

# 脊椎動物の性分化機構に関する研究

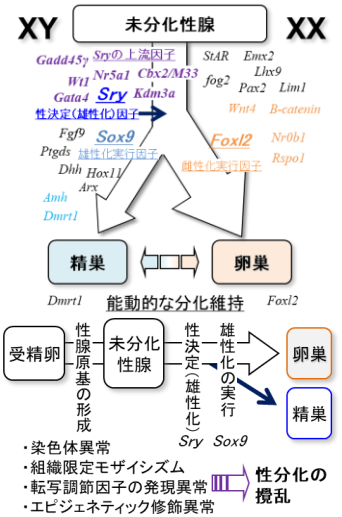
研究期間：2010～2023年

## 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

に關する配偶子は性腺内で形成されるが、発生初期の未分化性腺は精巣にも卵巣にも分化可能で、多くの哺乳類においては遺伝的性決定が行われる。すなわち、性染色体の組合せがXYであれば精巣が形成される雄に、XXであれば卵巣が形成される雌となる。その過程では、Y染色体上の性決定遺伝子Sryの適切な発現が重要で、下流の精巣化関連遺伝子群を介して、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巣が、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性分化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、およびその下流の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、性腺分化が進行・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ックな手法を併用し、脊椎動物間で保存されている機構の探索について解析している。

## 結果と考察

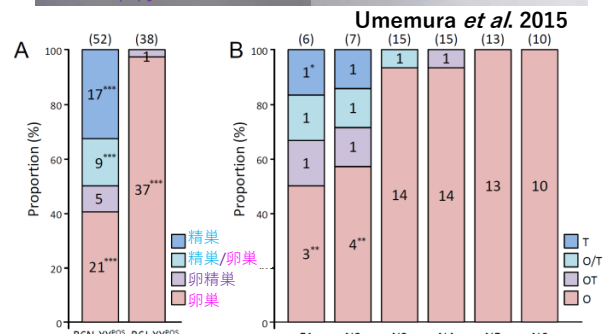
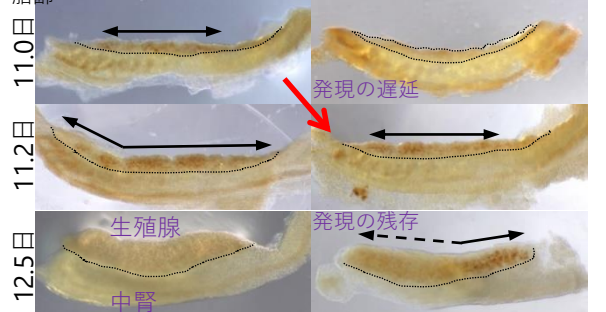
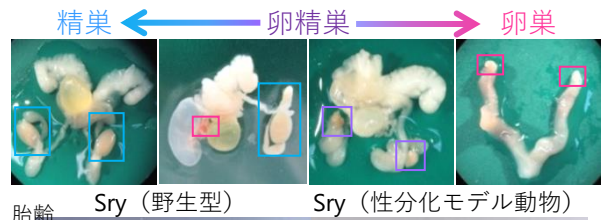
本来は精巣が形成される遺伝子型XYにおいて、精巣から卵巣までの性スペクトラムを呈する、新規の性分化攪乱モデルマウス系を確立した。その解析から、Sryの4-6時間の発現遅延が下流遺伝子の活性化不足と、未分化生殖腺の分化異常を惹起させていることを明らかとした (Umemura *et al.* 2015)。

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巣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た (Yokoyama, Miura *et al.* 2019)。さらに、発現開始期のB6N垂系統マウスのSry発現はB6J垂系統と異なっていた (Narita *et al.* 2023)。生殖腺内のSry発現については、現在の理解よりも複雑な遺伝的・エピゲノム的な制御が行われている (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、発生初期の性腺を生体外で培養して、精巣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、性分化に關する候補遺伝子を実験的に検証することが可能となった (Hasegawa *et al.* 2020)。

胎子においては雌雄両方の副生殖腺原基が形成され、性腺の性決定後にその片方が発生する。雄においてはセルトリ細胞から分泌されるAmhが雌性副生殖腺原基を退行させるが、組織内を浸潤して直接的に作用する機構を発見し、退行初期においては血液を介より浸潤する系の機能が主であることを明らかとした (Yamamoto *et al.* 2018; Kato *et al.* 2023)。

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。



Umemura *et al.* 2015

遺伝的背景の差異で、生殖腺の出現率が変化

Yokoyama, Miura *et al.* 2019

性決定機構に関する, *in vitro*実験が可能となった

Hasegawa *et al.* 2020

## 発表論文

1. Kato S, Yokoyama T, Okunishi N, Narita H, Fujikawa T, Kirizuki Y, Mantani Y, Miki T, Hoshi N. Direct diffusion of anti-Müllerian hormone from both the cranial and caudal regions of the testis during early gonadal development in mice. *Dev Dyn*, 2023.
2. Narita H, Yokoyama T, Okunishi N, Kato S, Fujikawa T, Kirizuki Y, Mantani Y, Miki T, Hoshi N. Substrain differences in Sry expression at the stage of sex determination in C57BL/6 mouse strains. *J Vet Med Sci*, 85, 1534–1539, 507–514 2023.
3. Hasegawa C, Yokoyama T, Umemura Y, Kawanishi K, Miura Y, Takada N, Ohno S, Onaru K, Omotehara T, Hirano T, Mantani Y, Miki T, Hoshi N. Establishment of an organ culture system to induce Sertoli cell differentiation from undifferentiated mouse gonads. *J Vet Med Sci*, 82, 414–421, 2020.
4. 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<sup>POS</sup> mice. *J Vet Med Sci*, 81, 608–611, 2019.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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<sup>POS</sup> mice. *J Vet Med Sci*, 77, 1587–1598, 2015.
11. 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. 加藤 栞, 横山俊史, 奥西宣祐, 成田大翔, 桐月優輔, 藤川大誠, 万谷洋平, 横山 俊史, 星 信彦: 発生中のマウスミュラー管尾部の器官培養法の検討, 第166回日本獣医学会学術集会, オンライン開催, 2023年9月.
2. 成田大翔, 横山俊史, 奥西宣祐, 加藤 栞, 桐月優輔, 藤川大誠, 万谷洋平, 横山俊史, 星 信彦: 性決定期のC57BL/6マウスにおけるSry発現の垂系統差に関する定量組織学的検討, 第165回日本獣医学会学術集会, オンラインライブ開催, 2022年9月.
3. 奥西宣祐, 横山俊史, 成田大翔, 加藤 栞, 桐月優輔, 藤川大誠, 万谷洋平, 横山俊史, 星 信彦: 性腺分化の臨界期のC57BL/6NマウスにおけるSry上流因子の発現に関する定量組織学的検討, 第165回日本獣医学会学術集会, オンラインライブ開催, 2022年9月.
4. 加藤 栞, 横山俊史, 奥西宣祐, 成田大翔, 桐月優輔, 藤川大誠, 万谷洋平, 横山 俊史, 星 信彦: 発生中のマウスにおける中腎領域へのAMHの移行経路の検討, 第97回日本解剖学会近畿支部学術集会, オンライン開催, 2021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, 順天堂大学 医学部, 神戸大学 医学部