

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06738

研究課題名(和文) 真骨魚の配偶子輸送管はどこから出来たのか？

研究課題名(英文) WHERE DID GAMETE DUCTS OF TELEOSTS COME FROM?

研究代表者

金森 章 (KANAMORI, AKIRA)

名古屋大学・理学研究科・講師

研究者番号：40324389

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ほとんどの脊椎動物で輸卵管はミュラー管、輸精管はウォルフ管に由来するが、真骨魚では両者ともに生殖巣内部に新しく管を形成している。ドラスティックに見えるが、ミュラー管の変形にすぎないのだろうか？

哺乳類ミュラー管形成に必須な遺伝子の一つ、wnt4に着目し、メダカのwnt4ホモログ、wnt4a変異体の表現型を観察した。wnt4a変異体ではオスメス共に生殖巣後半につながる伸長部が体腔内に留まり、野生型では膀胱の腹側で伸長する配偶子輸送管が全く形成されなかった。このことは真骨魚が哺乳類との共通祖先で存在していたミュラー管形成の遺伝子ネットワークを利用し独自の配偶子輸送管を進化させた可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進化の過程ではドラスティックな形態の変化が多々見られるが、注意深く調べて行くとそれまでの遺伝子ネットワークを巧妙に利用していることがわかることもある。本研究では真骨魚(teleost)にのみ見られる配偶子輸送管の形成に、他の脊椎動物のミュラー管の形成過程で重要なwnt4が関わっていることを明らかにし、新しい形態形成機構の進化機構に重要な知見を得たといえる。

研究成果の概要(英文)：In most vertebrates, oviducts are derived from Mullerian ducts, and sperm ducts are derived from Wolffian ducts. However, in teleosts, genital ducts are formed within the gonads. Even with their drastic differences in morphology, could teleost genital ducts be simply transformed Mullerian ducts?

Wnt4 is one of the essential genes for Mullerian duct formation in mammals. Therefore, we examined phenotypes of two wnt4 homologs, wnt4a and 4b mutants, in medaka. In wnt4a mutants, the posterior region of the gonads stopped elongation and remained within the coelom in both males and females; there were no genital ducts, which, in wildtype, elongate on ventral side of the urinary bladder, did not form. The results suggest possibility that teleosts have evolved unique genital ducts utilizing the genetic network involved in Mullerian duct formation present in common ancestors between teleosts and mammals.

研究分野：発生生物学 進化生物学 生殖生物学 遺伝学

キーワード：ミュラー管 ウォルフ管 真骨魚 全ゲノム倍化 配偶子輸送管 体腔上皮 WNT wnt4

1. 研究開始当初の背景

一般に、脊椎動物の配偶子を体外に輸送する管(オスの輸精管とメスの輸卵管、本研究では両者の総称として配偶子輸送管と呼ぶ)は、オスメスの違いができる(性分化)前から存在するミュラー管とウォルフ管に由来する(図1;)。性分化にともない、メスではウォルフ管が壊れ、ミュラー管が発達し輸卵管、子宮などに分化する。一方、オスではミュラー管が壊れ、ウォルフ管が発達し輸精管、精巣上体などに分化する。この過程は、軟骨魚以降に分岐したすべての脊椎動物でおおよそ共通である(図2)。ところが硬骨魚の仲間の真骨魚 (teleosts) では発生がまったく異なっているように見える。ミュラー管が発生せず、またウォルフ管と精巣の連絡も起きない。多くの真骨魚では、オスでもメスでも配偶子輸送管は巢の内部に形成される(図3)。

