

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07195

研究課題名(和文)性ホルモン依存的な雄の繁殖戦略多様化の進化遺伝機構：トゲウオ科魚類を例として

研究課題名(英文)Evolutionary genetic basis of divergence in androgen-dependent male mating strategy of threespine stickleback

研究代表者

小北 智之(Kokita, Tomoyuki)

福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授

研究者番号：60372835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：雄間競争と雌からの配偶者選択に重要な雄の性的形質は、雄性ホルモン(アンドロゲン)依存的に発現することが脊椎動物全般で知られており、雄のアンドロゲン合成能の遺伝的変異は選択のターゲットになることが予測されている。本研究は、繁殖システムと関連したアンドロゲンレベルの集団間変異が存在するイトヨ類をモデル系として、行動的・形態的な性的形質発現の重要なプロキシであるアンドロゲン合成能の適応進化とその進化的制約を自然集団で検証した。

研究成果の概要(英文)：Sex steroid hormone is an important mediator of many social and sexual behaviors in vertebrates and its circulating levels can influence fitness via hormone-mediated phenotypes. The previous studies strongly suggested that male androgen levels are under strong direct selection, and that males with high levels of androgen enjoy a selective advantage in terms of increased reproductive success. To address this prediction, I used natural variation in androgen-mediated traits between different ecotype populations of the Japanese threespined stickleback as a model system. In this study, I elucidated that there is adaptive population divergence of male androgen production in relation to mating system in nature and the presence of androgen-dependent reproductive cost may constrain evolution of high androgen levels and drive evolutionary divergence in androgen levels in relation to breeding system.

研究分野：生態ゲノム学

キーワード：生態ゲノミクス 行動生態学 配偶戦略 雄性ホルモン 魚類

1. 研究開始当初の背景

性淘汰理論によると、例外的な状況を除いて、雄の繁殖成功は配偶者獲得数に強く依存することから、雄間競争と雌からの配偶者選択に有利な形質が雄に適応進化することが予測され、行動生態学の分野では古くから多くの実証的研究が行われてきた。このような雄の繁殖成功に直結する行動的・形態的な性的形質には、雄性ホルモン（アンドロゲン）依存的に発現する形質が多いことが脊椎動物全般で知られている。つまり、さまざまな性的形質の発現に多面的に作用するアンドロゲンは、雄の基本的な繁殖戦略の背後にある最も重要な内分泌シグナルといえる。近年では行動生態学でも、このホルモンの適応度への影響がさかんに研究されるようになり、自然集団に存在する雄のアンドロゲンレベルの遺伝的変異が方向性選択や分断選択のターゲットになることが想定されている（例えば、Mills et al. 2009, Am. Nat.; McGlothlin et al. 2010, Am. Nat.）。しかし、これまでの研究は、実験動物を用いた飼育下での人為選択や野生集団を用いたインプラント実験によってアンドロゲンレベルを人為的に操作したものであり、自然集団におけるアンドロゲン合成能の遺伝的変異の存在とその適応進化を実証した例はない。

研究代表者はこのような課題にアプローチする一つの視点として、異なる繁殖システムを示す集団間に存在するアンドロゲンレベルの遺伝的変異に着目した。つまり、雄間競争の程度などが相対的に高い集団では、遺伝的に高いアンドロゲン合成能が適応進化するという仮説を設定し、集団間の適応的分化を検出することによって、自然集団におけるアンドロゲンレベルに対する選択圧の関与を実証しようとするものである。

研究代表者は、このための絶好のモデル系として、ニコ・ティンバーゲン以来の動物行動学の伝統があり、行動生態学や進化ゲノミクスのモデル脊椎動物であるトゲウオ科魚類のイトヨ類を選定した。特に、生態型間（湧水型と渓流型）で繁殖システムに対照的な変異が認められるハリヨ（岐阜県と滋賀県に生息する日本産淡水型イトヨの一系統）を研究対象とした。これらの生態型間（湧水型：岐阜県に生息；渓流型：滋賀県に生息）には雄の繁殖形質（繁殖時の攻撃性、なわばり獲得能、繁殖努力、性的形質発現）に明瞭な変異が存在する。野外調査データからこの変異には生息環境の特性と関連した適応的なシナリオが推察されてきた（Mori 1987, Japan. J. Ichthyol.; 小北ら、未発表）。さらに、雄間競争が激しく、繁殖の偏りが大きい繁殖システムを保有する湧水型では、繁殖フェーズにおいて血中アンドロゲン濃度が高く、雄間競争が相対的に弱い渓流型は血中アンドロゲンが低い一方、寿命は長い（複数年繁殖に参加）。このように雄繁殖戦略がアンドロゲン量依存的に適応的分化している可能性が示唆さ

