

魚類の生殖腺性分化機構研究の現状

メタデータ	言語: Japanese
	出版者: 水産総合研究センター
	公開日: 2024-10-02
	キーワード (Ja):
	キーワード (En): sex determination; sex differentiation; DMY; DMRT1; estrogen
	作成者: 小林, 亨
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010878

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



正誤表

水産総合研究センター研究報告 第26号
 独立行政法人水産総合研究センター交付金プロジェクト
 「形態・生理機能の改変による新農林水産生物の創出に関する総合研究」
 水産生物サブチーム

訂正箇所を以下に示します。謹んでお詫び申し上げます。

項	誤	正
P. 35	水研センター研報, 第24号, 35-39, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 35-39, 2008	水研センター研報, 第26号, 35-39, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 35-39, 2008
P. 41	水研センター研報, 第24号, 41-46, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 41-46, 2008	水研センター研報, 第26号, 41-46, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 41-46, 2008
P. 47	水研センター研報, 第24号, 47-52, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 47-52, 2008	水研センター研報, 第26号, 47-52, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 47-52, 2008
P. 53	水研センター研報, 第24号, 53-61, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 53-61, 2008	水研センター研報, 第26号, 53-61, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 53-61, 2008
P. 63	水研センター研報, 第24号, 63-68, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 63-68, 2008	水研センター研報, 第26号, 63-68, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 63-68, 2008
P. 69	水研センター研報, 第24号, 69-75, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 69-75, 2008	水研センター研報, 第26号, 69-75, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 69-75, 2008
P. 77	水研センター研報, 第24号, 77-82, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 77-82, 2008	水研センター研報, 第26号, 77-82, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 77-82, 2008
P. 83	水研センター研報, 第24号, 83-89, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 83-89, 2008	水研センター研報, 第26号, 83-89, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 83-89, 2008
P. 91	水研センター研報, 第24号, 91-97, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 91-97, 2008	水研センター研報, 第26号, 91-97, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 91-97, 2008
P. 99	水研センター研報, 第24号, 99-105, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 99-105, 2008	水研センター研報, 第26号, 99-105, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 99-105, 2008
P. 107	水研センター研報, 第24号, 107-114, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 107-114, 2008	水研センター研報, 第26号, 107-114, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 107-114, 200
P. 115	水研センター研報, 第24号, 115-122, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 115-122, 2008	水研センター研報, 第26号, 115-122, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 115-122, 2008
P. 123	水研センター研報, 第24号, 123-128, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 123-128, 2008	水研センター研報, 第26号, 123-128, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 123-128, 2008
P. 129	水研センター研報, 第24号, 129-134, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129-134, 2008	水研センター研報, 第26号, 129-134, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129-134, 2008
P. 135	水研センター研報, 第24号, 129-134, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129-134, 2008	水研センター研報, 第26号, 135-141, 平成20年 Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 135-141, 2008

魚類の生殖腺性分化機構研究の現状

小林 亨*

The mechanisms of gonadal sex determination and differentiation in fish

Tohru KOBAYASHI

Abstract Various genetic and molecular approaches have been used to investigate the mechanisms of sex determination, gonadal sex differentiation, and sex change in fish. Although the sex of most animals is determined by genetic information, sex-determining genes had been identified only in mammals, several flies, and the worm *Caenorhabditis elegans* until the recent discovery of DMY (DM-domain gene on the Y chromosome) in the sex-determining region on the Y chromosome of the teleost fish medaka, *Oryzias latipes*. We identified, for the first time in non-mammalian vertebrates, DMY, as the sex-determining gene of medaka. In tilapia, *Oreochromis niloticus*, Foxl2/endogenous estrogens act as the natural inducers of ovarian differentiation, while DMRT1 may be important for testicular differentiation. In the protogynous wrasse, a rapid decline in serum estradiol-17 β levels may be an initial trigger of the female-to-male sex change.

Key words : sex determination, sex differentiation, DMY, DMRT1, estrogen

一般に魚類の性は、性染色体の組み合わせによって遺伝的に性決定される。しかし、哺乳類とは異なり、魚類では孵化直後の稚魚を性ホルモン処理することにより容易に性転換が起こる。また、種によっては水温等の環境条件を変えることで性転換するものもある。しかし、哺乳類と決定的に異なるのは、人為的に作出した性転換魚は、一生を通じて正常に生殖活動を行うことができる。また、サンゴ礁に生息するある種のベラの仲間、社会環境の変化によって性転換が起こる。通常、一夫多妻で繁殖する形態を示すが、縄張りの雄が死亡あるいは、人為的に除去された場合には、一番大きな雌が雄に性転換する。このような「性的可塑性」を特徴とする魚類は、性決定、生殖腺の性分化機構を解明する上で、極めて有用な生物モデルとなりうる (Nakamura et al., 1998; Devlin and Nagahama, 2002)。

