

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02275

研究課題名(和文) 条鰭類を網羅する卵成熟誘起ホルモン産生分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying production of oocyte maturation inducing hormone in teleost

研究代表者

井尻 成保(Ijiri, Shigeo)

北海道大学・水産科学研究院・准教授

研究者番号：90425421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、卵成熟を誘起する卵成熟誘起ホルモン(MIH；DHP)の産生制御機構を条鰭類の進化全体を通して明らかにしようとするものである。DHP産生はその前駆体ステロイド170HPをDHPに転換する20 $\alpha$ -HSD酵素の発現によって制御される。本研究まで、20 $\alpha$ -HSDはカルボニル還元酵素であるとされていたがそれは間違いであり、Hsd17b12Lが20 $\alpha$ -HSDをコードする遺伝子であることを古代魚チョウザメ以降の条鰭類全体においての普遍性を証明した。DHP産生は、サケ科やメダカではHsd17b12L発現が鍵を握っており、ウナギやチョウザメでは170HP産生が鍵であり、その制御様式は多様であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

絶滅が危惧される魚種では人が増殖を助ける必要がある。その際、受精可能な卵を得るには卵成熟をホルモン操作によって人為誘導する必要がある。卵成熟を誘起するDHPが適切な時期に卵巢で作られれば卵成熟する。飼育下の繁殖困難魚ではDHPが作られず産卵に至らない。ところが、DHP産生の分子機構は古くから間違った理解が広がっていた。本研究は、従来の説を完全に否定し、条鰭類を網羅した証拠を示して正しいDHP産生制御機構を初めて明らかにしたものである。本研究で扱う、ウナギやチョウザメなどで、人為卵成熟技術を正しく評価、発展させる分子的評価基盤を世界で初めて示すことができたものである。

研究成果の概要(英文)：Maturation-inducing hormone in fish was identified as DHP. DHP is directly related to the maturational successful to produce fertilizable eggs. This study proved that Hsd17b12L is the enzyme to convert the precursor 170HP to DHP throughout the fish evolution from sturgeon to eel, salmon and tilapia. Meanwhile, this study illustrated that DHP production is controlled by not only Hsd17b12L expression but also 170HP production. Salmonid and medaka were controlled by Hsd17b12L expression, however sturgeon and eel were controlled by 170HP production. 170HP production is controlled by the balance of cyp17a1 and cyp17a2 expressions. This study has not reached to understand control mechanisms to regulate transcription of these genes. Toward understanding in MIS production control, transcriptional control of cyp17a1, cyp17a2 and hsd17b12L will be necessary to develop artificial maturation control for unmanageable fish species.

研究分野：魚類生殖生理学

キーワード：卵成熟誘起ホルモン DHP MIH ティラピア ウナギ チョウザメ

1. 研究開始当初の背景

卵生脊椎動物では、第一減数分裂前期で停止した卵母細胞は卵成長の後、産卵環境が整うと、脳下垂体から黄体形成ホルモンの大量分泌 (LH サージ) が起こり、その刺激により卵母細胞は減数分裂を再開して卵成熟し、排卵を経て受精可能な卵となる。真骨類では、LH サージは卵母細胞を取り囲む濾胞細胞で MIH の産生を誘導し、MIH が卵母細胞に作用して卵成熟を誘起する。脊椎動物では 1985 年に初めて、真骨類のアマゴにおいて、多くの魚種の MIH はステロイドである 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) である。その後、その前駆体である 17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン (17OHP) を DHP に転換する 20 $\beta$ -ヒドロキシステロイド酸化還元酵素 (20 $\beta$ -HSD) がブタ胎児精巣から同定され、続いてクローニングされたそれをコードする遺伝子はカルボニル還元酵素様 20 $\beta$ -HSD (CR/20 $\beta$ -HSD) と名付けられた。これをプローブとしてまず、ニジマスから真骨類で初めて CR/20 $\beta$ -HSD 遺伝子がクローニングされ、その後様々な真骨類からオソログ遺伝子がクローニングされて卵成熟時における MIH 産生能と関連づけて論ずる論文が多数公表されている。しかしわれわれは、CR/20 $\beta$ -HSD が卵成熟時に MIH 産生を担う酵素であるということに疑いを持った (図 1)。

