

生殖生物学研究部門

長 濱 嘉 孝

生殖生物学研究部門（旧生殖部門）は、昭和 52 年に基礎生物学研究所が創設されると同時に設立された研究部門であるので、研究所と同様に 30 周年を迎えることになる。本研究部門の初代教授は故金谷晴夫先生であったが、基礎生物学研究所の第 2 代所長になられた直後に病に倒れ急逝されたことは誠に残念なことであった。その後を継いだ私は、本研究部門の設立以来の主要な研究テーマであった卵成熟の制御機構の研究を魚類を主な研究対象として継続するとともに、精子形成の内分泌調節機構についても研究を進めてきた（10 周年、20 周年記念誌参照）。

一方で、この 10 年間はハワイ大学・海洋研究所の Gordon Grau 教授や琉球大学・瀬底臨海実験所の中村 将教授らとともに始めた魚類の性決定と生殖腺の性分化、さらには性転換（性的可塑性）についての研究を本格化させるとともに、卵成熟の研究についても、特にヒトデの生殖巣刺激ホルモンの化学的実体の解明に関する研究を引続き推進した。また、脳による生殖現象の制御についても、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）や脳の性分化（性的可塑性）について新たな研究を開始した。ここでは、この 10 年間の研究を振り返り、いくつかのトピックスを取り上げる。

1. メダカの性決定遺伝子 *DMY*

性の決定・分化・転換の研究では、なんといってもメダカの性決定遺伝子 *DMY* を発見したことが大きなトピックスである。この研究は、新潟大学の酒泉 満教授と濱口 哲教授との共同研究として行われた。私が兩人を訪ね、上記研究について共同研究を提案したことがきっかけである。酒泉教授らは当時すでに、メダカの Y 染色体に性決定遺伝子が局在することを突き止めており、「双方がお互いに協力し合いながら性決定遺伝子を絞り込もう」というのが私の提案であった。早速、私の研究室の博士研究員（後に、さきがけ研究員）である松田 勝君が中心となり、共同研究が開始された。遺伝学的、分子生物学的研究手法（ポジショナルクローニング、染色体歩行、ショットガンによる塩基配列の決定）を駆使することにより、先に酒泉教授らが同定していた Y 染色体の性決定領域から遺伝子を絞り込む作業が延々と続いた。そして、研究を開始してほぼ 5 年が経過した 2002 年になり、ヒトで最初に発見さ

	<i>SRY/Sry</i>	<i>DMY</i>
染色体の位置	Y染色体の短腕	Y染色体の長腕
エクソン数	1	6
DNA結合ドメイン	有(HMGボックス)	有(DMドメイン)
発現細胞	精巢のセルトリ細胞	精巢のセルトリ細胞
XX個体への過剰発現	雄への性転換(精巢の形成) (精子はつくられない)	雄への性転換(精巢の形成) (妊性ある精子がつくられる)
XY個体での欠失実験	雌への性転換	雌への性転換

表 1. *SRY/Sry* と *DMY* との比較

れた哺乳類の性決定遺伝子 *SRY/Sry* とは構造がまったく異なる脊椎動物で 2 番目となるメダカの性決定遺伝子 *DMY* を発見することができたのである (表 1)。今後も引続き、この *DMY* の作用機構を明らかにすることが最優先課題となる。その一方で、*DMY* 遺伝子の起源を調べる過程で、脊椎動物の性決定機構の多様性に関して興味深いことが明らかになってきた。メダカはインド地方を起源として東南アジア各地で種分化をとげ、もっとも最近には中国メダカ (*Oryzias latipes*) と日本メダカ (*O. latipes*) に種分化したとされている。このメダカの種分化過程で *DMY* は *DMRT1* という常染色体上の遺伝子が重複化して生じ、この重複化は *O. curvinotus* と *O. latipes* の種分化の際に生じたことが明らかになったのである。こうして、20 種を超えるメダカ種のうちでもっとも最近に種分化したとされる 2 種のメダカにのみ *DMY* が存在することがわかったことから、脊椎動物における性決定遺伝子の驚くべき多様性がはじめて実証されたのである。昨今におけるゲノムプロジェクトの進行も追い風となり、いろいろな脊椎動物における性決定遺伝子の探索に関する研究が活発化し、近い将来に脊椎動物における性決定遺伝子の多様性と普遍性が系統だって明らかにされるものと期待される。