これまで、魚類の性決定や生殖腺の性分化に関する研究の多くは、特に性ホルモンとの関わりで行われて

きた。上述したように、孵化直後の稚魚にアンドロゲンやエストロゲンを投与することで、遺伝的な性に関係なく、機能的な雄、雌に性転換させることができる。しかし、内在性の性ホルモンが正常な生殖腺の性分化にも重要な役割を果たしているかは、長い間、不明であった。私たちが性分化の研究を開始した時には、まず、この問題を明らかにする必要があった。

本稿では、メダカ (*Oryzias latipes*)、ナイルティラピア (*Oreochromis niloticus*)、性転換魚を対象とした筆者らの研究を中心として記述し、魚類の性決定、生殖腺の性分化機構研究の現状について概説する。

性決定

脊椎動物の性を決定する遺伝子の構造はどうなっているか、性決定遺伝子は、種を超えた普遍的なものか、非常に興味深い問題である。1990年にヒトの

2008年4月23日受理 (Received on April 23, 2008)

* 養殖研究所 〒519-0423 三重県度会郡玉城町昼田 224-1

(National Research Institute of Aquaculture, Tamaki, Mie 519-0423, Japan)

現所属: 愛媛大学 南予水産研究センター 松山分室 〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

(Matsuyama Station, South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, Matsuyama 790-8566, JAPAN)

性決定遺伝子が SRY と同定されて以来 (Sinclair et al., 1990)、哺乳類以外の脊椎動物において SRY の相同遺伝子の存在を確かめる研究が精力的になされたが、これまでにそのような遺伝子は見つかっていない。これに対して、爬虫類でみられるような環境要因 (温度) が性決定に深く関わる場合もある。魚類でも孵化後の水温の違いにより性決定される場合がある (ヒラメ: *Paralichthys olivaceus*) (Capel, 2000)。

性決定遺伝子

メダカは、日本で開発された実験動物で、遺伝学的研究を行う上ですぐれた特徴 (種内で遺伝的変異が起こる、近交系が樹立、等々) を持ち、ヒトとおなじ XX/XY の遺伝的性決定様式を示す (四宮ら, 2003)。筆者の所属していた基礎生物学研究所のグループと新潟大学のグループは共同で、ポジショナルクローニング、染色体歩行、ショットガンシーケンス、機能喪失、機能付加解析により、脊椎動物で 2 番目となる性決定遺伝子を同定した。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、広く脊椎動物と無脊椎動物の性発達にかかわる DNA 結合配列 (DM ドメイン) をもつことから、DMY (DM-related gene on the Y-chromosome) と名づけられた (Matsuda et al., 2002)。

DMY は、mRNA、タンパク質レベルで、孵化前の XY 生殖腺 (形態学的性差は、まだ見られない時期) の生殖細胞を取り囲む体細胞で強く発現するようになる。DMY は、発生を通じて、セルトリ細胞系列の細胞に特異的に発現する (Kobayashi et al., 2004)。DMY をプローブとして野生集団をスクリーニングしたところ、DMY をゲノム上にもつにも関わらず表現型が雌である XY 個体が見つかった。この中で、福井県芦原町で見つかった変異体は、DMY の第 3 エクソンに 1 塩基の挿入があり、これにより不完全な DMY タンパク質が作られていた。交配実験により、この XY 雌由来の DMY をもつ個体はすべて雌になった。新潟県白根市 (現在は、新潟市白根) でみつかった突然変異体ではエクソン領域に変異はないが、F1 におけるこの XY 雌由来の DMY 発現量が低いこと、そしてこのような F1 は高頻度に XY 雌になることがわかった。これらのことは、DMY に変異が起こると XY 個体が雌になること、そして DMY は XY 個体が雄へ分化するのに「必要な遺伝子」であることを示す。

また、HNI 系統由来の DMY を含む 117 kb のゲノム断片をもつベクターを構築し、d-rR 系統の受精卵に遺伝子導入した後、成魚まで飼育し、本来の遺伝子型を判定し、表現型の性と比較すると、41 個体の

XX メダカの中で、30 個体は雌、11 個体は雄であった。この XX 雄は、d-rR 由来の DMY をもたない。また、正常 XX 雌との交配による F1 においても導入したゲノム断片をもつ XX 個体は雄になることが明らかとなった。このことは、導入した DMY を含む 117 kb のゲノム領域が、XX 個体を雄に分化させるのに「十分」な機能をもつと結論され、これにより DMY がメダカの性決定遺伝子であることが、完全に証明された (Matsuda et al., 2007)。

メダカでは、これまでに 5 つの DM ドメイン遺伝子が見つかっており、その中で、DMRT1 を含む 3 つは連鎖群 9 でクラスターを形成している。DMY のアミノ酸配列は DMRT1 と 90% を超える高い相同性を示す。また、DMY を含む約 260 kb の Y 染色体に特異的な領域は、連鎖群 9 の DMRT1 およびその周辺領域と相同性がある。これらのことから、メダカの性決定遺伝子 DMY の祖先遺伝子は、進化の過程で連鎖群 9 の DMRT1 (DM-related transcriptional factor 1) 遺伝子を含む領域の重複化が起こり、それが連鎖群 1 (現在の性染色体) に挿入されたことによって生じたと考えられている (Nanda et al., 2002)。

