

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20370093

研究課題名（和文） 脊椎動物の性決定システム進化

研究課題名（英文） Evolution of sex-determining systems in vertebrates

研究代表者

伊藤 道彦 (ITO MICHHIKO)

北里大学・理学部・准教授

研究者番号：90240994

研究成果の概要（和文）：脊椎動物の性決定システムを比較解析し、考察として2つの新規進化仮説の提唱を行った。(1)脊椎動物の雌雄化の基本には、DMRT1 駆動型オス決定システムが存在するが、哺乳類進化過程で脱構築され、SRY-SOX9 駆動型に再構築された。(2)種分化過程では、性染色体の未分化あるいは分化状態によって、性決定遺伝子が変化あるいは固定化される傾向にある、という性決定遺伝子と性染色体の共進化仮説を提唱した。

研究成果の概要（英文）：We analyzed and discussed sex-determining systems during vertebrate evolution, proposing a hypothesis that there might be a basic male sex-determining system driven by DMRT1 in non-mammalian vertebrates and that it might be changed into a SRY-SOX9 male sex-determining system during mammalian evolution. We also proposed a coevolution model of sex-determining genes and sex chromosomes, in which undifferentiated sex chromosomes easily allow replacement of a sex-determining gene with another new one, while specialized sex chromosomes are restricted a particular sex-determining gene.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2011年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：進化発生生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：性決定遺伝子、脊椎動物、性染色体、生殖巣、遺伝子進化

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初の2008年度においては、脊椎動物の性決定遺伝子および性決定システムに関して、以下のことがわかっていた。

- (1) XX/XY型の性決定様式をもつ種では、性決定遺伝子として、Y染色体上に、哺乳類

(真獣類)で Sry が、魚類メダカで Dmy が、精巢形成カスケードの最上位遺伝子として機能する。

- (2) ZZ/ZW型の種では、性決定遺伝子は2008年以前には、同定されていなかったが、両生類アフリカツメガエルで、雌誘導性

の性決定遺伝子として雌ゲノム特異的 (W 染色体) 遺伝子 Dm-W が、我々の研究グループによって同定された (PNAS 2008)。

しかしながら、性決定遺伝子と性決定のシステムとの連関および共進化に関する報告は、ほぼ皆無であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脊椎動物の性決定システムを、各種脊椎動物種の性決定 (関連) 遺伝子、性染色体、および種分化、体制進化という観点から、分子進化的レベルで比較解析し、性決定・性分化におけるシステム進化を議論し、脊椎動物における新規の性システム進化仮説を提案する事である。

3. 研究の方法

(1) アフリカツメガエル性決定遺伝子産物 DM-W と DMRT1 による性決定機構を、以下の方法を用いて解析した。

- ① 性決定・性分化遺伝子の発現解析 (RT-PCR、in situ ハイブリダイゼーション等)
- ② トランスジェニック個体の作製、およびそれらの組織学的解析、遺伝子発現レベルの解析
- ③ in vitro DNA 結合性の解析、および培養細胞系にお転写活性化機能の解析

(2) DMRT1 あるいは SOX ファミリー遺伝子の分子進化解析を、MEGA 5 ツール等を用いた系統樹の作製および樹長解析によって行った。

4. 研究成果

(1) アフリカツメガエルの性決定システム

- ① 初期雌化 (卵巣形成) カスケード: 哺乳類、魚類で初期卵巣形成に関わる転写因子遺伝子 Foxl2 の発現解析を行ったところ、性決定後から遺伝的雌 (ZW) 生殖巣で遺伝的雄 (ZZ) に比べより高い発現が認められた。このことから、Foxl2 は、脊椎動物で初期卵巣形成に関わる機能が進化的に保存されていると考えられる。さらに、DM-W 発現トランスジェニック幼生では、ZZ 生殖巣で、Foxl2 だけでなくエストロゲン合成酵素アロマターゼ遺伝子 Cyp19 の上方制御が認められた (Okada et al. 2009 <雑誌論文⑤>)。

- ② 性決定モデル: DM-W ノックダウンあるいは DMRT1 発現トランスジェニック ZW 個体の生殖巣はいずれも精巣様構造を持っていた事、in vitro で DM-W と DMRT1 は同じ DNA 塩基配列に結合する事、培養細胞系で DM-W は DMRT1 の転写活性化能を抑制する事がわかった。これらから、ZZ 個体では DMRT1 が雄決定因子として下位の精巣形成遺伝子の発現を制御するのに対し、ZW 個体では DM-W が雄決定因子 DMRT1 の機能を阻害する雌決定因子として働くという、性決定モデルを提案した (Yoshimoto et al. 2010 <雑誌論