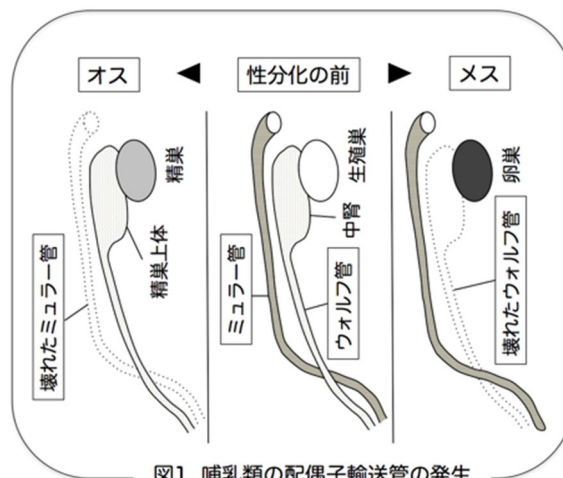


図1. 哺乳類の配偶子輸送管の発生

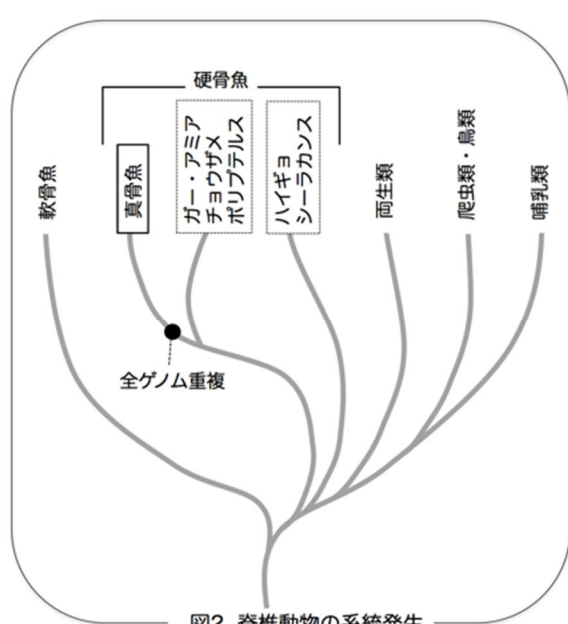


図2. 脊椎動物の系統発生

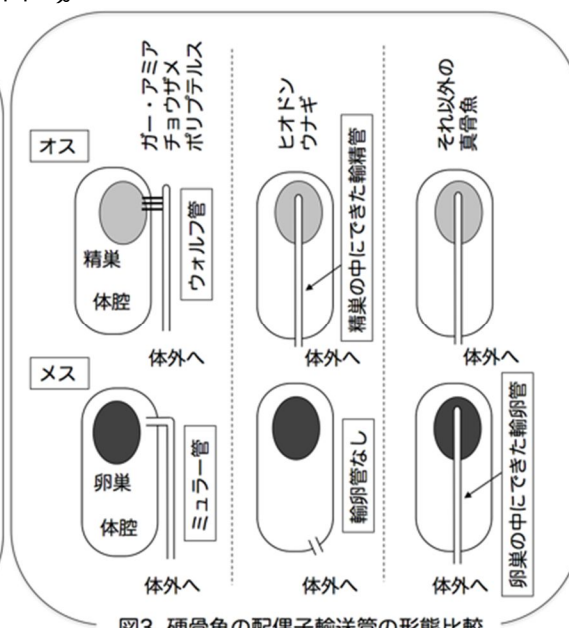


図3. 硬骨魚の配偶子輸送管の形態比較

2. 研究の目的

真骨魚に起こった体の作りの変化として最も顕著なものの一つに、配偶子輸送管(輸精管と輸卵管)がまったく新しく作り直されているように見えることがある。真骨魚以外の脊椎動物では輸卵管はミュラー管、輸精管はウォルフ管という、生殖巣の外に形成された管由来だが、真骨魚では両者ともに生殖巣内部に新しく管を形成している。配偶子を体外に出さねば、受精できず子孫は途絶え絶滅するのみである。真骨魚はどのようにして、このドラスティックな形態形成の変化を進化させることが出来たのだろうか? それともドラスティックに見えて、よく調べればミュラー管やウォルフ管の変形にすぎないのだろうか? 本研究はこの2つの仮説のどちらが正しいのかを問う。