メダカの性決定遺伝子 DMY はメダカ属以外ではみつかっていない。また、メダカ属でもメダカともっとも近縁なハイナンメダカ (*O. curvinotous*) 以外ではみつかっていない。最近の報告から、XX/XY の性決定様式を示すルソンメダカでは、性染色体は連鎖群 12 であることが明らかとなった。これらのことは、DMY はメダカ属の種分化の過程で生じたこと、性決定遺伝子は種特異的であることを示している (Matsuda et al., 2003; Tanaka et al., 2007)。

生殖腺の性分化

性決定、性分化の研究を行う上で、予め遺伝的な性が分かっていることが望ましいことは自明である。私たちは、ティラピアの偽雄 (XX)、超雄 (YY) を保持しており、これらを利用して周年、いつでも全雄、全雌のティラピア稚魚を得ることが出来る (Kobayashi et al., 2000)。ティラピアの生殖腺の性分化過程を詳細に調べると、孵化後 3 日で生殖腺原基の形成がみられる。形態学的雌雄差が現れるのは、孵化後 9 日頃で生殖細胞数の性差が最初の形態学的性差である。組織構築の性差は、孵化後 25 日頃にみられる。XX 雌では、生殖腺の左右の縁に体細胞の集塊が生じ、それらが互いに伸長した後、融合し、体腔側に小さな腔が形成される。この小腔は、将来、成熟した卵が排卵される卵巣腔となる。この卵巣腔の形成が体細胞レベルでの卵

巢分化の指標となる。卵巢では、減数分裂は孵化後35日頃起こり、40日以降で肥大卵母細胞の発達がみられ、150日以降に卵黄形成がみられる。XY雄では、孵化後25日頃、実質細胞集塊が精巢内輸尿管原基へと分化することによって、明瞭になる。その後、精細管構造の形成が起こり、孵化後70日以降に精子形成が開始する (Kobayashi et al., 2000, 2002, 2008; Fig. 1)。

卵巢分化

魚類でエストロゲンが卵巢分化に重要であるとの指摘は古くからされているが、このよりどころは、孵化後の性的に未分化な時期のXY雄の稚魚をエストロゲンで処理すると雌に性転換するという知見である。しかし、内在性のエストロゲンが卵巢分化期に存在するのかわ不明であった。私たちは、ティラピアを用いて、卵巢分化に先行してエストロゲンが合成されているのかを調べた。コレステロールからエストロゲン (エストラジオール17 β) やアンドロゲン (11-ケトテストステロン) が合成されるのに必要なステロイド代謝酵素をクローニングし、これらの幾つかについては、特異抗体を作成した。これらをプローブとして、生殖腺性分化過程におけるステロイド代謝酵素の発現を解

析した (Kobayashi et al., 2003; Ijiri et al., 2008)。XX雌の生殖腺では、孵化後7日までにステロイド産生細胞が背側血管周辺部に出現し、これらの細胞ではエストロゲンの生合成に必要なステロイド代謝酵素の発現がmRNA、蛋白レベルで検出される。一方、XY雄では、ステロイド産生細胞の分化は認められない。XX雌では、このような時期に芳香化酵素阻害剤によりエストロゲン合成を阻害すると、機能的な精巢をもつ雄に分化する (Nakamura et al., 1999)。このような芳香化酵素阻害剤による遺伝的雌から機能的な雄への性転換は、サケ科魚類を含めて、いくつかの魚種でも知られている。ティラピアでは、上述したように、エストロゲンが初期卵巢分化に不可欠である。XX雌生殖腺で起こる芳香化酵素の発現は雌特異的である。孵化直後のXY雄をエチニルエストラジオールで数日間処理すると機能的な雌へと性転換が誘起できる (Kobayashi et al., 2003)。この時、血管周辺にはエストロゲン合成に必要なステロイド代謝酵素を発現するステロイド産生細胞の出現が認められる (小林ら、未発表)。このことは、外因性のエストロゲンにより、オンとなった内因性のエストロゲン合成系が卵巢への分化を促進することを示唆する。