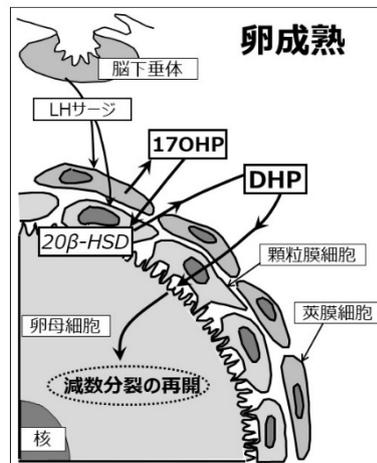


図 1. 卵成熟誘起ホルモン産生機構

サケ科魚類の DHP 産生機構は 1980 年代に長濱らによる一連の *in vitro* 実験によって極めてよく理解されている。ステロイドホルモンは卵母細胞を取り囲む濾胞細胞層で産生されるが、濾胞細胞層は外側の莢膜細胞層と内側の顆粒膜細胞層から成り、それぞれ異なった役割を持つ。卵黄形成時期には莢膜細胞でテストステロンが産生され、それが顆粒膜細胞の芳香化酵素によって雌性ホルモン

(E2) に転換され、E2 が肝臓に作用して卵黄前駆物質産生を誘導することで卵黄形成が進む。卵黄形成が完了し、産卵環境が整うと、LH サージの刺激で、莢膜細胞では 17OHP が産生され、それが顆粒膜細胞で 20 $\beta$ -HSD によって DHP に転換される。このように、卵成熟直前には E2 から DHP 産生へと劇的なステロイド産生経路の転換が生じる。この転換は、莢膜細胞におけるテストステロンから 17OHP 産生への転換と、顆粒膜細胞における芳香化酵素から 20 $\beta$ -HSD 発現への転換によって生じる (図 2)。

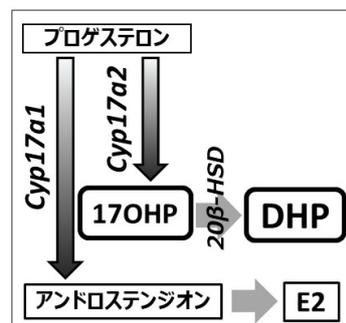


図 2. E2 産生から DHP 産生へのステロイド産生転換機構

LH サージによる 20 $\beta$ -HSD 活性の誘起は遺伝子の転写レベルから制御されることは分かっていた。われわれはサクラマスの卵成熟前の顆粒膜細胞の 20 $\beta$ -HSD 活性を *in vitro* で誘導し、その時に発現上昇する mRNA を網羅的に調べ、17 $\beta$ -水酸化ステロイド酸化還元酵素タイプ 12 様遺伝子 (Hsd17 $\beta$  12L) が 17OHP を DHP へ転換する強力な 20 $\beta$ -HSD 活性を持つことを突き止めた。さらに、性成熟期を通して、*in vivo* では血中 DHP 量の変化と卵濾胞の Hsd17 $\beta$ 12L mRNA 量の変化がよく一致し、*in vitro* では、卵成熟前の顆粒膜細胞に LH 刺激を与えると、20 $\beta$ -HSD 活性が高まるとともに Hsd17 $\beta$ 12L mRNA 発現が劇的に高まることも明らかにした。よって、卵成熟時に顆粒膜細胞で 17OHP を DHP へ転換する酵素は CR/20 $\beta$ -HSD ではなく、Hsd17 $\beta$ 12L であると結論し、LH サージは顆粒膜細胞における Hsd17 $\beta$ 12L 発現を誘起することで DHP 産生を誘導すると説明することができた。しかし、この結果を発表したところ、海外の研究者から、Hsd17 $\beta$ 12L が 20 $\beta$ -HSD をコードする遺伝子であるのはサケ科魚類で示されたのみであり、ティラピア等では過去に発表された通り CR/20 $\beta$ -HSD が 20 $\beta$ -HSD をコードする遺伝子であろうとの反論発表があり、Hsd17 $\beta$ 12L が 20 $\beta$ -HSD であるということにコンセンサスを得られていないことを強く感じた。

