

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25292124

研究課題名(和文) オスとメスの違いを生み出す魚類の脳内メカニズムの解明

研究課題名(英文) Brain mechanisms underlying differences between male and female teleosts

研究代表者

大久保 範聡 (Okubo, Kataaki)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：10370131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,900,000円

研究成果の概要(和文)：魚類においては、攻撃性や繁殖行動、成長や性成熟、ストレス応答などの形質に顕著な雌雄差が認められる。しかし、これらの性差が、魚類の脳内に存在するどのようなメカニズムによって生じているのかについては、明らかとなっていない。本研究の結果、脳内で発現し、ストレス応答に深く関わることが予想される魚類特有の新規遺伝子、テレオコルチンが発見されたとともに、グルココルチコイド受容体の一種が行動の性差に深く関わることを推察された。

研究成果の概要(英文)：Teleost fish exhibit marked sex differences in a wide range of traits, including aggressive and reproductive behavior, growth, sexual maturation, and stress response. However, it remains to be elucidated what mechanisms in the teleost brain underlie these sex differences. In the present study, we have identified a novel teleost-specific gene that is expressed in the brain and presumably involved in stress response, and named it teleocortin. We have also provided the evidence that glucocorticoid receptor 1 expressed in the preoptic area most likely plays an important role in behavioral sex differences.

研究分野：水圏生命科学

キーワード：水産学 生理学 神経科学

1. 研究開始当初の背景

魚類においては、攻撃性や繁殖行動、成長や性成熟、ストレス耐性などの形質が、効率的な養殖の可否や商品価値の高さに直結する。興味深いことに、これらの形質には顕著な雌雄差が認められる。例えば、多くの魚種ではオスの方が圧倒的に高い攻撃性を示す他、成長や性成熟のスピードが雌雄で大きく異なっている。こうした形質のオス・メスの違いの多くは、脳内に存在する何らかの雌雄差に起因すると考えられる。しかし、魚類の脳にどのような雌雄差が存在し、それがどのような形質の雌雄差をもたらすのかについては、国内外を通して研究がほとんどなく、全くのブラックボックスであった。

そこで、我々はこれまで、魚類の形質の雌雄差を生み出す脳内メカニズムを明らかにし、その成果を水産業に応用する基礎を築くことを目標に掲げ、メダカ(*Oryzias latipes*)をモデルに用いて研究に取り組んできた。その過程で、メダカの脳内で発現に雌雄差を示す遺伝子群の網羅的スクリーニングを行い、新規遺伝子や機能が未知な遺伝子を含め、脳でオス・メス特異的に発現する遺伝子群(以下、性特異的遺伝子群とよぶ)を単離・同定してきた。

同定された性特異的遺伝子群の中には、繁殖行動や成長、性成熟などの形質の雌雄差を理解する上で、重要な鍵となることが推測される数種の遺伝子が含まれていた。それらの遺伝子の発現制御や機能、作用機序を明らかにすることによって、形質に見られる雌雄差と、脳内に存在する雌雄差を結び付けて理解することができると考えられた。

2. 研究の目的

そこで本研究では、メダカを用いて性特異的遺伝子群に着目した解析を行うことで、水産増養殖の可否や商品価値の高さを左右し、顕著な雌雄差を示す魚類の形質が、どのような脳内メカニズムによって生み出されているのかを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

TALEN 法を用いて、いくつかの性特異的遺伝子のノックアウトメダカを作出し、系統化した後、表現型解析を試みた。また、性特異的遺伝子の機能を解析するためのツールとして、それらの遺伝子を、本来は発現していない性の脳でも強制的に発現させたトランスジェニックメダカを作出することを目指して、それらの遺伝子が発現している細胞と同じ細胞で雌雄共通、あるいは逆の性で高い発現を示す遺伝子を同定することを試みた。

4. 研究成果

本研究で得られた主要な成果のうち、ある程度まとまった形になるまで解析が進んだものを以下の(1)(2)に、それ以外の予備的な成果を(3)に記した。

(1) 性特異的遺伝子の一種コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)に類似した新規遺伝子の発見

脳内の発現に雌雄差を示し、ストレス耐性に関わる CRH ファミリーペプチドに属する新規の遺伝子、テレオコルチン(TCN; teleocortin)を発見し、その発現と生化学的特性を解析した結果を論文にまとめた。TCN は終脳、視索前野、視床下部、中脳被蓋、延髄の神経核で発現しており、いずれの神経核においても、TCN を発現するニューロンの大半は CRH も共発現していることが明らかとなった。また、これらの神経核中のニューロンは下垂体に投射していないと考えられていることから、TCN は下垂体-間腎腺軸の制御には直接関与せず、それ以外の役割を有すると考えられた。TCN は CRH と同等か、それよりもわずかに高い程度に CRH 受容体を活性化することも明らかとなった(図1)。TCN は発現部位も受容体の活性化能も CRH と類似していることから、TCN は CRH と共通の生理的役割を担っていると考えられた。