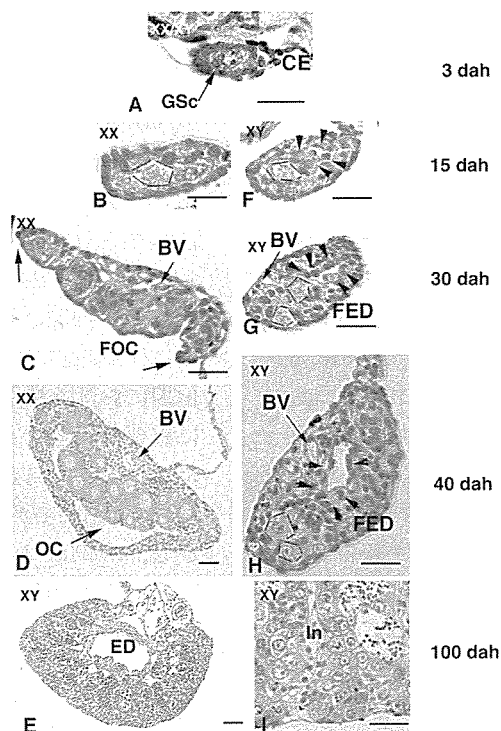


Fig.1. Gonadal differentiation in tilapia. A, gonad at 3 dah. The gonadal anlagen were formed at 3 dah. CE, coelomic epithelium. Gsc, germ-cell-surrounding cell. B-D, XX gonads. E-I, XY gonads. Dotted line, gonial germ cell. BV, blood vessel. FOC, formation of ovarian cavity. FED, formation of efferent duct. Goc, growing oocyte. OC, ovarian cavity. ED, efferent duct. In, interstitium. Scale bars: A-H, 20 μ m; I, 30 μ m.

遺伝的雌生殖腺で初期に起こる時期、細胞特異的なエストロゲン合成系の発現機構とエストロゲンの作用機構を明らかにすることは重要である。最近、私たちは、遺伝的雌生殖腺で時期、細胞特異的に起こるエストロゲン合成系の発現制御は、転写制御因子である Foxl2 によることを明らかにした (Wang et al., 2007)。Foxl2 は、芳香化酵素発現に先行して、XX 生殖腺で特異的に発現する。この時、Foxl2、Ad4BP/SF-1、芳香化酵素はステロイド産生細胞で共発現する。In vitro の転写活性化試験から、Foxl2 は、Ad4BP/SF-1 と協調して芳香化酵素の発現を促進する。また、Foxl2 のドミナントネガティブ mutant を受精卵に遺伝子導入すると、XX 個体では、エストロゲン量の低下、機能的雄への性転換が誘起された。これらのことから、卵巣分化、発達においては、Foxl2/ エストロゲンのカスケードが重要な役割を果たしていることが初めて明らかとなった。

一方で、エストロゲンと卵巣分化との関連が明確でない魚としてはメダカがある。メダカでみられる最初の形態学的性差は、ティラピアと同様に生殖細胞の数の性差であるが、孵化直前に既に起こり、卵母細胞への分化は孵化直後にみられる。卵母細胞の出現は、ティラピアと異なり卵巣腔の形成前に起こる。芳香化酵素を含むステロイド代謝酵素の発現は卵巣分化がかなり進行した孵化後数日を経過してからである (Sato, 1974; Suzuki et al., 2004)。また、メダカの卵巣腔の形成は卵形成が卵母細胞に分化した後に起こり、この形態形成はエストロゲン依存性である (Suzuki et al., 2004)。最近、エストロゲン合成系で必須な 17 アルファ水酸化酵素 / 17,20 リアーゼ (P450c17) の機能不全を示す突然変異体 (scl) では、第二性徴はみられないのだけれども、XX 個体では卵母細胞への分化は起こり、前卵黄蓄積期まで進行する (Sato et al., 2008)。このことは、メダカの卵巣分化の初期過程の進行には、少なくとも XX 生殖腺での新たなエストロゲンの合成は必要ないことを示唆している。しかし、Foxl2 は、孵化期に XX 生殖腺に特異的な発現を示し、その後、卵巣でティラピアと同様な発現を示すことが報告されており、Foxl2 が初期卵巣分化に関与していることが示唆される (Wang et al., 2004, 2007; Nakamoto et al., 2006)。

精巣分化

XX 稚魚にアンドロゲン処理を行うことにより、雄への性転換が誘起できることが、多くの魚種で報告されている (Yamamoto, 1953; Nakamura et al., 1998;

Baroiller et al., 1999; Devlin and Nagahama, 2002)。しかし、内在性のアンドロゲンが精巣分化に不可欠であることは実験的に証明されていない。ティラピアでは、精巣分化に先行してアンドロゲン生成に必要なステロイド代謝酵素の発現 (mRNA、蛋白) は認められない。また、XY 稚魚にアンドロゲン受容体のアンタゴニストであるフルタミド処理を行っても、正常な精巣分化がおこる。

現在のところ、魚類の精巣分化に重要な役割を果たすと考えられる遺伝子は、DMRT1 である。この遺伝子は、*Drosophila* の dsx、線虫の mab-3 という性決定に重要な役割を果たす遺伝子間で保存された DNA 結合領域 (DM-ドメイン) をもつ脊椎動物の遺伝子で、ヒトで精巣に特異的に発現する遺伝子として見つかった (Raymond et al., 1998)。その後、いろいろな脊椎動物でみつき、ひろく種を超えて共通に存在し、精巣形成、発達に重要な役割を果たすと考えられている (Capel, 2000; Zarkower, 2001)。ティラピアでは、形態学的性差が出現する前の孵化後 6 日頃の XY 生殖腺で生殖細胞を取り囲む上皮細胞 (セルトリ細胞の前駆細胞) に特異的に発現するようになる。その後、形態形成の進行にともなってセルトリ細胞、精巣内輸尿管上皮といったセルトリ細胞系列の細胞に特異的に発現する。一方、XX 生殖腺では、DMRT1 の発現はみられない (Kobayashi et al., 2008; Ijiri et al., 2008)。