3. 研究の方法

ミュラー管形成に必須な遺伝子は哺乳類で多く同定されている (Mullen and Behringer, 2014)。興味深いことにそのほとんどはミュラー管とウォルフ管の両方で発現している。ミュラー管特異的に発現する遺伝子のひとつ、wnt4 に着目し、メダカで2つの wnt4 ホモログ、wnt4a と 4b 変異体を CRSPR/cas9 (Ansai and Kinoshita, 2014; Murakami et al., 2017)により作出し、それらの表現型を観察した。

4. 研究成果

(1) すでに報告されているように (Kossack et al., 2019) 脊椎動物には wnt4a と wnt4b、二つの wnt4 遺伝子を持つが、哺乳類を含むいくつかの動物群では wnt4b を欠失している。哺乳類 wnt4 はメダカ wnt4a の ortholog、wnt4b は paralog である。メダカ wnt4b 変異体は、すでに報告されている自然変異体 (Inohaya et al., 2010) と同様に短い体を持つが、稔性があり、配偶子輸送管は正常であった。

(2) 一方 *wnt4a* 変異体ではアリルにより少しの違いはあるが、野生型では膀胱の腹側に伸長する配偶子輸送管が体腔内出伸長を停止していた。(図4)メスでは卵巢腔後部、オスでは輸精管原基までは形成されている。

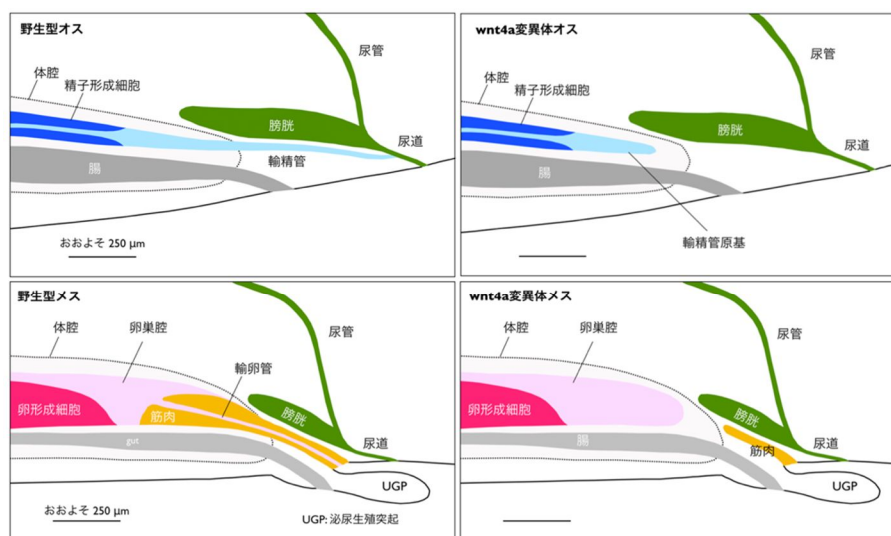


図4 メダカ泌尿生殖系の模式図と*wnt4a*変異の影響

(3) *androgen* と *estrogen* を合成できないメダカ *scl* 変異体 (Sato et al., 2008) では、卵巢様の生殖巣を持つが、メスの卵巢腔後部、オスの輸精管原基が形成されず、配偶子輸送管は全くできていない。

(4) また *in situ hybridization* で雌雄ともに配偶子輸送管の腹側間充織に発現が認められた。

(5) これらの結果はゼブラフィッシュの *wnt4a* 変異体の表現型と酷似している (Kossack et al., 2019)。以上からメダカやゼブラフィッシュでは配偶子輸送管の腹側間充織に発現する *wnt4* がなんらかの経路で体腔内のメスの卵巢腔後部、オスの輸精管原基の後方への伸長を制御していると考えられる。このことは真骨魚が、哺乳類との共通祖先で存在していたミューラー管形成の遺伝子ネットワークを利用し独自の配偶子輸送管を進化させた可能性を示唆する。