2. 研究の目的

本研究では、条鰭類全体 (いわゆるサメ類を除いた硬骨魚類) を網羅した MIH 産生機構の解明を目指す。まず、条鰭類全体で Hsd17 $\beta$ 12L が MIH 産生を担う酵素であるか否かを明らかにする。MIH 産生機構は、真頭上団 (言葉はよくないがいわゆる進化的に下等な魚類) ではウナギおよび、正真骨団 (進化的に中間的な魚類) ではサケ科、およびより高位に位置する (進化的に新しい魚類) ティラピアにおいて解明する。さらに、真骨類のさらに下位に位置する軟質下綱 (いわゆる古代魚) のチョウザメ類における MIH の同定とその産生機構を解明する。およそ 4 億年にわたって分化した条鰭類全体の MIH 産生機構はどのような普遍性と多様性を持つのかという「問い」を持ち、その答えを求める。

本研究を始めるまで、20 $\beta$ -HSD が Hsd17 $\beta$ 12L 遺伝子であることを証明したのはサクラマスのみである。Hsd17 $\beta$  遺伝子ファミリーは 14 タイプが知られており、それぞれ異なったステロイド代謝を担い、そのいくつかはステロイド以外でさえも基質として代謝する多機能酵素である。Hsd17 $\beta$ 12L 遺伝子は多くの魚種のゲノムおよび EST データベースから見つけることができるが、長鎖脂肪酸アシル CoA 還元酵素とされているものもあり、本酵素特性についてのコンセンサスはない。これは、塩基配列の相同性のみで遺伝子名を機械的に付与しているからであり、い

れもその実際の活性を調べていない。これは近年の危険な潮流であり、特に、多機能性を持つ可能性のある Hsd17B ファミリーにおいては、その酵素活性の誤った認識を広めることになる。そこで本研究では、条鰭類中は幅広い種で、Hsd17B12L の酵素特性を明らかにし、さらに MIH 産生への関わりを示す。

最後に、もし Hsd17B12L が強い 20 $\beta$ -HSD 活性を持っていながら、最終成熟期の濾胞細胞で著しい発現上昇を示さない場合は、前駆体である 17OHP 産生の上昇によって DHP 産生が制御されている可能性が考えられる。この場合、プロゲステロンをアンドロステンジオンに転換する Cyp17a1、およびプロゲステロンを 17OHP に転換する Cyp17a2 の発現のバランスによって 17OHP 産生の有無が調節されると予想される。従って、卵成熟時におけるこれら両遺伝子発現を調べることで 17OHP 産生の調節機構を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### ① Hsd17B12L および CR/20 $\beta$ -HSD 遺伝子のクローニング

ウナギ、アムールチョウザメからはそれぞれ独自に構築した EST データベースからサクラマス Hsd17B12L と相同性の高い配列を選抜し、それぞれ 5' および 3' RACE を行い完全長 cDNA の配列を決定した。それぞれのオープンリーディングフレームを SV40 プロモーターを持つ強制発現ベクターに挿入し、HEK293T 細胞にトランスフェクション後、様々なステロイド基質を添加して培養した後、培養液中の代謝ステロイドを時間分解蛍光免疫測定法 (TR-FIA) および液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) で代謝ステロイドを測定した。Cyp17a1、Cyp17a2 遺伝子も同様にクローニングした。