孵化後に XX 稚魚をアンドロゲンであるメチルテストステロンで処理すると、機能的雄へ性転換誘起できる。この時、卵原細胞を取り囲む体細胞 (前顆粒膜細胞) で DMRT1 の発現が誘起される。また、XY 稚魚にエストロゲン処理をし機能的雌への性転換を誘起した時には、生殖原細胞を取り囲む体細胞の DMRT1 の発現は抑制される (Kobayashi et al., 2008)。これまでに、DMRT1 の XX 個体における過剰発現、精巣分化期における機能喪失実験から、DMRT1 が精巣分化に重要な役割を果たしていることを裏付ける結果を得ている (未発表)。これらのことから、精巣分化において DMRT1 が重要であることが分かってきた。しかし、DMRT1 の時期、細胞特異的発現の制御機構、DMRT1 の作用機構に関しては未だ不明な点が多く、今後解明すべき重要な課題である。一方、メダカでは、DMRT1 は精巣分化後にセルトリ細胞系列で特異的に発現するようになる (Kobayashi et al., 2004)。しかし、最近、DMRT1 の機能不全は、精巣分化の進行に影響する可能性が指摘されている。今後、ティラピアとメダカで DMRT1 の機能解明を行うことにより、DMRT1 の生殖腺における機能の共通性が見いだせることを期待している (Fig.2)。

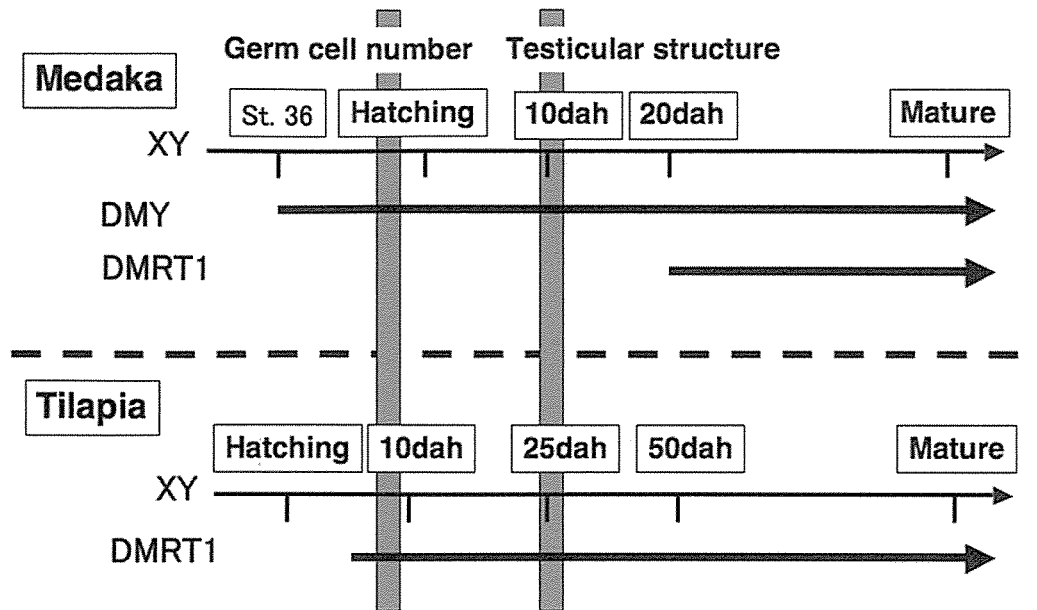


Fig. 2. DMY and DMRT1 expression in medaka and tilapia
Dah, days after hatching. "Germ cell number" and "Testicular structure" indicate the sex difference at the time point.

Sox9 が精巣分化に必要であることが、ほ乳類で知られている (Capel, 2000)。魚類では、ティラピア、メダカでの発現解析から、組織構築レベルの形態学的性差が現れた後に、精巣特異的な発現を示す。このことは、魚類では Sox9 が精巣分化の誘起には関係しないことを示唆する (Nakamoto et al., 2005; Kobayashi et al., 2008)。ほ乳類では、Sox9 は精細管前駆構造である精巣索の形成に関与することが知られている。魚類では、これに相当する構造の形成 (ティラピア：精細管原基、メダカ：アキナス構造) は精巣分化後に起こる (Nakamoto et al., 2005; Kobayashi et al., 2008)。このことは精巣分化過程での Sox9 の時期特異的な発現は、ほ乳類と魚類で異なるが、魚類でも Sox9 は、ほ乳類と同様に精細管構築に関与していることを示唆している。

性転換

魚類では、社会環境条件の変化により、成熟個体で性転換する種が数多く知られている (Reinboth, 1983; Devlin and Nagahama, 2002)。この性転換は、性分化後の成熟個体でみられるため、精巣、卵巣として機能するために必要な因子を解明するのに良いモデルとなる。しかし、これまでの研究の多くは、生態学、行動学的な解析であり、細胞、分子レベルでの解析は、立ち遅れている。