2. 性分化 / 転換

性決定に引続いて起る生殖腺の性分化機構の研究は、小林 亨助手 (現養殖研究所) を中心にして推進され、精巣形成に *DMRT1* が、また卵巣形成にエストロゲンが重要な役割を果たすことが明らかになった。特に、転写因子の *Foxl2* が芳香化酵素 (*P450arom*) 遺伝子の転写制御を介して卵巣分化の中心的因子として作用することを示したことは重要である。我々がこのような研究を推進できた主因は、遺伝子を過剰発現させたトランスジェニック体を作出することにより、機能的性転換を誘起させることに成功したことによるものである。卵巣分化の制御機構については、性決定 / 分化の研究が盛んな哺乳類でもほとんど研究が進んでいないので、今後もさらに研究を進めたいと考えている。

メダカの性決定遺伝子が同定されたことで、性ステロイドや内分泌かく乱物質により誘起される性転換のメカニズムに関しても新たな進展がみられた。これら外因性物質の作用部位が性決定の過程ではなく、生殖腺の性分化過程であることがわかったのである。このことは内分泌かく乱物質の直接的ターゲットが生殖腺の体細胞であることを強く示唆するものである。現在、性転換時における生殖腺体細胞の分化、脱分化、分化転換のメカニズムを解析することにより性的可塑性の分子基盤を明らかにする研究が展開されている。

サンゴ礁には各種の性転換魚が生息するが、そのなかでも、社会構造の変化により同一個体が両方向の性転換を行うオキナワベニハゼ (*Trimma okinawae*) は生殖腺や脳が示す性的可塑性の分子メカニズムを解析するための格好の実験モデルとなる。我々は琉球大学・中村 将教授らとの共同研究により、この種での性行動や生殖腺での遺伝子発現が社会的環境の変化の後、視覚を介して急速に誘起されることを見つけた。脳や生殖腺における性的可塑性に関する研究は、以前からその重要性が認識されながら適当な実験系が欠如することによりほとんど進展がみられていない。我々は今後、脳と生殖腺の性的可塑性を支配する遺伝子を同定することにより、性転換の分子メカニズム、性的可塑性の分子基盤を明らかにしたいと考えている。

3. トランスジェニックメダカ – ヒトの生殖不全疾患モデル

配偶子形成や性行動は脳で合成されるゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) のはたらきにより引き起こされる。大久保範聡助手は、この GnRH 産生ニューロンを可視化したトランスジェニックメダカを用いた *KAL1* (ヒトの生殖不全疾患であるカールマン症候群の原因遺伝子) のノックダウン解析から、*KAL1* が初期発生過程における GnRH ニューロンの移動を制御していることを見出した。これまでヒトのカールマン症候群の *in vivo* モデルは存在しなかったため、GnRH トランスジェニックメダカがはじめての例として大いに注目されている。

4. ヒトデの生殖巣刺激ホルモン (GSS) の化学構造の決定

研究室の創設以来の中心的研究課題である配偶子形成の研究では、特に今年になり、ヒトデの GSS について大きな進展があった。吉国通庸助教授と三田雅敏・現東京学芸大学教授らが、イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) の放射神経から 2 本のペプチド鎖からなる GSS を無脊椎動物ではじめて精製し、構造決定に成功したのである。ヒトデの GSS は、24 アミノ酸の A 鎖と 19 アミノ酸の B 鎖からなる分子量 3800 のヘテロダイマーであり、脊椎動物の生殖腺刺激ホルモンとはまったく異なる化学構造を示すことが明らかになった。この結果は、大野 薫助手 (個別研究) による GSS の遺伝子クローニングからも確認された。合成 GSS を注射されたヒトデは、30 分ほどで成熟した卵と精子を大量に放出する。