#### ② Hsd17B12L の基質特異性

Hsd17B12L をトランスフェクションした HEK293T 細胞に 17OHP、アンドロステンジオン (A4)、アンドロステロン (11KA4)、エストロン (E1)、DHP、テストステロン (T)、11-ケトテストステロン (11KT)、またはエストラジオール-17 $\beta$  (E2) を添加培養し、培養後培養液中の代謝ステロイドを LC/MS/MS で測定した。

#### ③ 卵濾胞培養実験

卵濾胞をサケ脳下垂体抽出物 (SPE)、人絨毛性ゴナドトロピン (HCG)、フォルスコリン (LH 作用のうち細胞内 cAMP 濃度上昇効果を疑似する試薬)、または組換え LH などのゴナドトロピンとともに培養した。培養は 17OHP 存在下または非存在下で行った。培養後の培養液中の DHP 量は TR-FIA で測定し、培養後濾胞組織中の Hsd17B12L および CR/20 $\beta$ -HSD mRNA 量は定量 PCR 法で測定した。

#### ④ 卵黄形成中、卵成熟前後の期間を通した卵巣における Hsd17B12L 等の遺伝子発現変化

卵黄形成中、卵黄形成完了から卵成熟完了までのステージを通して卵巣を適宜サンプリングし、卵巣における Hsd17B12L 等の mRNA 量の発現量の変化を定量 PCR 法で測定した。

### 4. 研究成果

まず、それぞれの魚種についての結果を記し、最後に条鰭類を通した MIH 産生機構について、その多様性と普遍性について考察する。

#### (1) ナイルティラピア

##### ① Hsd17B12L および CR/20 $\beta$ -HSD

ナイルティラピアでは過去に Hsd17B12 が報告されているが、調べられた基質はどれも転換されなかったことから酵素活性不明と結論されていた。サクラマス Hsd17B12L に近い配列をナイルティラピアで探索すると、既報の Hsd17B12 が候補に挙がった。当時、Hsd17B12L は未発見であったため、Hsd17B12L を Hsd17B12 と誤認したと考えられ、本遺伝子を改めてクローニングし、その酵素活性を調べた。同時に CR/20 $\beta$ -HSD 遺伝子も再クローニングして測定した。その結果、Hsd17B12 は添加した 17OHP の 80% を DHP に転換する強力な 20 $\beta$ -HSD 活性を示した。一方、CR/20 $\beta$ -HSD は DHP を産生せず 20 $\beta$ -HSD 活性を持たないことが示された。

様々なステロイド基質とともに培養した結果、ティラピア Hsd17B12 は 17OHP 以外のステロイドを代謝しなかった。つまり、調べた限りではティラピア Hsd17B12 はいずれの Hsd17B 活性も持たず、20 $\beta$ -HSD 活性のみを持つことが示された。CR/20 $\beta$ -HSD は A4 を T に転換する中強度の活性を示し、驚いたことに 11KA4 を強力に 11KT に転換する Hsd17B の還元化活性を示した。

##### ② 卵濾胞培養実験

SPE、HCG を添加した卵黄形成完了後卵濾胞では 17OHP を DHP に転換する 20 $\beta$ -HSD 活性が有意に上昇したが、SPE、HCG 未添加では全く活性は上がらなかった。つまり、LH 作用が濾胞細胞中の 20 $\beta$ -HSD 活性を誘導することが示された。一方、卵黄形成後期の卵濾胞では LH 刺激を与えても 20 $\beta$ -HSD 活性は誘導されなかった。

培養後の卵黄形成完了後濾胞細胞中の Hsd17B12 mRNA 量 (以下、発現量と記す) は SPE、HCG 添加群において未添加群に比べて劇的な上昇を示した。卵黄形成後期の卵濾胞でも Hsd17B12 発現量は有意に上昇したが、卵黄形成完了後濾胞細胞ほどの上昇ではなかった。一方、CR/20 $\beta$ -HSD はいずれの濾胞細胞でも LH による発現上昇は認められなかった。

