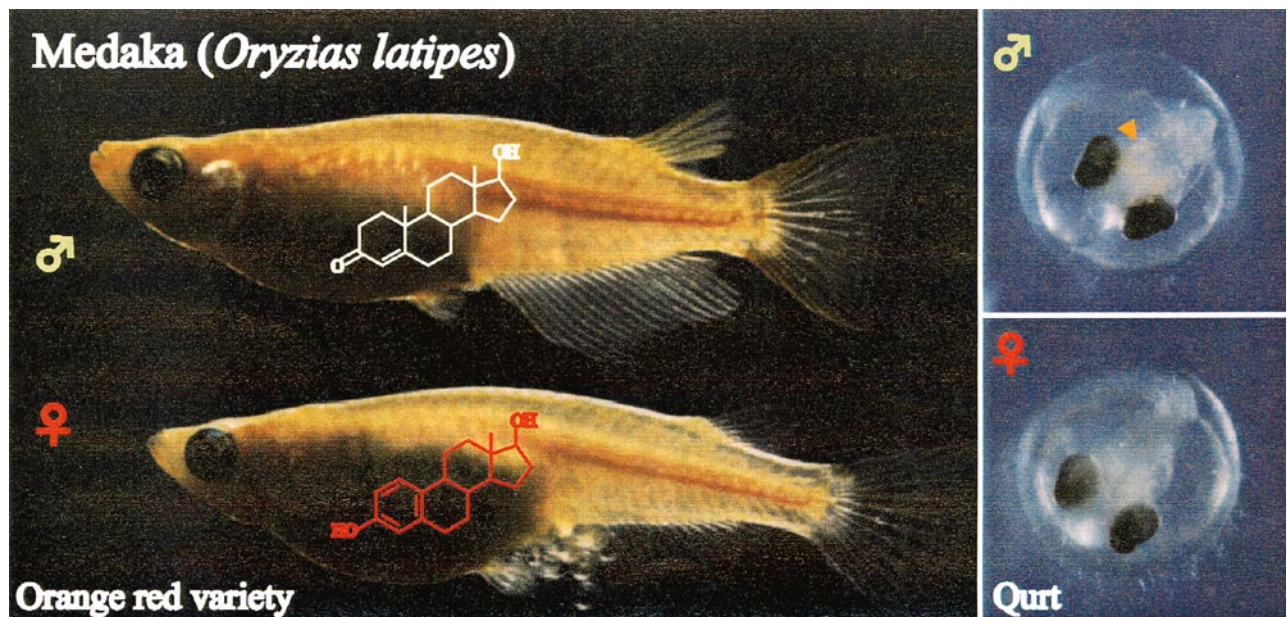


Molecular and Cellular Mechanisms
of Sex Differentiation in Fish
魚類の性分化制御に関する
分子・細胞学的研究

プロジェクトリーダー 長 濱 嘉 孝

岡崎国立共同研究機構
基礎生物学研究所 教授



1. 研究の目的

卵巣と精巣は、それぞれ卵と精子をつくる大切な器官であり、個体発生のごく初期に性的に未分化な生殖腺より形成されます。多くの脊椎動物では、このような生殖腺の性分化に性ホルモンが重要な役割を果たすことが知られ、卵巣の形成には雌性ホルモン（エストロゲン）、精巣の形成には雄性ホルモン（アンドロゲン）が関わると考えられています。しかし、これらのホルモンがどのような仕組みで未分化生殖腺を卵巣や精巣に性分化させるのかはまったく不明です。性ホルモンによる生殖腺性分化の研究は、これまでメダカやティラピアなどの魚類を用いて活発になされてきました。また魚類では、雌雄同体を示す種がみられるばかりでなく、珊瑚礁に棲むある種の熱帯魚のように、成体になってからでも雌から雄、雄から雌への性転換をする種も珍しくありません。したがって、魚類は性ホルモンによる生殖腺性分化の仕組みを研究するための格好なモデル実験動物であると考えられます。本研究では、日本で開発された生物実験モデル動物であるメダカを主な材料として、発生工学的手法（ノックアウトメダカの作出）や分子生物学的手法を積極的に導入し、性ホルモンによる性分化機構を世界に先駆け明らかにすることを目的とします。本研究によって得られる研究成果は、脊椎動物における性決定・分化の基本的制御機構の理解に貢献するばかりでなく、生殖腺や生殖細胞の形成異常、不妊症などの新しい治療薬の開発、水産産業における新しい繁殖統御法の開発、さらには環境問題（内分泌攪乱物質）の解決にも役立つことが期待されます。



2. 研究の内容

遺伝的性決定に始まる生殖腺の性分化過程は、卵巣や精巣の形成のみならず、その後起こる脳の性分化などに性に依存する様々な生命現象の出発点となる重要な発生初期過程です。しかし、性分化の過程が個体発生のごく初期に起こるため、対象とする組織、器官がきわめて微小で生化学的方法では解析が困難なことから他の分野に比べて研究の進展が大幅に遅れました。本研究では、脊椎動物のなかで性ホルモンによる生殖腺性分化の仕組みがもっとも研究し易い魚類、特にメダカ、を実験材料として、エストロゲンやアンドロゲンなどによる生殖腺の性分化誘起機構を分子生物学的、発生工学的、遺伝学的手法を駆使して研究します。このような研究に、本プロジェクトで作出した受精後2日胚で性が判別できるメダカ新系統（Qurt、前頁図参照）は大きな威力を発揮します。

