

脊椎動物の性分化機構に関する研究

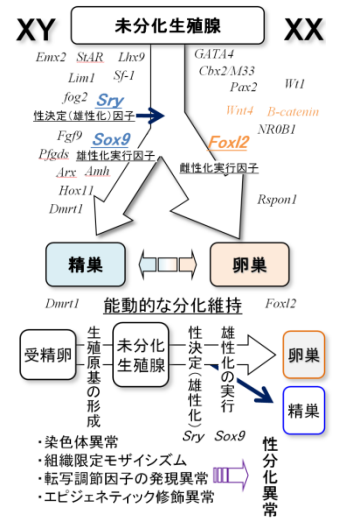
研究期間：2010～2019年

研究背景・目的

哺乳類をはじめとする脊椎動物のほとんどは、遺伝的多様性を産出するため有性生殖を行っている。有性生殖に参与する配偶子は生殖腺内で形成されるが、発生初期の生殖腺の元基は精巢にも卵巣にも分化可能な性的両能性を有している。その後、多くの哺乳類においては遺伝的な**性決定**が行われ、性染色体の組合せがXYであれば精巢が形成される雄に、XXであれば卵巣が形成される雌となる。

性決定にはY染色体上の性決定遺伝子**Sry**の発現が重要で、下流の精巢化関連遺伝子群を介して、未分化生殖腺内の支持細胞前駆細胞をセルトリ細胞へと分化誘導する。一方で、**Sry**が発現しない場合は卵巣化関連遺伝子群が発現し、支持細胞前駆細胞は顆粒膜細胞へと分化する。すなわち、**Sry**が発現する雄では精巢が、**Sry**を有しない雌では卵巣が形成される（**性分化**）。

Sryは発生初期に一過性に発現するが、その時空間的な発現を制御する詳細な機構は不明な点が多く存在している。**Sry**発現は数時間遅延するだけで性分化が攪乱されて疾患の原因となるため、その発現制御に関する分子基盤の解明を始めとする、性分化機構の解明を行っている。



実験概要

主たるモデル動物としてマウスを用い、生殖腺分化が進行・破綻する機構を組織学的手法、分子生物学的手法を用いて解析している。さらに、必要に応じて、遺伝子組換え実験、バイオインフォマティク手法を併用し、脊椎動物間で保存されている機構の探索についてニワトリを用いて解析している。

結果と考察

本来は精巢が形成される遺伝子型XYにおいて、精巢から卵巣までの性スペクトラムを呈する、新規の性分化攪乱モデルマウス系を確立した。その解析から、**Sry**の4-6時間の発現遅延が下流遺伝子の活性化不足と、未分化生殖腺の分化異常を惹起させていることを明らかとした (Umemura *et al.* 2015)。

このマウスの遺伝的背景 (B6N) を近縁の垂系統 (B6J) に変更すると、交配数の上昇につれて精巢が出現しなくなったことから、遺伝的背景の重要性を明らかとし、また **Sry**の発現制御に関する遺伝的領域を大きく絞り込んだ (Yokoyama, Miura *et al.* 2019)。

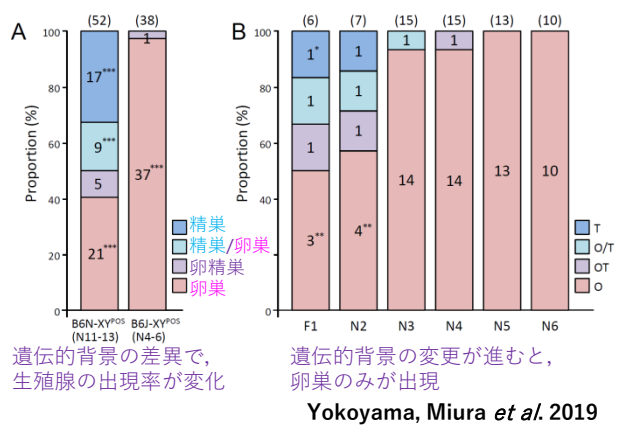
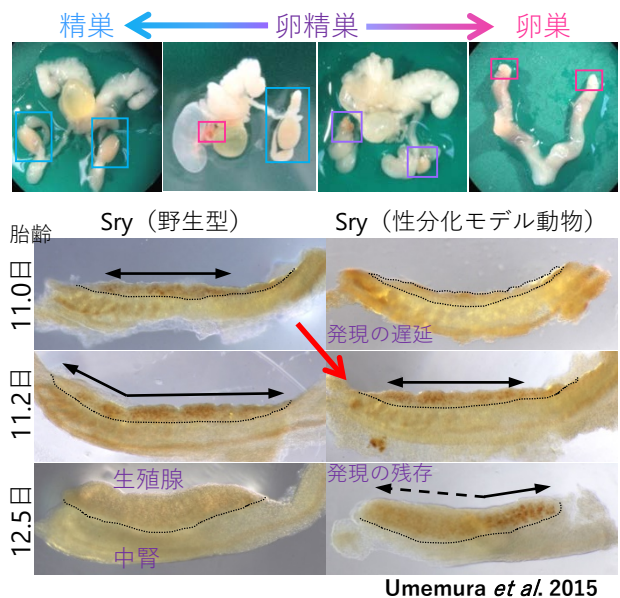
さらに、発現開始期の **Sry**発現は左右で異なっていることから (川西ら, 2019)、生殖腺内の **Sry**発現を制御する分子基盤は、現在の理解よりも複雑な時空間的制御を有する証拠を得ている (解析中)。

