

研究課題別 中間評価結果

1. 研究課題名： 性的可塑性の分子メカニズムに関する研究

2. 研究代表者： 長濱 嘉孝（自然科学研究機構 基礎生物学研究所 教授）

3. 研究概要

本研究は、魚類(メダカやオキナワベニハゼ等)を実験モデルに用いて、成体の生殖腺と脳(性行動)に保持されている性的可塑性の分子的基盤を明らかにすることを旨とした。

これまで哺乳類等と同様に成体(魚)では決して性転換が起こらないと考えられてきた雌雄異体魚のメダカとティラピア、逆に成体でも自然条件下で性転換するベラやハゼ等を用いて、生殖腺と脳(性行動)における性的可塑性の有無、さらにはその分子メカニズムを明らかにすることを目的として計画され、これまでに以下の研究成果を得た。

1)メダカとマウスの性的可塑性の違い：メダカがマウス等の哺乳類に比べて性的可塑性が高いことの基本的な理由の一つは、X染色体とY染色体との著しい類似性にあることを、メダカの性決定遺伝子DMY(DM domain gene on the Y chromosome)を導入したXX雄の表現型解析から明らかにした。

2)稚魚期の性的可塑性：稚魚期の臨界期生殖腺が高い性的可塑性を示すのは、この時期の雌雄生殖腺の体細胞が性ホルモン処理等に対して高い感受性を有するためであることを明らかにした。アンドロゲンによる性転換誘導は、アンドロゲンが生殖腺体細胞に発現する芳香化酵素遺伝子のアンドロゲン応答配列(ARE:Androgen Response Element)に結合することで、この遺伝子の発現を抑制し、その結果エストロゲンの合成が抑制され、さらに同じ細胞にDMRT1(Doublesex and Mab-3 Related Transcription factor 1)が発現するためであることを示した。また、性分化期直後のXX生殖腺でアンドロゲン処理により前顆粒膜細胞が前セルトリ細胞に分化転換する可能性を示唆した。

3)成魚期の性的可塑性：これまで性転換は起こらないとされてきた雌雄異体成魚(ティラピア)でも、生殖腺体細胞におけるエストロゲン合成を低下させることにより雌から雄への性転換を誘導出来ることを示した。また、この際の精巣形成は、生殖腺周辺部間質組織におけるDMRT1の発現が重要であることを免疫組織化学法により示した。さらに、数種の性転換魚においても、エストロゲン生成の低下が雄への性転換の引金となることを示すとともに、生殖腺刺激ホルモン(FSH:Follicle Stimulating Hormone)も雌から雄への性転換に重要な役割を果たすことを見出した。

4)脳(性行動)の性的可塑性：雌雄の成熟メダカを性ホルモン(雌にはメチルテストステロン、雄にはエストラジオール-17β)で処理することで、処理2-4日以内に逆の性行動が誘導さ

れることが示された。したがって、メダカでは成体でも脳の性的可塑性が保持されていると考えられる。また、雌雄成魚のそれぞれの脳に特異的に発現する数種の遺伝子を同定するとともに、雄の脳にのみ発現する Y 染色体局在遺伝子 (Snaply と命名) を発見した。

- 5) 双方向の性転換メカニズム: 自然条件下でも両方向の性転換を示すオキナワベニハゼでは、社会環境が変わると生殖腺における生殖腺刺激ホルモン受容体遺伝子と、脳における脳型芳香化酵素遺伝子の発現が急激に変化することを初めて見出した。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究計画の主要課題である生殖腺の可塑性の研究は順調に進捗し、充実した研究成果を生み出している。特に、性転換時における性ステロイド代謝系の急激な変化を確認するとともに、その上流・下流の分子機構について新しい研究の展開をみた。

生殖細胞の移植実験は、セルトリ細胞を標識する DMRT1-GFP 導入トランスジェニック系統で発現が予想レベルに達せず、細胞移植実験に使用出来なかったため計画より遅れているが、代替となる新規サイトカイン GSDF (Gonadal Soma-Derived Growth Factor) が既に選択されている。

雌に性決定遺伝子を導入して完全な妊性のある雄を作出したことから、今後変異型性決定遺伝子の導入実験等を進めることで雌雄異体種の性的可塑性研究の新たな展開をもたらすことが期待される。

脳の性分化とその可塑性に関しては、メダカとオキナワベニハゼ両種でサブトラクション法とアレイ解析を行った結果、性依存的発現を示す興味深い遺伝子が同定されており、当初計画が遂行されていると言える。また、個体レベルでの細胞動態の解析に有用なトランスジェニック系統の樹立や、オキナワベニハゼ脳 cDNA の高品質アレイの作製も順調に進んでおり、今後の更なる進捗が期待される。

メダカ脳において発現する雄特異的な遺伝子 Snaply の発見は、脳による性行動の制御等、性的可塑性の研究へ貢献するものとして今後の展開が注目される。

4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

雌雄生殖腺や雌雄脳で特異的に発現する遺伝子群の同定に成功する等、本研究は生殖腺の機能だけでなく性行動を支配する脳の機能における遺伝子解析に端緒を開いた。成体での性転換に関連する細胞特異的遺伝子マーカーが同定され、トランスジェニック系統の作製が開始されており、今後ノックダウン、ノックアウト、過剰発現等による機能解析が進むことが見込まれる。

成体での性転換に伴う生殖腺と脳における遺伝子の機能解析を進めることは哺乳類を用いた研究では不可能であるが、魚の利点を活用し、最先端の実験技術を駆使した本研究は極めて興味深く、内分泌かく乱物質の生体に与える影響に必要な知見を与えるものである。成体の性転換を再現性良く行える飼育管理、メダカの全脳培養、アレイ解析、トランスジェニック系統作製等、技

術的にも優れており、今後が大いに期待される。

研究課題の達成に向け、研究は順調に進捗しており、研究成果が着実に学会発表や論文発表されていることから、高く評価出来る。

脳の性分化とその可塑性の分子機構に関する研究は、現代の生命科学でほとんど未着手の重要な課題であり、今後その課題の根幹に重要な研究成果が期待される。

4-3. 総合的評価

本研究は独創的であり、小型魚類を用いた実験基盤も強固である。国内外を問わず性分化の研究分野の中では他の追随を許さない突出したものである。世界的にみても、同等の技術を持ち、雌雄異体魚のメダカと性転換魚のオキナワベニハゼの両種を駆使して先端的研究を遂行出来るグループはない。ゲノム解析や、イメージング技術がメダカで急速に進展した現状は、本研究推進の時宜を得たものと考えられる。

性の可塑性という生物学の基本問題について遺伝子レベルの研究を行い、成熟魚においても雌雄の性転換を起こし得ることを実験的に示した。これに伴う遺伝子レベルの解析を目的として、雌雄生殖腺における特異的に発現する遺伝子群とその機能、性行動と関連する雌雄の脳に特異的に発現する遺伝子群を同定したことは、極めて高く評価される。残念ながら、遺伝子の発現が低く生殖細胞の移植実験は成功しなかったが、この予想外の結果は、代わりとなる新規遺伝子の同定につながっており評価される。

今後、脳の性分化に集中した研究を実施すれば、性転換を切り口とした成体脳発現遺伝子の新たな機能の発見へ画期的な研究成果がもたらされることが十分に期待される。

また、本研究は、費用対効果がとりわけ高いものである。