③ まとめ

酵素活性不明とされていた既知のティラピア *Hsd17b12* はサクラマス *Hsd17b12L* のオースログであり、17OHP に対する強力な 20β-HSD 活性を持つことが分かった。また、この遺伝子は培養卵濾胞において、LH 刺激により発現が誘導され、それは濾胞細胞での 20β-HSD 活性と同調することが示された。一方、ティラピア CR/20β-HSD は、過去の論文で発表されたような 20β-HSD 活性は認められず、また LH 刺激によっても濾胞細胞層で発現は誘導されないことが示された。ティラピアでは、*Hsd17b12* が最終成熟期の卵濾胞における DHP 産生を担う酵素であり、CR/20β-HSD が 20β-HSD 活性を担う酵素であるという過去の報告は完全に否定された (図 3)。

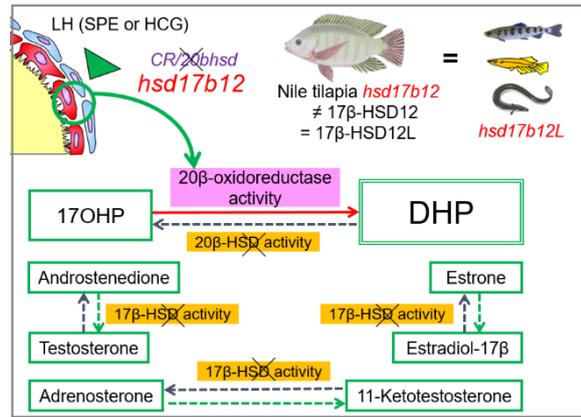


図 3. ティラピアの DHP 産生機構

(2) ニホンウナギ

① *Hsd17b12L* および CR/20β-HSD

ニホンウナギの CR/20β-HSD が全く 20β-HSD 活性を持たないことは過去のわれわれの研究で分かっていた。本研究では新たにサクラマス *Hsd17b12L* の相同遺伝子をウナギからクローニングした。ウナギ *Hsd17b12L* をトランスフェクションした HEK293T 細胞は 17OHP に対する強力な 20β-HSD 活性を示した。

ウナギ *Hsd17b12L* は 17OHP 以外のステロイド基質をほとんど代謝しなかったが、わずかに 11KA4 を 11KT に転換する *Hsd17b* 活性を持っていた。しかし、その活性は微弱であり *Hsd17b* 活性を併せ持つまでとはいえなかった。

過去のわれわれの研究から、ウナギ卵濾胞は性成熟前から強い 20β-HSD 活性を持ち、その活性は性成熟に伴い上昇することが分かっていた。卵黄形成中から卵成熟に至るまで卵濾胞中の *Hsd17b12L* は一貫して高い発現量を示していた。しかし、卵黄形成完了から卵成熟完了に至るまでの間に *Hsd17b12L* 発現は漸増するもののサクラマスのような劇的な上昇は示さなかった。一方、卵成熟前と比べて排卵後の血中 DHP 量は著しく上昇した。

② *Cyp17a1* および *Cyp17a2*

卵成熟前後において *Hsd17b12L* 発現は著しい上昇を示さなかったことから、この間の血中 DHP の急上昇は *Hsd17b12L* の発現上昇ではなく、17OHP 産生によって制御されているのではないかと考えられた。*Cyp17a1* は過去にクローニングされており、プロゲステロンを速やかにアンドロステンジオンに転換する酵素活性が証明されている。本研究では、新たに *Cyp17a2* 遺伝子をクローニングし、その活性を調べたところ、プロゲステロンを 17OHP に転換する強い酵素活性を持つものの、アンドロステンジオンに転換する活性は持っていなかった。この結果は、過去にニールティラピアとメダカで示された結果と同様であった。*Cyp17a1* は卵黄形成完了卵濾胞で高い発現を示していたが、卵成熟の進行とともに低下し、排卵時にはほぼその発現は検出されないまでに低下した。*Cyp17a2* は卵黄形成完了卵濾胞である程度発現していたものが卵成熟の進行に伴い上昇し、排卵後卵巣で最高値を示した。