れた。研究代表者による先行研究では、フィールド調査と生態ゲノミクスの手法を駆使して異なる雄繁殖戦略を示す集団間に存在するアンドロゲンレベルの遺伝的分化を検出することに成功した。

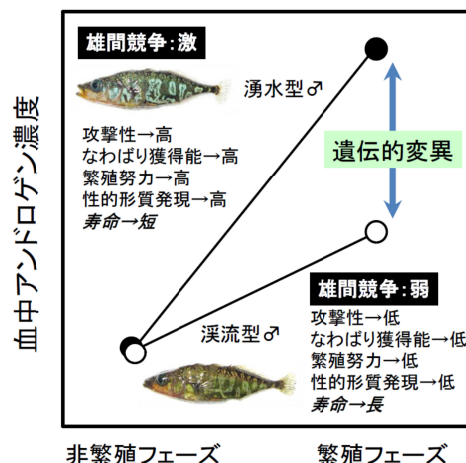


図1. ハリヨ生態型間における雄のアンドロゲン量の遺伝的分化

2. 研究の目的

本研究では、上記の先行研究の成果を基盤として、下記の多角的なアプローチにより、繁殖システム依存的な雄アンドロゲン合成能の適応進化を検証することを目的とする。(1) phenotypic engineering によるアンドロゲンレベルと雄の適応的形質発現の関連性の検出、(2) 逆遺伝学的手法によるアンドロゲン合成能変異の原因 DNA 変異の検出、(3) 雄のアンドロゲン合成能における進化的制約の検出。

3. 研究の方法

(1) Phenotypic engineering: アンドロゲンインプラントによる *in vivo* でのホルモン量操作: アンドロゲン [イトヨ類を含む魚類で最も重要なアンドロゲンである 11-ケトテストステロン (11-KT) の前駆体である 11-KA] を腹腔内にインプラントし、アンドロゲンレベル (11-KT) 実験的に操作することで、その雄の繁殖行動形質 (繁殖時の攻撃性、なわばり獲得能、性的形質発現) 発現への影響を水槽実験により検証した。また、アンドロゲンは個体の寿命に関連する生理的コスト (ROS による酸化ストレスレベルの増大) を及ぼすことがいくつかの脊椎動物で知られている。これはアンドロゲン合成能を高めることの潜在的コストとして働くことが推察されているため、このようなコストがアンドロゲン量依存的に増大するかも検証した。

(2) アンドロゲン合成能変異の原因 DNA 変異の探索: 先行研究で実施した生態型間の F₂ 交雑家系を用いた QTL 解析によって、アンドロゲン量や繁殖形質発現に変異をもたらす重要な原因遺伝子座を特定に成功した。さらに、トランスクリプトーム解析や様々な分子生物学的解析から、特に重要な QTL 領域に存在する原因候補遺伝子の検出に成功するとともに、その遺伝子

の転写調節領域に存在する原因候補 DNA 領域さえも見出した。本研究では、ゲノム編集を用いて、この領域のアンドロゲン合成能への影響の検証を試みた。

(3)雄のアンドロゲン合成能における進化的制約の検出:先述したように、ROS による酸化ストレスは、高いアンドロゲン合成能(ひいては、雄の高い繁殖成功を達成する表現型発現)の進化的制約となると考えられる。このような継続的な ROS による酸化ストレスを検出するバイオマーカーの一つとして、染色体末端に存在する DNA 反復配列(脊椎動物では TTAGGG)であるテロメアの長さが挙げられる。ROS は DNA の損傷を引き起こすが、これによりテロメアの短縮を促進することが知られている。本研究では、このテロメア長に焦点を当て、湧水型と渓流型の繁殖と関連したテロメア動態を野外で精査した。