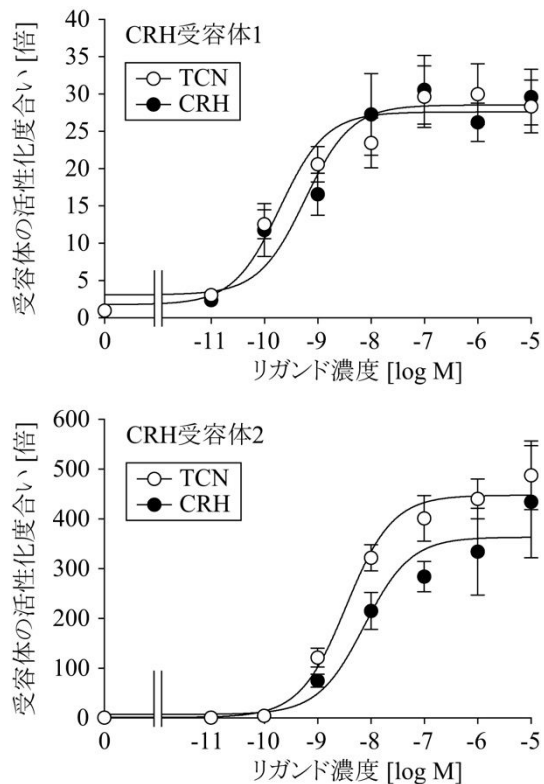


図1. TCN と CRH の CRH 受容体活性化能の比較。メダカの TCN がメダカの CRH 受容体 1 と CRH 受容体 2 をどの程度活性化するかを、メダカの CRH と比較した。上のグラフは CRH 受容体 1 での結果を、下のグラフは CRH 受容体 2 での結果を示す。白のドットが TCN、黒のドットが CRH を示す。グラフの縦軸は、受容体の活性化度合いを、リガンド濃度が 0 の時の値を 1 とした相対値で示し、横軸はリガンド濃度を示す。

(2) 性特異的遺伝子の一種グルココルチコイド受容体 GR1 の発現解析

メダカの脳におけるグルココルチコイド受容体の一種(GR1; glucocorticoid receptor 1) の発現の雌雄差に関する研究成果を論文にまとめた。GR1 は視索前野と視床下部の神経核でメスで高い発現を示すこと、さらには攻撃性や繁殖行動に関わるとされる視索前野のバソトシンニューロンとゴナドトロピン放出ホルモン1ニューロンにおける GR1 の発現は、メスの方が高いことが明らかとなった(図2)。また、代表的なグルココルチコイド種であるコルチゾルの個体あたりの量はオスよりもメスの方が高いことが明らかとなった。グルココルチコイド-GR1 シグナルのメスに偏った性差が、これらのニューロンを介して、ストレスが攻撃性や繁殖行動の制御機構に及ぼす影響に性差をもたらしている可能性が示唆された。

視索前野(PPa領域)のバソトシンニューロン
視索前野(PPa領域)のゴナドトロピン放出ホルモンニューロン

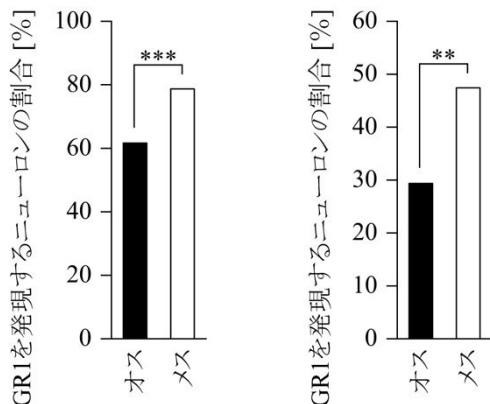


図2. 視索前野のバソトシンニューロンとゴナドトロピン放出ホルモン1ニューロンにおける GR1 の発現の雌雄差。視索前野の PPa とよばれる領域に存在する両ニューロンで、GR1 を発現するニューロンの割合を調べた。左のグラフはバソトシンニューロンでの結果を、右のグラフはゴナドトロピン放出ホルモン1ニューロンでの結果を示す。黒のカラムはオス、白のカラムはメスを示す。有意差 (**は 1%水準、***は 0.1%水準) をアスタリスクで示した。