雌から雄への性転換

熱帯域のサンゴ礁に生息するベラの仲間で見られる性転換はよく知られている。縄張り雄がいなくなる等の社会性の変化が視覚的刺激として雌の脳に伝わり、一番大きな雌の行動、体色が雄型になるとともに、生殖腺が卵巣から精巣へと性転換し、縄張り雄になると考えられている。ハワイ産のベラ (*Thalassoma duperrey*) では、性転換過程において、卵母細胞の退行、精原細胞の増殖、精子形成の開始といった一連の過程は、急激に起こり、早いものでは、2 週間で完全な精巣へと性転換する (Morrey et al., 1998; Nakamura et al., 2005)。この時、卵巣の顆粒膜細胞で発現している芳香化酵素の発現抑制が最初の変化である。これにより、エストロゲン量が急激に減少する。これと呼応して卵黄蓄積中の卵母細胞が退行し始める。この後、卵胞の退行が進行し、卵巣の大部分を周辺期の卵母細胞が占める。この頃、卵巣薄板の基底部に生殖原細胞がみられるようになる。その後、この生殖原細胞は増殖し、シストを形成して精子形成を行う。生殖原細胞が増殖し始めるころに、間質部分に 11-β 水酸化酵素 (P45011β) を発現する細胞が増加するとともに、血中のアンドロゲン (11-ケトテストステロン) 量が増加する。性転換開始前の雌では、DMRT1 の発現はみられない。性転換開始後、エストロゲン量が減少した生殖腺の卵巣薄板上皮で DMRT1 の発現がみられるようになる。この領域が発達し、精巣部分が形成

される (Nakamura et al., 2005)。また、社会性の変化ではなく、芳香化酵素阻害剤処理によっても同様に性転換することが確かめられている。これらの結果は、ベラの性転換は、芳香化酵素の発現抑制によるエストロゲン量の低下が引き金となって起こり、精巣への分化転には、DMRT1 が重要な役割を果たしていることを強く示唆する。

両方向の性転換

オキナワベニハゼ (*Trimma okinawae*) は、大きな雌と小さな雌を同じ水槽にいれると、約 5 日で大きな雌が性転換し、雄となる。この雄は、同じ水槽にさらに大きな別の雄を入れると、再び雌に戻る。同じような条件をくりかえすと、何度でも性転換が起こる (Kobayashi et al., 2004; 2005a)。この時、性行動の変化は、性転換の方向に関係なく、30 分以内に起こる。生殖腺の性転換は雌から雄へは、5 日、雄から雌へは 10 日で完了する。性転換の方向に関係なく、卵巢の芳香化酵素の発現は大きな変化を示さず、常に高発現を示した (Kobayashi et al., 2004)。卵巢の Ad4BP/SF-1 の発現は、雌機能時に高く、雄機能時には減少する (Kobayashi et al., 2005b)。このことは、社会構造の変化による性転換刺激が、卵巢の Ad4BP/SF-1 の発現を調節し、卵巢の活性化に関与していることを示唆

する。しかしながら、精巣ではそのような変化はみられない。また、この種は解剖学的には、雌雄ともに 1 対の精巣及び卵巢 (計 2 対の生殖腺) をもつ (Kobayashi et al., 2005a)。これが両方向の機能的性転換を可能にさせるのと同時に、分子レベルの結果の解釈を難しくさせている。最近、雌雄生殖腺内で起こる生殖腺刺激ホルモン受容体遺伝子発現のオン/オフの調節によって生殖腺の機能的性転換を可能にさせていることが明らかとなった (Kobayashi et al., 2008)。今後、雄機能時、雌機能時における両生殖腺の機能変化の詳細を明らかにする必要がある。

おわりに

魚類の性決定と生殖腺の性分化、性転換の分子機構について、私たちの研究成果を中心に概説した。2002 年に脊椎動物で 2 番目となるメダカの性決定遺伝子：DMY が同定され、2007 年に完全に証明された。このことは、脊椎動物の性決定機構の多様性を分子レベルで初めて実証した。しかし、メダカ属では、DMY をもたない種がほとんどである。これらの性決定遺伝子が何であるのかは、極めて興味深い。メダカと同じ XX/X Y システムで性決定されるルソンメダカの研究成果が期待される。また、私たちによる生殖腺の性分化機構について知見が集積されつつあるティラピアの性決定