③ まとめ

ウナギにおいても CR/20β-HSD は全く 20β-HSD 活性を持たず、*Hsd17b12L* が 17OHP に対する強力な 20β-HSD 活性を持っていた。しかし、卵成熟前後において血中 DHP が急増する過程で、*Hsd17b12L* は著しい発現上昇をみせなかった。つまり、ウナギ最終成熟期の DHP 産生は *Hsd17b12L* 遺伝子の発現上昇によっては制御されていないということが強く示唆される結果となった。一方、この過程で *Cyp17a1* 発現は消失し、代わりに *Cyp17a2* 発現が上昇したことから、17OHP の産生がこのステージで初めて生じると考えられた。つまり、卵成熟期には特に *Cyp17a1* の発現消失により 17OHP 産生が始まり、常時存在する *Hsd17b12L* によって DHP に転換され、その結果、血中 DHP 量が上昇すると考えられた (図 4)。

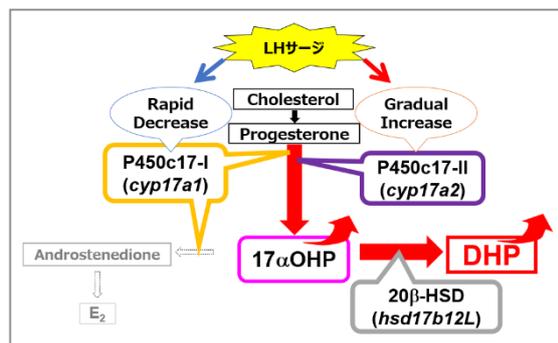


図 4. ウナギの DHP 産生機構

(3) アムールチョウザメ

① チョウザメ目の MIH

チョウザメ目では過去の卵濾胞培養実験から DHP と 17α,20β,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (20β-S) が同等の卵成熟誘起活性を示し、また、卵成熟前後における血中量変化も分かっていたために MIH は未同定のままであった。本研究では、卵成熟前から排卵前後にかけて血中の様々なステロイドを LC/MS/MS で同定し、それらの血中量的変化を詳細に調べた。その結果、卵成熟前と排卵後において、血中 DHP 量が著しく高まることが分かった。また、DHP は卵成熟・排卵誘導後 24 時間以降に高まること、20β-S は誘導後 48 時間以上経過した排卵時によく高まることが分かった。他の 7 種の C21 ステロイドは高まりを示さなかった。こ

のことから、チョウザメの MIH は DHP であることが強く示唆され、20β-S は DHP が産生された後の代謝経路にあるステロイドであると考えられた。

## ② Hsd17β12L

アムールチョウザメから Hsd17β12L 遺伝子をフルクローニングした。アムールチョウザメ Hsd17β12L をトランスフェクションした HEK293T 細胞は 17OHP を DHP に転換する強力な 20β-HSD 活性を示した。他の様々なステロイド基質に対しては代謝活性を示さなかったことから Hsd17β 活性は持たず、20β-HSD 活性のみを持つことが示された。

卵成熟誘導前に比べ、誘導後 24 時間で卵濾胞における Hsd17β12L 発現量は有意に上昇した。この上昇は血中 DHP 量の上昇と一致していたが、サクラマスで見られるほど発現量が高まる様子は見られなかった。つまり、Hsd17β12L 発現量のみで血中 DHP 量の上昇を説明するのは難しいと考えられた。

## ③ Cyp17a1, Cyp17a2, Hsd3b

卵成熟前後から排卵にかけての 17OHP 産生制御を調べるために、アムールチョウザメ Cyp17a1, Cyp17a2 に加え、プレグネノロンをプロゲステロンに転換する Hsd3b 遺伝子を全てフルクローニングし、それぞれに特徴的な酵素活性を確認した。その結果、卵成熟誘導後の卵濾胞において、24 時間で Cyp17a1 発現量は有意に低下し、Cyp17a2 は 7-8 時間で有意に上昇した。一方、Hsd3b では誘導後 7-8 時間で著しい発現上昇が見られた。