文③>)。言い換えれば、アフリカツメガエル Dm-W は、精巣形成遺伝子である Dmrt1 の優性不活性型のアンチ精巣遺伝子として ZZ/ZW 型性決定機構のために Dmrt1 から新たに誕生した新機能獲得 (neofunctionalization) 型の性決定遺伝子と考えられる。また、同様の視点から、メダカ Dmy は、XX/XY 型性決定機構のために Dmrt1 からプロモーターの進化を伴って新たに誕生した新機能獲得型の性決定遺伝子とも考えられる (伊藤・吉本 2009/Yoshimoto et al. 2010 <雑誌論文⑦、③>)。

- (2) 性 (オス) 決定システム進化仮説: 前述 (1) での DMRT1、DM-W の解析、それまでの性決定遺伝子の解析 (哺乳類マウス、ヒト Sry および魚類メダカ Dmy)、更に 2009 年 Nature に発表されたニワトリ雄決定に関わる Dmrt1 遺伝子の解析等から、図 1 に示すように、【脊椎動物では DMRT1 駆動型オス決定システムが根底に存在する】が、哺乳類進化過程で脱構築され、【SRY-SOX9 駆動型オス決定システムに再構築あるいは新構築された】とする性決定システム遷移仮説を提案した (伊藤 2009/Yoshimoto et al. 2010/Yoshimoto & Ito 2011 <雑誌論文⑥、③、②>)。

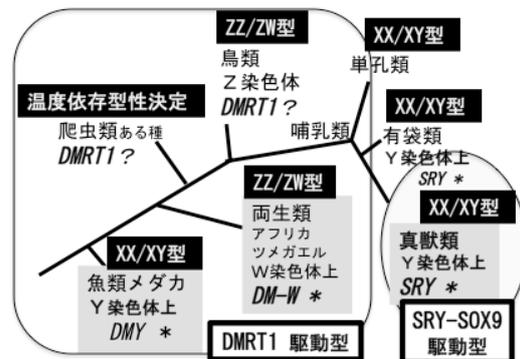


図 1. 脊椎動物の性 (オス) 決定システム進化 (仮説)

* 印 : Neofunctionalization (新機能獲得) 型遺伝子

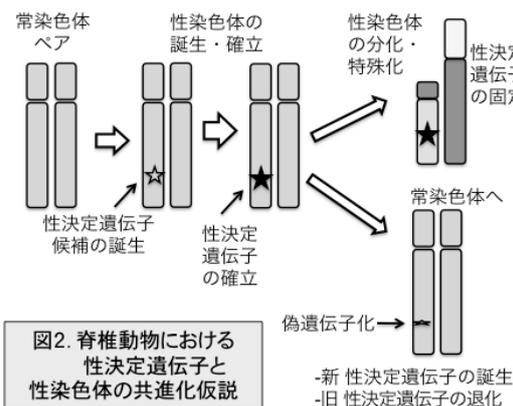
- (3) Sry 型 HMG box (Sox) ファミリー遺伝子の分子進化の解析

- ① 哺乳類 (真獣類・有袋類) の Y 染色体上の遺伝子 Sry (真獣類では性決定遺伝子) と同様に、Sox3 の重複進化で生じた Sox15 遺伝子は、真獣類進化過程で筋再生・胎盤形成のために新機能獲得 (neofunctionalization) された遺伝子である事、さらに Sox15 プロモーターと組織特異的発現は進化的に連関性がある事、を考察した (Ito 2010 <雑誌論文④>)

- ② Sry とそのプロトタイプ遺伝子 Sox3 の HMG box 内の塩基置換率を調べたところ、有意に Sry の置換率が高いことがわかった (Mawaribuchi et al. 2012 <雑誌論文①>)。

(4) Dmrt1 ホモログの分子進化の解析：性決定遺伝子のメダカ Dmy、アフリカツメガエル Dm-W とそのプロトタイプ遺伝子 Dmrt1 の DM ドメイン内の塩基置換率を調べたところ、(3)-(2)と同様に、有意に性決定遺伝子の置換率が高いことがわかった(Mawaribuchi et al. 2012 <雑誌論文①>)。

(5) 性決定遺伝子と性染色体の共進化：最近、カナダの研究グループによって、Dm-W 遺伝子は、ツメガエル属での種分化過程で誕生した遺伝子であることが明らかになった (Bewick et al. 2011)。ツメガエル属で染色体は、通常の染色法では形態的に雌雄に差を見分ける事が困難で、現在までのところアフリカツメガエル以外は性染色体が同定できていない (Dm-W が存在する種ではその FISH 解析を行えば性染色体は同定可能)。また、メダカとその近縁種でも、性決定遺伝子と性染色体に関して同様なことがいえる。すなわち、このような動物種では、性染色体はほぼ未分化で、性決定遺伝子を保持する機能だけに限定される可能性が高い。一方、哺乳類では、性染色体の分化が特徴的となり、性染色体は性決定遺伝子を運ぶ以外に独自の機能をもつことになる。すなわち、特殊化した性染色体は、大規模な組換え等が無い限り、常染色体に戻る事は困難である。以上から、性染色体の未分化な種分化では、性決定遺伝子は変化する可能性が十分あるが、性染色体が分化して独自の機能を持つと性決定遺伝子は種分化においても変わらず固定される傾向にある、という性決定遺伝子と性染色体の共進化仮説を発表した(Mawaribuchi et al. 2012 <雑誌論文①>)、図 2 参照)。