5. Comparative to General

前項 4. でも述べたように、生殖研究部門の創設以来の中心的テーマであった卵成熟誘起に関する研究が、基礎生物学研究所 (そして生殖研究部門) の創設 30 周年を経た今、我々が卵成熟研究の実験対象としてきたヒトデ (無脊椎動物) と魚類 (脊椎動物) で決着をみたことは実に幸運なことである。図 1 に示すように、卵成熟誘起に関わるホルモン物質はヒトデと魚類で異なるものの、基本的な仕組みは驚くほど保存されていることがわかる。30 年前に金谷先生とお酒を酌み交わしながら、生物学研究における “Comparative to General” について熱く議論したことが、つい昨日のように懐かしく思い出される。

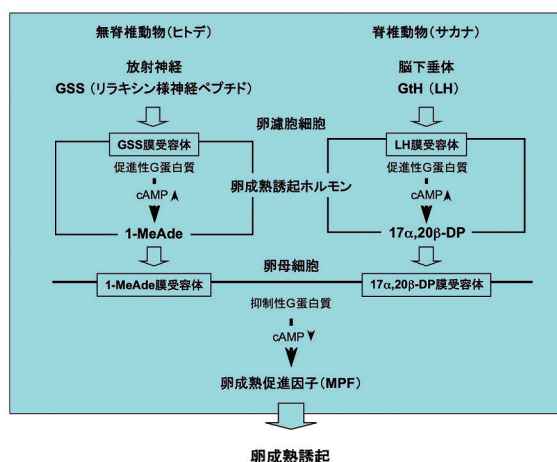


図 1. ヒトデと魚類における卵成熟誘起機構の普遍性

参考文献

1. Matsuda, M., Shinomiya, S., Kinoshita, M., Suzuki, A., Kobayashi, T., Paul-Prasanth, B., Lau, E.L.,

- Hamaguchi, S., Sakaizumi, M. and Nagahama, Y. (2007). *DMY* induces male development in XX medaka fish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 3865-3870.
2. Wang, D.S., Kobayashi, T., Zhou, L.Y., Paul-Prasanth, B., Ijiri, S., Sakai, F., Okubo, K., Morohashi, K. and Nagahama, Y. (2007). *Foxl2* up-regulates aromatase gene transcription female-specifically by binding to the promoter as well as interacting with Ad4BP/SF-1. *Mol. Endocrinol.* 21, 712-725.
 3. Okubo, K., Sakai, F., Lau, E.L., Yoshizaki, G., Takeuchi, Y., Naruse, K., Aida, K. and Nagahama, Y. (2006). Forebrain gonadotropin-releasing hormone neuronal development: insights from transgenic medaka and the relevance to X-linked Kallmann syndrome. *Endocrinology*, 147, 1076-1084.
 4. Tokumoto, T., Tokumoto, M., Horiguchi, R., Ishikawa, K. and Nagahama, Y. (2004). Diethylstilbestrol induces fish oocyte maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 3686-3690.
 5. Devlin, R.H. and Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish. *Aquaculture*, 208, 191-366.
 6. Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S. and Sakaizumi, M. (2002). *DMY* is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, 417, 559-563.
 7. Tanaka, M., Kinoshita, M. and Nagahama, Y. (2001). Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of GFP fluorescence exclusively in germline cells: a useful model to monitor germline cells in a live vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98, 2544-2549.
 8. Guan, G., Todo, T., Tanaka, M., Young, G. and Nagahama, Y. (2000). Isoleucine-15 of rainbow trout carbonyl reductase-like 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase is critical for coenzyme (NADPH) binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 3079-3083.
 9. Ikeuchi, T., Todo, T., Kobayashi, T. and Nagahama, Y. (1999). cDNA cloning of a novel androgen receptor subtype. *J. Biol. Chem.*, 274, 25205-25209.
 10. Katsu, Y., Carnall, N., Nagahama, Y. and Standart, N. (1999). Phosphorylation of p82 clam CPEB by MAP kinase and cdc2 kinase. *Develop. Biol.*, 209, 186-199.
 11. Tokumoto, T., Yamashita, M., Tokumoto, M., Katsu, Y., Kajiura, H. and Nagahama, Y. (1997). Initiation of cyclin B degradation by the 26S proteasome upon egg activation. *J. Cell Biol.*, 22, 1313-1322.