## ④ 卵濾胞培養実験

卵黄形成を完了した卵濾胞を SPE とともに培養すると、培養後、培養液中の DHP 量は高まった。この時の卵濾胞では Hsd3b および Hsd17β12L の発現量が有意に上昇した。Cyp17a1 発現量はやや低下し、Cyp17a2 は著しくはないものの有意に高まった。

## ⑤ まとめ

チョウザメでは卵黄形成完了後の卵濾胞で、LH の刺激によって Hsd3b の発現が著しく高まる。Hsd17β12L も発現誘導されるが、サクラマスやナイルティラピアで見られたような劇的な発現上昇ではない。Cyp17a1 の発現は緩やかに低下し、Cyp17a2 の発現は緩やかに上昇する。これによって、17OHP 産生も緩やかに上昇すると考えられ、Hsd17β12L の高まりも相乗的に作用して血中 DHP 量が増えるということが強く示唆された (図 5)。

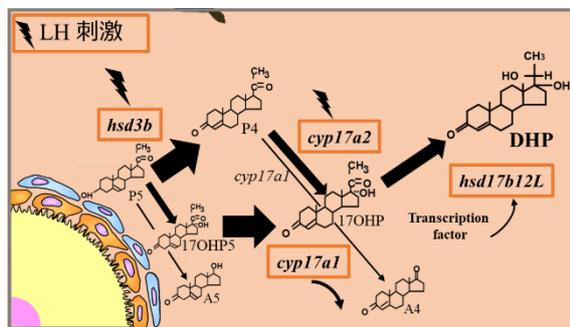


図 5. チョウザメの DHP 産生機構

## (3) 条鰭類の MIS 産生機構

本研究を始める前に既にサクラマス、メダカでは Hsd17β12L が卵成熟期に卵濾胞で DHP 産生を担う 20β-HSD であると結論していた。本研究ではサクラマス、メダカと同じ魚類進化の過程で比較的新しく現れた正真骨団に属するティラピアにおいても、進化の過程で古い位置の新頭上団に属するウナギにおいても、さらに条鰭類で最も古くから存在する軟質下綱に属するチョウザメにおいても、Hsd17β12L が卵成熟期に卵濾胞で DHP 産生を担う 20β-HSD であるという強い証拠が得られた。逆に、これまで考えられてきたように CR/20β-HSD が 20β-HSD であるという考えを完全に否定する結果となった。これら全ての種で、Hsd17β12L は調べたあらゆるステロイド基質に対して 17β-HSD 活性は示さず、Hsd17β12L を 20β-HSD と命名し直すことが妥当であると結論してもよい。

一方、DHP 産生機構に関しては多様性が存在している。正真骨団では、卵成熟直前に LH 刺激によって Hsd17β12L 発現が著しく高く誘導されることが DHP 産生の引き金となっていた。ウナギではこのような強い発現誘導は見られず、主に Cyp17a1 の発現消失による 17OHP 産生の誘導が DHP 産生の引き金となっている。最も古いチョウザメでは、これら中間の DHP 産生機構をもつようであった。つまり、LH 刺激によって 17OHP 産生が緩やかに高まり、同時に Hsd17β12L 発現もゆるやかに上昇することによって DHP 産生が誘起されるということが示唆される結果となった (図 6)。

LH サージが Hsd17β12L 発現を誘導する機構に関しても、これら魚種の間で多様性が見られている。ウナギでは LH 刺激が直接 Hsd17β12L 遺伝子のプロモーター活性を上昇させる。チョウザメ、メダカでは LH 刺激は直接その活性上昇には関わっていない。また、種々のステロイド代謝酵素遺伝子の転写活性化に関わる Sf-1/Ad4BP、Foxl2 も Hsd17β12L 遺伝子のプロモーター活性に何の影響も示さない。Hsd17β12L 遺伝子の転写調節機構を含めて、Cyp17a1, Cyp17a2 の転写調節機構を解明することで、LH サージから DHP 産生が誘起される分子調節機構の全貌があきらかとなるはずである。この点に関しては、本研究では結論できるまでには十分な証拠を得るには至らなかった。今後、E2 産生から DHP 産生へのステロイド代謝経路転換に関わる全てのステロイド代謝酵素の転写調節機構を明らかにすることで、卵母細胞への分化から卵成長、卵成熟へと発達を制御する脳下垂体ホルモン支配のメカニズムが理解されると考えている。