4. 研究成果

(1)phenotypic engineering によるアンドロゲンレベルと雄の適応的形質発現の関連性:アンドロゲンレベル依存的に雄の形質発現が変化することが確認された。また、湧水型および渓流型のコントロール個体間を用いた「なわばり獲得能」実験では、すべての反復実験で湧水型がなわばりを獲得したが、アンドロゲンレベルが低い渓流型のアンドロゲンレベルを実験的に高めると湧水型よりも高いなわばり獲得能が発現されることが判明した。このように、両集団の雄の形質変異にアンドロゲンレベルの遺伝的変異が関与していることが強く示唆された。

(2)逆遺伝学的手法によるアンドロゲン合成能変異の原因 DNA 変異の検出:ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9)によって、該当領域の塩基配列を変化させることには成功したが、いくつかの技術的課題が残されており、本研究の研究期間内に該当領域の改変と関連した表現型アッセイまで実施することができなかった。しかし、この分析は現在も継続しており、今後その検証ができるものと期待できる。

(3)雄のアンドロゲン合成能における進化的制約の検出:アンドロゲンインプラントによる *in vivo* でのホルモン量操作の結果、酸化ストレスレベル[核酸酸化ストレスマーカーおよび抗酸化酵素(SOD2, SOD3, CAT)の発現量]が上昇(前者)・下降(後者)することが判明した。さらに、この操作により、有意に顕著なテロメア短縮が見出された。次に、野外におけるテロメア動態を両集団で比較したところ、繁殖期中の雄のテロメア短縮は湧水型のほうが顕著であり、この現象は湧水型のほうが繁殖と関連した高い酸化ストレスを被っている結果であると考えられる。以上の点から、高いアンドロゲンレベルを保有する湧水型には酸化ストレスを介した高い繁殖コストが存在し、これが両集団の生活史の違いをもたらす至近要因の一つであると考えられる。このように、繁殖と生存のトレードオフがアンドロゲン合成能

の進化的制約となっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計8件)

Kokita, T., M. Takeda, K. Harada and S. Mori. Correlated divergence of male and female gonadal steroidogenesis between stickleback ecotypes with contrasting breeding system. 9th International Conference on Stickleback Behavior and Evolution. July 2018, Kyoto University (Kyoto, Japan). 【発表予定(確定済)】

Harada, K., S. Mori and T. Kokita. Ecotypic variation in androgen-dependent reproductive cost of male threespine stickleback inferred from telomere dynamics. 9th International Conference on Stickleback Behavior and Evolution. July 2018, Kyoto University (Kyoto, Japan). 【発表予定(確定済)】

原田佳奈、武田 稔、森 誠一、小北智之。生活史戦略が異なるハリヨ集団間におけるテロメア動態の変異。日本魚類学会 2017 年度年会、2017 年 9 月、北海道大学水産学部(函館市)。

小北智之、武田 稔、森 誠一。雄性ホルモンレベルと攻撃性における雌雄間の関連した進化。日本生態学会第 64 回全国大会、2017 年 3 月、早稲田大学(東京)。

武田 稔、中森真子、森 誠一、小北智之。ハリヨ雌の繁殖関連行動と性ホルモンレベルの集団間変異。日本魚類学会 2016 年度年会、2016 年 9 月、岐阜大学(岐阜市)。

小北智之、石川麻乃、北野 潤、森 誠一。繁殖システムに依存した性ホルモンレベルの適応進化。2015 年度日本動物行動学会大会、2015 年 11 月、東京海洋大学(東京都)。

武田 稔、森 誠一、小北智之。雄性ホルモンの免疫抑制効果とハリヨ雄繁殖戦略の適応的分化との関連性。日本魚類学会 2015 年度年会、2015 年 9 月、近畿大学農学部(奈良市)。

Kokita, T., A. Ishikawa, J. Kitano and S. Mori. Adaptive population divergence of male androgen production in relation to

mating system and its genetic basis in Threespine Stickleback. 8th International Conference on Stickleback Behavior and Evolution. July 2015, Stony Brook University (New York, USA).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小北 智之 (KOKITA Tomoyuki)
福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授
研究者番号：60372835

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()