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 11 件)

① Mawaribuchi, S., Yoshimoto, S., Ohashi, S., Takamatsu, N. and Ito, M. Molecular

evolution of vertebrate sex-determining genes. Chromosome Res. 20, 139-151, 2012. (査読有) DOI:10.1007/s10577-01109265-9

② Yoshimoto, S., and Ito, M. A ZZ/ZW-type sex determination in *Xenopus laevis*. FEBS J. 278, 1020-1026, 2011. (査読有) DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08031

③ Yoshimoto, S., Ikeda, N., Izutsu, Y., Shiba, T., Takamatsu, N. and Ito, M. Opposite roles of DMRT1 and its W-linked paralogue, DM-W, in sexual dimorphism of *Xenopus laevis*: Implications of a ZZ/ZW-type sex-determining system. Development 137, 2519-2526, 2010. (査読有) DOI: 10.1242/dev.048751

④ Ito, M. Function and molecular evolution of mammalian Sox15, a singleton in the SoxG group of transcription factors. Int. J. Biochem. Cell Biol. 42, 449-452, 2010. (査読有) DOI: 10.1016/j.biocel.2009.10.023

⑤ Okada, E., Yoshimoto, S., Ikeda, N., Kanda, H., Tamura, K., Shiba, T., Takamatsu, N., Ito, M. *Xenopus* W-linked DM-W induces Foxl2 and Cyp19 expression during ovary formation. Sex. Dev. 3, 38-42 2009. (査読有) DOI: 10.1159/00020080

⑥ 伊藤道彦. アフリカツメガエルの ZZ/ZW 型性決定の分子機構-性決定システム進化-比較内分泌学 35 (134), 165-174, 2009. (査読無) https://www.istage.ist.go.jp/article/nl2008isce/35/134/35_134_165/article/-char/ja/

⑦ 伊藤道彦, 吉本真. アフリカツメガエルの性決定遺伝子 DM-W-脊椎動物初の♀決定遺伝子. 生物の科学<遺伝> 63, 38-43, 2009. (査読無) <http://ci.nii.ac.jp/naid/40016416603>

[学会発表] (計 17 件)

① <招待講演> Ito, M., Yoshimoto, S., Mawaribuchi, S., Ikeda, N., Fujitani, K., Tamura, K., and Takamatsu, N. Opposite roles of DMRT1 and its W-linked paralogue, DM-W, in the ZZ/ZW-type sex-determination in *Xenopus laevis*. NASCE, 2011, 7. Ann Arbor (USA).

② Ito, M., Yoshimoto, S., Mawaribuchi, S., Ikeda, N., Takamatsu, N. Evolution of DMRT1-driven male sex-determining system. Society of Molecular Biology and Evolution. 2010, 7. Lyon (France)

③ <招待講演> 伊藤道彦. アフリカツメガエル W リンクの性 (♀) 決定遺伝子 DM-W

第80回日本動学会大会 2009年9月. 静岡.

- ④ <招待講演> Ito, M., Yoshimoto, S., Takamatsu, N. A W-linked gene DM-W could induce female sex as a sex (ovary)-determining gene in *Xenopus laevis* that has the ZZ/ZW-type sex-determining system. The 16th International Congress of Comparative Endocrinology. 2009, 6. Hong Kong.
- ⑤ Ito, M., Yoshimoto, S., Takamatsu, N. A W-linked gene DM-W could determine female development as a sex (ovary)-determining gene in *Xenopus laevis*: Implications for the ZZ/ZW-type sex determining system. Fifth International Symposium on the biology of vertebrate sex determination. 2009, 4. Hawaii (USA).
- ⑥ <招待講演> Ito, M. A W-linked DM-W is a likely sex (ovary)-determining gene in *Xenopus laevis*: Implications for the ZZ/ZW-type sex-determining system. International Symposium for Gonad and Brain Sex Differentiation. 2008, 9. Fukuoka.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 道彦 (ITO MICHIIKO)

北里大学・理学部・准教授

研究者番号 : 90240994

(2) 研究分担者

田村 啓 (TAMURA KEI)

北里大学・理学部・助教

研究者番号 : 50458767