(1) 生殖腺の性分化機構の研究

性的未分化生殖腺を持つメダカやティラピアにエストロゲンやアンドロゲンを処理すると、それらの個体の表現型は遺伝的性に関わりなくそれぞれ雌と雄になります。したがって、魚類では生殖腺の性分化に性ステロイドホルモンがきわめて重要な役割を果たしていると推察されます。本研究ではまず、エストロゲンやアンドロゲンが性分化期生殖腺の性ホルモン分泌細胞で時期・細胞特異的に生成され、分泌される機構を遺伝子レベルで調べます。さらに、これらの性ホルモンがそれぞれの受容体を介して活性化する遺伝子カスケードを、正常発生および未分化生殖腺の器官培養系を用いて解析することにより、性ホルモンによる卵巣と精巣の形成制御機構を明らかにします。また、生殖腺の性分化に果たす視床下部-下垂体の役割についても生理学的、分子生物学的手法を用いて調べます。

(2) 性転換機構の研究

珊瑚礁に棲むある種の熱帯魚（ハワイ産ベラ等）では、成体においても雌から雄の性転換がみられます。この研究では、卵巣から精巣への生殖腺性転換過程におけるエストロゲン、アンドロゲンの動態、およびステロイド代謝酵素の発現を調べ、性転換に果たす性ホルモンの役割を遺伝子レベルで明らかにします。

(3) 標的遺伝子組換え法を用いたメダカの性分化機構の研究

メダカで標的遺伝子組換え法（ノックアウト法）を開発し、これを用いて種々の遺伝子（芳香化酵素を含む種々のステロイドホルモン代謝酵素およびこれらの転写制御因子、Sox 9 等）の生殖腺性分化に果たす役割を解析します。ノックアウト法による遺伝子の機能解析は現在のところマウスでのみ可能ですので、メダカでこれが開発できれば脊椎動物の発生における遺伝子機能の解析が格段に容易となり、この分野の研究を飛躍的に進展させることになります。

(4) メダカの性決定遺伝子の探索

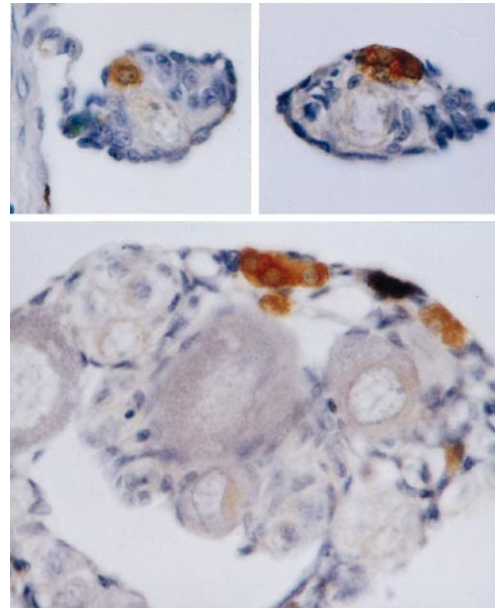
哺乳類ではY染色体のSRY遺伝子が働くことにより精巣が形成され、雌ではY染色体を欠くために自動的に卵巣が形成されます。鳥類から魚類までの哺乳類以外の脊椎動物でも、遺伝的な性は性染色体の働きによって決まるものと考えられていますが、いまだにそのような性決定遺伝子は見つかっていません。本研究では、性分化の遺伝的制御機構を明らかにするため、メダカ性染色体上に存在すると予想される性決定遺伝子の単離を遺伝学的、分子生物学的、生化学的手法を用いて行います。

3. 研究の体制

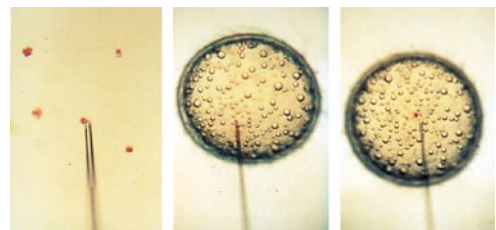
期 間：1996年10月－2001年3月

構 成：プロジェクトリーダー1名、コアメンバー2名、研究協力者12名（内日本学術振興会研究員5名）で構成されています。この他、下記の研究室に属する大学院学生、日本学術振興会特別研究員、日本学術振興会外国人特別研究員が多数この研究に参加しています。

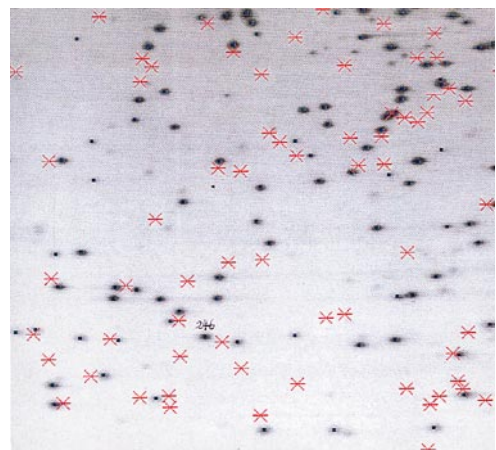
実施場所：この研究の主拠点は岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所・生殖研究部門（長濱研究室）ですが、他に東京大学（嶋研究室）、名古屋大学（尾里研究室）、帝京大学（中村研究室）、日本医科大学（Parhar研究室）との協力方式でプロジェクトを進めています。また、ハワイ産ベラの性転換機構についての研究は、アメリカのハワイ大学海洋生物学研究所（Grau研究室）と共同で行っています。



遺伝的雌ティラピアの性分化前（上図）後（下図）の生殖腺（卵巣）。褐色に染まっているのがエストロゲンを分泌する細胞。



メダカ胚細胞核（赤）の未受精卵への移植



雄メダカゲノムの2次元DNA電気泳動像