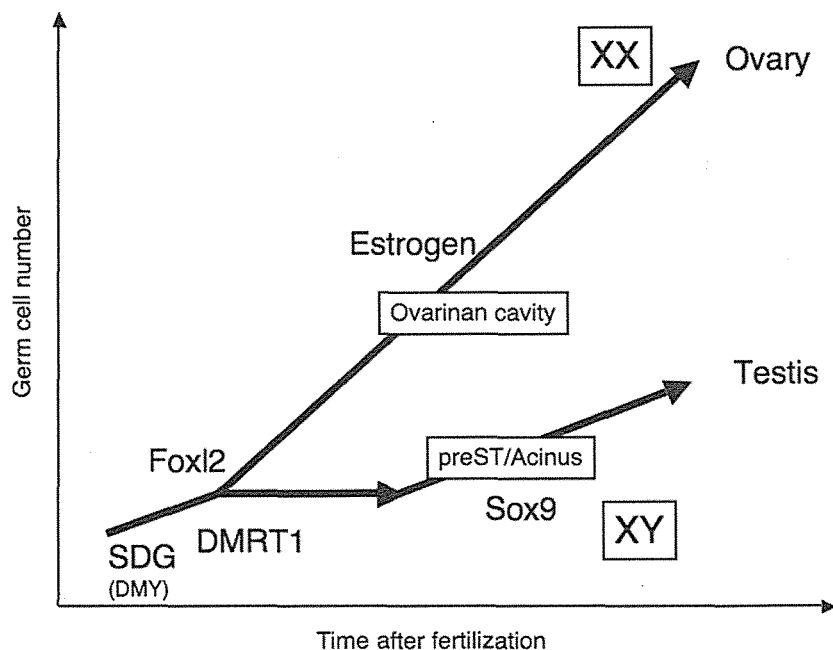


Fig. 3. Gonadal sex determination and differentiation in fish. Although sex determining gene in medaka is DMY, it is not identified in other fish yet. SDG, sex determining gene. preST, anlagen of seminiferous tubule structure in tilapia. Acinus, acinus structure as anlagen of seminiferous tubule in medaka.

遺伝子が同定されると性決定から性分化にいたるカスケードの理解が一気に早まると期待している。

生殖腺の性分化機構については、ティラピアでの研究から、卵巣分化、発達には Foxl2/ エストロゲンが重要であることが明らかとなった。今後、Foxl2 / エストロゲンと DMRT1 の発現制御、および作用機構を解明することが性分化機構の実態を理解するには、不可欠であるのは言うまでもない。現在、ティラピアとメダカの性分化期に特異的な発現をする遺伝子について、トランスジェニックによる機能解析に加えて、両魚種において確立した試験管内性分化再現系をツールとして機能解析を行っている。生殖腺の性分化は基本的には形態形成である。この形態形成機構を組織構築の分子解明という観点から明らかにしたいと考えている。

引用文献

- Baroiller JF, Guiguen Y, Fostier A., 1999: Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell. Mol. Life Sci.* **55**, 910-931
- Capel B., 2000: The battle of the sexes. *Mech. Develop.* **92**, 89-103.
- Devlin R. and Nagahama Y., 2002: Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, **208**, 191-366.
- Ijiri S., Kaneko H., Kobayashi T., Wang DS., Sakai F., Paul-Prasanth B., Nakamura M. and Nagahama Y., 2008: Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Biol Reprod.*, in press.
- Kobayashi T, Kajiura-Kobayashi H, Nagahama Y. 2000. Differential expression of vasa homologue gene in the germ cells during oogenesis and spermatogenesis in a teleost fish, tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Mech. Develop.* **99**, 139-142.
- Kobayashi T., Kajiura-Kobayashi H. and Nagahama Y., 2003: Induction of XY sex reversal by estrogen involves altered gene expression in a teleost, tilapia. *Cytogenet Genome Res.*, **101**, 289-294.
- Kobayashi T., Matsuda M., Kajiura-Kobayashi H., Suzuki A., Saito N., Nakamoto M., Shibata N. and Nagahama Y., 2004: Two DM domain genes, DMY and DMRT1, involved in testicular differentiation and development in the medaka, *Oryzias latipes*. *Dev Dyn.* **231**, 518-526.
- Kobayashi T., Kajiura-Kobayashi H., Guan G. and Nagahama Y., 2008: Sexual dimorphic expression of DMRT1 and Sox 9 during gonadal sex differentiation and hormone-induced sex-reversal in the teleost fish Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Dev Dyn.* **237**, 297-306.
- Kobayashi Y., Kobayashi T., Nakamura M., Sunobe T., Morrey CE., Suzuki N. and Nagahama Y., 2004: Characterization of two types of cytochrome P450 aromatase in the serial-sex changing gobiid fish, *Trimma okinawae*. *Zool. Sci.*, **21**, 417-425.
- Kobayashi Y., Sunobe T., Kobayashi T., Nagahama Y. and Nakamura M., 2005a: Gonadal structure of the serial-sex changing gobiid fish *Trimma okinawae*. *Dev Growth Differ.* **47**, 7-13.
- Kobayashi Y., Sunobe T., Kobayashi T., Nakamura M., Suzuki N. and Nagahama Y., 2005b: Molecular cloning and expression of Ad4BP/SF-1 in the serial sex changing gobiid fish, *Trimma okinawae*. *Biochem Biophys Res Commun.*, **332**, 1073-1080.
- Kobayashi Y., Nakamura M., Sunobe T., Usami T., Kobayashi T., Manabe H., Paul-Prasanth B., Suzuki N. and Nagahama Y., 2008 : Sex-change in the Gobiid Fish is mediated through Rapid Switching of Gonadotropin Receptors from Ovarian to Testicular protion or Vice-versa. *Endocrinology*, in press.
- Marchand O., Govoroun M., D'Cotta H., McMeel O., Lareyre J-J., Bernot A., Laudet V. and Guiguen Y., 2000: DMRT1 expression during gonadal differentiation and spermatogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biochim. Biophys. Acta* **1493**, 180-187.
- Matsuda M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey CE., 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.
- Matsuda M., Sato T., Toyazaki Y., Nagahama Y., Hamaguchi S. and Sakaizumi M., 2003: *Oryzias latipes* has DMY, a gene that is required for male development in the medaka, *O. latipes*. *Zool. Sci* **20**, 159-161.
- Matsuda M., Shinomiya A., Kinoshita M., Suzuki A., Kobayashi T., Paul-Prasanth B., Lau EL., Hamaguchi S., Sakaizumi M. and Nagahama Y., 2007: DMY gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish. *Proc Natl Acad Sci U S A.*