性分化機構の解明には **Sry**をはじめとする性分化関連因子の定量的解析が必須であるが、その際に重要な補正遺伝子の発現が発生初期においては大きく変動することを示し、最適な遺伝子群を提示している (Yokoyama *et al.* 2018)。

さらに、発生初期の生殖腺を生体外で培養して、精巢化に重要なセルトリ細胞を誘導する実験系を確立した。これにより、分化に参与する候補遺伝子を実験的に検証することを可能とした (Hasegawa *et al.* 投稿準備中)。

生殖腺と同様に副生殖腺も両能性を有しており、生殖腺の性決定後に雌雄の運命が決定される。雄においてはセルトリ細胞から分泌される *Amh* が雌性副生殖腺の元基を分解するが、その際、血液を介する機構の他に、組織内を浸潤して直接的に作用する機構が存在することを明らかとした (Yamamoto *et al.* 2018)。

以上のように、当研究分野では両能性を有する生殖腺元基が、正常な分化運命を辿る機構について研究している。



発表論文

1. Yokoyama T, Miura Y, Yamamoto A, Hasegawa C, Kawanishi K, Takada N, Omotehara T, Hirano T, Mantani Y, Miki T, Hoshi N. Genetic differences between C57BL/6 substrains affect the process of testis differentiation in Y^{POS} mice. *J Vet Med Sci*, 81, 2019.
2. Yokoyama T, Omotehara T, Kubota N, Yanai S, Hasegawa C, Takada T, Hirano T, Mantani Y, Hoshi N. Identification of reference genes for quantitative PCR analyses in developing mouse gonads. *J Vet Med Sci*, 80, 1534-1539, 2018.
3. Kubota N, Yokoyama T, Hoshi N, Suyama M, Identification of a candidate enhancer for DMRT3 involved in spastic cerebral palsy pathogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 496, 133-139, 2018.
4. Yamamoto A, Omotehara T, Miura Y, Takada T, Yoneda N, Hirano T, Mantani Y, Kitagawa H, Yokoyama T, Hoshi N. The mechanisms underlying the effects of AMH on Mullerian duct regression in male mice. *J Vet Med Sci*, 80, 557-567, 2018.
5. Ulu F, Kim SM, Yokoyama T, Yamazaki Y. Dose-Dependent Functions of FGF9 Regulate the Fate of Murine XY Primordial Germ Cells. *Biol Reprod*, 96, 122-133, 2017.
6. Omotehara T, Minami K, Mantani Y, Umemura Y, Nishida M, Hirano T, Yoshioka H, Kitagawa H, Yokoyama T, Hoshi N. Contribution of the coelomic epithelial cells specific to the left testis in the chicken embryo. *Dev Dyn*, 246, 148-156, 2017.
7. Umemura Y, Miyamoto R, Hashimoto R, Kinoshita K, Omotehara T, Nagahara D, Hirano T, Kubota N, Minami K, Yanai S, Masuda N, Yuasa H, Mantani Y, Matsuo Eiko, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. Ontogenic and morphological study of gonadal formation in genetically-modified sex reversal XY^{POS} mice. *J Vet Med Sci*, 77, 1587-1598, 2015.
8. Omotehara T, Smith C, Mantani Y, Tatsumi A, Nagahara D, Hashimoto R, Umemura Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Hoshi N. Spatiotemporal expression patterns of doublesex and mab-3 related transcription factor 1 in the chicken developing gonads and Mullerian ducts. *Poult Sci*, 93, 953-958, 2014.

他

学会発表

1. 川西航平, 長谷川千夏, 中村大河, 加藤 菜, 万谷洋平, 横山俊史, 星 信彦: 性決定期のマウス性腺における *Sry* 発現の時空間的解析-健全雄個体における *Sry* 発現の左右差-, 第162回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場 (つくば市), 2019年9月.
2. 長谷川千夏, 梅村ゆりあ, 川西航平, 中村大河, 加藤 菜, 万谷洋平, 横山俊史, 星 信彦: 性決定前のマウス未分化XY性腺の精巣化を誘導する器官培養法の確立とその組織学的評価, 第162回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場 (つくば市), 2019年9月.
3. 三浦由佳, 山本 杏, 川西航平, 長谷川千夏, 高田菜々子, 高田 匡, 万谷洋平, 横山 俊史, 星 信彦: 生殖腺の表現型に及ぼすマウス亜系統差の影響に関する遺伝学的研究, 第161回日本獣医学会学術集会, つくば国際会議場 (つくば市), 2018年9月.
4. 山本 杏, 表原拓也, 三浦由佳, 川西航平, 長谷川千夏, 万谷洋平, 横山 俊史, 星 信彦: マウスのミューラー管退行におけるAMH作用様式, 第93回日本解剖学会近畿支部学術集会, 滋賀医科大学 (大津市), 2017年11月.
5. 南 貴一, 表原拓也, 田淵圭章, 平野哲史, 横山俊史, 万谷洋平, 北川 浩, 星 信彦: ニワトリ雌右性腺退縮メカニズムの解明, 第92回日本解剖学会近畿支部学術集会, 近畿大学 (東大阪市), 2016年11月.

他

共同研究先

香川大学 医学部, 富山大学 研究推進機構, 東京医科大学 医学部, 神戸大学 医学部