(6) 哺乳類では *wnt4* の変異により卵巢から精巣への部分的性転換が起きる (Vainio et al., 1999; Bernard and Harley, 2007; Nicol and Yao, 2014)。またゼブラフィッシュでも *wnt4a* の変異により、オスの割合が増えることが報告された (Kossack et al., 2019)。一方本研究では、*wnt4a*、*wnt4b* の単独変異体と *wnt4a*、*wnt4b* の二重変異全てで性転換は見られなかった。メダカの性は遺伝的に決まる (Aida, 1921; Matsuda et al., 2002) が、ゼブラフィッシュでは環境によって決まる (Kossack and Draper, 2019)。このことが両者の *wnt4a* 変異に対する性転換の違いに関係するのだろうか？

引用文献

Aida T (1921) On the Inheritance of Color in a Fresh-Water Fish, *Aplocheilichthys latipes* Temmick and Schlegel, with Special Reference to Sex-Linked Inheritance. *Genetics* 6: 554-73

Ansai S, Kinoshita M (2014) Targeted mutagenesis using CRISPR/Cas system in medaka. *Biol Open* 3: 362-371

Bernard P, Harley VR (2007) *Wnt4* action in gonadal development and sex determination. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 31-43

Inohaya K, Takano Y, Kudo A (2010) Production of *Wnt4b* by floor plate cells is essential for the segmental patterning of the vertebral column in medaka. *Development* 137:1807-1813

Kossack ME, Draper BW (2019) Genetic regulation of sex determination and maintenance in zebrafish (*Danio rerio*). *Curr Top Dev Biol* 134: 119-149

Kossack ME, High SK, Hopton RE, Yan Y, Postlethwait JH, Draper BW (2019) Female sex

development and reproductive duct formation depend on Wnt4a in zebrafish. *Genetics* 211: 219-233

Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, Sato T, Matsuda C, Kobayashi T, et al. (2002) DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature* 417: 559-563

Mullen RD, Behringer RR (2014) Molecular Genetics of Müllerian Duct Formation, Regression and Differentiation. *Sex Dev* 8: 281-296

Murakami Y, Ansai S, Yonemura A, Kinoshita M (2017) An efficient system for homology-dependent targeted gene integration in medaka (*Oryzias latipes*). *Zoological Lett* 3: 10

Nicol B, Yao, HH (2014) Building an ovary: insights into establishment of somatic cell lineages in the mouse. *Sex Dev* 8: 243-51

Romer AS, Parsons TS (1977) *The Vertebrate Body*, 5th Edition, W. B. Saunders Co., Philadelphia

Sato T, Suzuki A, Shibata N, Sakaizumi M, Hamaguchi S (2008) The novel mutant *sc1* of the medaka fish, *Oryzias latipes*, shows no secondary sex characters. *Zool Sci* 25: 299-306

Vainio S, Heikkilä M, Kispert A, Chin N, McMahon AP (1999) Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature* 397: 405-409

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Akira Kanamori, Ryota Kitani, Atsuko Oota, Koudai Hirano, Taijun Myosho, Tohru Kobayashi, Kouichi Kawamura, Naoyuki Kato, Satoshi Ansai, Masato Kinoshita	4. 巻 2023
2. 論文標題 Wnt4a is indispensable for genital duct elongation but not for gonadal sex differentiation in the medaka <i>Oryzias latipes</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2023.05.26.542371	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 金森 章, 太田 敦子, 平野 広大, 木谷 亮太, 安齋 賢, 木下 政人
2. 発表標題 メダカwnt4a は雌雄の配偶子輸送管形成に不可欠である
3. 学会等名 日本動物学会 第93回 早稲田大会 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akira Kanamori, Atsuko Oota, Koudai Hirano, Ryota Kitani, Satoshi Ansai, and Masato Kinoshita
2. 発表標題 Roles of WNT4 genes in genital duct formation and gonadal sex differentiation in medaka
3. 学会等名 9th International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金森 章
2. 発表標題 真骨魚の配偶子輸送管は一体なんなのか？
3. 学会等名 第14回Dmy研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平野 広大
2. 発表標題 メダカ配偶子輸送管形成におけるWNT4の役割
3. 学会等名 第14回Dmy研究会
4. 発表年 2020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	木下 政人 (Masato Kinoshita) (60263125)	京都大学・農学研究科・准教授 (14301)	

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
---------	---------