- 104, 3865-3870.
- Morrey, C.E., Nakamura M., Kobayashi T., Grau, E.G. and Nagahama, Y., 1998: P450scc-like immunoreactivity throughout gonadal restructuring in the protogynous hermaphrodite *Thalassoma duperrey*. *Intl. J. Dev. Biol.* **42**, 811-816.
- Nakamoto M., Matsuda M., Wang DS., Nagahama Y. and Shibata N., 2006: Molecular cloning and analysis of gonadal expression of Foxl2 in the medaka, *Oryzias latipes*. *Biochem Biophys Res Commun.* **344**, 353-361.
- Nakamoto M., Suzuki A., Matsuda M., Nagahama Y. and Shibata N., 2005: Testicular type Sox9 is not involved in sex determination but might be in the development of testicular structures in the medaka, *Oryzias latipes*. *Biochem Biophys Res Commun.* **333**, 729-736.
- Nakamura M., Kobayashi T., Chang X-T. and Nagahama Y., 1998: Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J. Exp. Zool.* **281**, 362-372.
- Nakamura M., Kobayashi T., Yoshiura Y. and Nagahama Y., 1999: Role of endogenous steroid hormones on gonadal sex differentiation in fish. In: Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. eds. by Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., Andersson, E. and Stefansson, S.O. Bergen, pp.247-249.
- Nakamura M., Kobayashi, Y., Miura S., Alam, M.,A. and Bhandari R. K., 2005: Sex change in coral reef fish. *Fish Physiol Biochem.*, **31**, 117-122
- Raymond CS., Shamu CE., Shen MM., Seifert KJ., Hirsch B., Hodgkin J. and Zarkower D., 1998: Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes. *Nature*. **91**, 691-695.
- Reinboth R. 1983: The peculiarities of gonad transformation in teleosts. In: Mechanisms of gonadal differentiation in vertebrates. Müller U, Franke WW (eds). Springer-Verlag, Berlin, pp. 82-86.
- Sato T., Suzuki A., Shibata N., Sakaizumi M. and Hamaguchi S., 2008: scl, a novel mutant of the medaka fish, *Oryzias latipes*, with no secondary sex characters. *Zool. Sci.*, **25**, 299-306.
- Satoh N., 1974: An ultrastructural study of sex differentiation in the teleost *Oryzias latipes*. *J Embryol Exp Morphol.* **32**, 195-215.
- Sinclair AH., berta P., Palmer MS., Hawkins JR., Griffiths BL., Smith MJ., Foster JW., Frischau AM., Lovell-Badge R. and Goodfellow PN. 1990: A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, **346**, 240-244.
- 四宮 愛、濱口 哲、酒泉 満、2003 : メダカの性決定遺伝子と生殖巣の性分化 : 脊椎動物の新しい性決定遺伝子 *DMY*. *細胞工学* , **22**, 1090-1096.
- Suzuki A., Tanaka M., Shibata N. and Nagahama Y., 2004: Expression of aromatase mRNA and effects of aromatase inhibitor during ovarian development in the medaka, *Oryzias latipes*. *J Exp Zoolol A Comp Exp Biol.*, **301**, 266-273.
- Tanaka K., Takehana Y., Naruse K., Hamaguchi S. and Sakaizumi M., 2007: Evidence for different origins of sex chromosomes in closely related *Oryzias* fishes: Substitution of the master sex-determining gene. *Genetics*, **177**, 2075-02081.
- Wang DS., Kobayashi T., Zou, L-Y. and Nagahama Y., 2004: Molecular cloning and gene expression of Foxl2 in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 83-89.
- Wang DS., Kobayashi T., Zhou LY., Paul-Prasanth B., Ijiri S., Sakai,F., Okubo K., Morohashi K.I. 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.
- Yamamoto T., 1953: Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*). *J Exp Zool.*, **123**, 571-594.
- Zarkower D., 2001: Establishing sexual dimorphism: conservation amidst diversity? *Nat Rev Genet.*, **2**, 175-185.