(3) 性特異的遺伝子群のノックアウトメダカの表現型解析

まだ予備的なデータではあるが、いくつかの性特異的遺伝子のノックアウトメダカの表現型解析から、それらの遺伝子が水産増養殖の可否や商品価値の高さを左右することを示唆するデータを得ることができた。

また、性特異的遺伝子群が発現している細胞と同じ細胞で雌雄共通に発現している遺伝子の候補を得ることができた。

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4件)

Yukiko Kikuchi, Kohei Hosono, Junpei Yamashita, Yukika Kawabata, Kataaki Okubo (2015) Glucocorticoid receptor exhibits sexually dimorphic expression in the medaka brain. *General and Comparative Endocrinology* 223: 47-53 (査読あり) DOI: 10.1016/j.ygcen.2015.09.031

Kohei Hosono, Yukiko Kikuchi, Hiroshi Miyanishi, Towako Hiraki-Kajiyama, Akio Takeuchi, Kiyoshi Nakasone, Sayaka Maehiro, Kataaki Okubo (2015) Teleocortin: a novel member of the corticotropin-releasing hormone family in teleost fish. *Endocrinology* 156: 2949-2957 (査読あり) DOI: 10.1210/en.2015-1042

Towako Hiraki, Kiyoshi Nakasone, Kohei Hosono, Yukika Kawabata, Yoshitaka Nagahama, Kataaki Okubo (2014) Neuropeptide B is female-specifically expressed in the telencephalic and preoptic nuclei of the medaka brain. *Endocrinology* 155: 1021-1032 (査読あり) DOI: 10.1210/en.2013-1806

Akio Takeuchi, Kataaki Okubo (2013) Post-proliferative immature radial glial cells female-specifically express aromatase in the medaka optic tectum. *PLoS One* 8: e73663 (査読あり) DOI: 10.1371/journal.pone.0073663

[学会発表](計9件)

Kataaki Okubo (September 17-19, 2015) Steroid hormones and sexual plasticity of the brain. 日本動物学会第86回大会(シンポジウム「What is the next target for research in comparative endocrinology?」), 新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

菊池結貴子, 太久保範聡 (2015年3月27-31日) メダカの脳におけるグルココルチコイド受容体: 発現の性差と行動・神経内分泌関連遺伝子との共発現. 平成27年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学品川キャンパス(東京都・港区)

川幡由希香, 菊池結貴子, 太久保範聡 (2015年3月27-31日) メダカの下垂体におけるトリプトファン水酸化酵素遺伝子の性差と発現制御機構. 平成27年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学品川キャンパス(東京都・港区)

Kiyoshi Nakasone, Junpei Yamashita, Kataaki Okubo (May 26-30, 2014) Estrogen produced by the ovary stimulates the meninges to express a

novel heme-binding protein gene, hebp3, in a female-biased manner in medaka. 10th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Olhao (Portugal)

大久保範聡 (2013年11月24-26日) 魚類の脳の性成熟機構に関する研究. 平成25年度(第12回)日本農学進歩賞受賞者講演会, 東京大学本郷キャンパス(東京都・文京区)(招待講演)

大久保範聡 (2013年10月24-26日) 魚類の脳における性分化. 第38回日本比較内分泌学会大会・第40回日本神経内分泌学会学術集会(シンポジウム「比較生物学からみた性」), 宮崎市民プラザ(宮崎県・宮崎市)

横山圭子, 大久保範聡 (2013年10月24-26日) メダカの脳内でメスのみに存在する性ステロイド受容性ニューロンの性的可逆性. 第38回日本比較内分泌学会大会・第40回日本神経内分泌学会学術集会, 宮崎市民プラザ(宮崎県・宮崎市)

外川理絵, 大久保範聡 (2013年10月25日) メダカの脳内で発現に性差を示す遺伝子のノックアウトメダカの作出. 第38回日本比較内分泌学会大会・第40回日本神経内分泌学会学術集会, 宮崎市民プラザ(宮崎県・宮崎市)

山下純平, 大久保範聡 (2013年10月25日) メダカの脳におけるメス特異的な性ステロイド受容体の発現は性成熟オスでも誘導される. 第38回日本比較内分泌学会大会・第40回日本神経内分泌学会学術集会, 宮崎市民プラザ(宮崎県・宮崎市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大久保 範聡 (OKUBO, Kataaki)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 10370131

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

該当なし