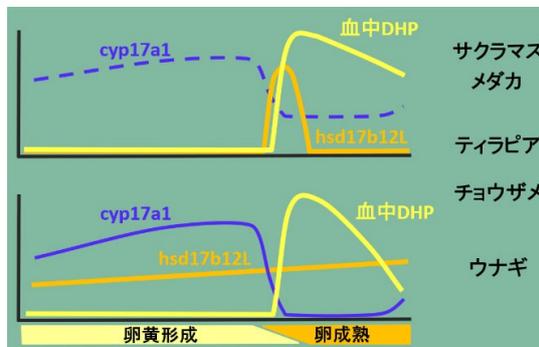


図 6. 条鰭類の DHP 産生機構

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Aranyakanont C., Ijiri S., Hasegawa Y., Adachi S.	4. 巻 290
2. 論文標題 17 -Hydroxysteroid dehydrogenase Type 12 is responsible for maturation-inducing steroid synthesis during oocyte maturation in Nile tilapia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 113399:pp1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygcen.2020.113399	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Y., Surugaya R., Adachi S., Ijiri S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Regulation of 17 alpha-Hydroxyprogesterone Production during Induced Oocyte Maturation and Ovulation in Amur Sturgeon (Acipenser schrenckii)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Marine Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 1-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jmse10010086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Y., Ijiri S., Surugaya R., Sakai R., Adachi S.	4. 巻 564
2. 論文標題 17 -hydroxysteroid dehydrogenase type 12-like is associated with maturation-inducing steroid synthesis during induced oocyte maturation and ovulation in sturgeons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Aquaculture	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.aquaculture.2021.737238	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 地村実咲・陳顧慧・伴戸久徳・笠井久会・井尻成保・足立伸次
2. 発表標題 GFP発現ウナギ腎臓由来EK1細胞はウナギ生体内で生存できるのか
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会北海道支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川祐也・駿河谷諒平・井尻成保・足立伸次
2. 発表標題 チョウザメ類におけるhsd17b12Lの酵素活性および発現動態の解析
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 陳顧慧・谷口祐介・伴戸久徳・笠井久会・井尻成保・足立伸次
2. 発表標題 バキュロウイルス遺伝子導入系を利用したGFP産生EK1細胞の作製
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aranyakanont, C., Ijiri S., Hasegawa, Y., Adachi, S.
2. 発表標題 17 $\alpha$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type 12 is responsible for maturation-inducing steroid synthesis during oocyte maturation in Nile tilapia
3. 学会等名 11th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中瀬英郁・堀内萌未・井尻成保
2. 発表標題 二ホンウナギcyp19a1a遺伝子のnr5a1、foxl2、FSHによる発現調節
3. 学会等名 日本水産学会秋期大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川祐也・井尻成保・駿河谷諒平・酒井隆一・足立伸次
2. 発表標題 アムールチョウザメ17 -水酸基脱水素酵素タイプ12-likeの酵素活性および卵成熟期における発現動態
3. 学会等名 日本水産学会秋期大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 荒井那允・田中桜花・井尻成保
2. 発表標題 ナイルティラピアGsdが性分化関連遺伝子の発現に与える影響
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	足立 伸次  (Adachi Shinji)  (40231930)	北海道大学・水産科学研究院・特任教授   (10101)	
研究 分担者	柴田 安司  (Shibata Yasushi)  (80446260)	帝京科学大学・生命環境学部・准教授   (33501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------