, Akiko Iizuka-Kogo, Masatomo Kusaka, Rika Suzuki, Yuko Kato-Fukui, Kyoko Kamiirisa, Kayo Omichi, Megumi Kasahara, Hidefumi Yoshioka, Tsutomu Ogata, Takayuki Fukuda, Ikuko Kondo, Mitsuhiro Kato, William B. Dobyns, Minesuke Yokoyama and Ken-ichirou Morohashi

Mutations of *Arx/ARX* cause abnormal migration and differentiation of GABAergic interneurons and abnormal development of testes in mice, and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans

Nature Genet. **32**, 359-369, 2002

○ Taiga Suzuki, Megumi Kasahara, Hidefumi Yoshioka, Ken-ichirou Morohashi, Kazuhiko Umesono

LXXLL motifs in Dax-1 have target specificity for the orphan receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1.

Mol Cell Biol **23**, 238-249, 2003

（2）特許出願

H14年度特許出願件数：0件（研究期間累積件数：0件）