

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21880017

研究課題名（和文） 魚類の性差を生み出す脳内メカニズムの解明

研究課題名（英文） Mechanisms in the teleost brain for generating sex differences

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

研究成果の概要（和文）：魚類の性差を生み出す脳内メカニズムを明らかにするため、メダカの脳において性特異的に発現する遺伝子の機能解析を行った。遺伝子産物の他、アンタゴニストや特異抗体の投与による行動の変化を解析し、着目した遺伝子のうちのいくつかが性特異的な行動に関与するという予備的データを得ることができた。ただ、確定的なデータを得るまでには至っていない。また、着目した遺伝子のいくつかについて、その転写産物と翻訳産物の脳内での局在を調べる実験に着手した。

研究成果の概要（英文）：We examined the function of several genes that show sexually dimorphic expression patterns in the medaka brain in order to understand the mechanisms in the teleost brain for generating sex differences. Medaka were treated with the antagonists and specific antibodies for the sexually dimorphic genes, as well as their translational products, and subjected to behavioral analyses. Preliminary data suggest that some of these genes may be involved in sex-specific behavioral patterns, although further evidence is still needed. We also began to examine the localization of the transcripts and translational products in the brain for some of the sexually dimorphic genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,150,000	345,000	1,495,000
2010年度	811,110	243,333	1,054,443
年度			
年度			
年度			
総計	1,961,110	588,333	2,549,443

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学一般

キーワード：性差、メダカ、脳、魚類、遺伝子発現

## 1. 研究開始当初の背景

哺乳類では、出生前後の時期に脳がどちらか一方の性に機能的な分化をする。それにより、分化した方の性に応じた性行動、および内分泌パターン（生殖内分泌パターンやストレス応答パターン）が発現するようになる。そして通常、オス・メスそれぞれの性行動や

内分泌パターンが、その生活史において逆転することはない。

一方、魚類においても、性行動や内分泌パターンに顕著な性差が認められるが、哺乳類とは異なり、性成熟後も性ホルモン処理によって、異性の性行動が誘導されることが知られている。さらには、自然条件下で性転

換を起こす魚種も少なくない。このことは、魚類の性行動や内分泌パターンの性差は、哺乳類とは明らかに異なるメカニズムによって規定されていることを意味している。しかし、その分子実体に関する研究は、国内外を通してほとんどなく、全くのブラックボックスであった。それどころか、そもそも魚類の脳には、どのような形態学的・分子的な性差が存在するのかさえはつきりしていなかった。

そこで、私はこれまで、魚類の脳機能の性差を理解するために、メダカをモデルに用いて研究に取り組んできた。メダカは性決定遺伝子が同定されている唯一の魚種であるとともに、古くからの研究により、生殖生理に関する情報が多く蓄積されている。また、性や性成熟を環境条件によって容易にコントロールすることが可能であり、性研究のモデルとして、数多くの利点を備えている。また、近年のモデル動物としての基盤整備のおかげで、トランスジェニック技術、ノックアウト技術等が可能になっている他、精度の高いゲノムデータベースや各種の近交系や変異体、BAC や cDNA クローンも利用可能となっている。

これまでに、メダカの脳内で発現に性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、脳で性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、魚類の脳機能の性差を理解する上で、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。それらの遺伝子の機能と制御機構を解析することによって、魚類の性行動や内分泌システム（生殖内分泌システムやストレス応答システムなど）に見られるような性差が、どのような脳内メカニズムに起因するのかを明らかにすることが可能であると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、メダカの脳内から同定された性特異的遺伝子群に着目し、それらの機能および作用機序を解析することで、魚類の脳機能の性差を生み出す分子・神経基盤を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 性特異的遺伝子群の機能解析

メダカの脳から同定した性特異的遺伝子群の中には、魚類の脳機能の性差を理解する上で、特に重要な鍵となることが推測される遺伝子がいくつか含まれていた。そこで、それらの遺伝子が、どのような脳機能の性差に寄与しているのかを明らかにする（性行動や内分泌システムに見られる性差を生み出す

脳内遺伝子を特定する）ことを目指した。

具体的には、性特異的遺伝子のいくつかについて、特異抗体を作製し、個体に投与し、その際の表現型を解析した。また、分泌性タンパク質をコードする遺伝子については、合成ペプチドを作製することが可能であったため、合成ペプチドを投与することで、どのような表現型が得られるかを検証した。さらに、アンタゴニストが入手可能な遺伝子については、アンタゴニストの投与も行い、表現型を解析した。表現型の解析には、主としてビデオによる行動観察を用いた。そして、それらのデータを総合し、性特異的遺伝子群の機能を把握することを試みた。

### (2) 性特異的遺伝子群の作用機序解析

性特異的遺伝子群の作用機序を明らかにする目的で、それらの遺伝子の転写産物および翻訳産物のメダカ脳内での局在を調べた。それにより、それらの遺伝子が脳内のどこで発現し、どこで機能するのかを明らかにすることを目指した。

転写産物の局在を調べることを目的として *in situ hybridization* 解析を、翻訳産物の局在を調べることを目的として免疫組織化学解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 性特異的遺伝子群の機能解析

性特異的遺伝子群の中で、メスで特異的に発現する遺伝子として同定された *female-predominant gene 1* (FPG1) について投与実験を行った。

その結果、FPG1 を投与したメスの行動に変化は見られなかったが、FPG1 を投与したオスが、他個体のオスから求愛行動（追尾および求愛円舞）を受ける様子が広く認められた。FPG1 を投与しないオスでも、まれに他個体のオスから求愛行動を受けることが観察されたが、その頻度は FPG1 を投与したもののほうが圧倒的に多かった。また、FPG1 を投与したメス 1 個体で、オスの非存在下でも放卵に至る様子が確認された。

FPG1 を投与したオスが他個体のオスから求愛行動を受けるのは、オスへの FPG1 投与によりオス型の行動パターンが減少した、もしくは行動パターンがメス型に変化したからであると考えられる。しかし、具体的にどのような行動の変化が生じているのかについては現時点では不明である。一方、メスが FPG1 投与によってオスの非存在下で放卵したことから、FPG1 が放卵行動を引き起こす因子である可能性も考えられる。しかし、腹腔内注射により腹腔内圧が上昇し、物理的に卵が押し出されたという可能性も否定できず、さらなる検討が必要である。

オス特異的に発現する遺伝子として同定

された male-predominant gene 1 (MPG1) についても、同様の解析を行い、MPG1 がオスの性行動を高める可能性を示唆するデータが得られつつあるが、まだまだ不確定要素が多く、今後、実験個体数を増やすとともに、投与方法を改善することを計画している。

## (2) 性特異的遺伝子群の作用機序解析

FPG1 の in situ hybridization により、FPG1 は終脳と視索前野の一部の神経核でメス特異的に発現していることが明らかとなった。また、FPG1 に対する免疫組織化学により、終脳と視索前野で産生された FPG1 は脳内の広い範囲に運ばれることが分かった。特に、延髄から脊髄にかけて多く運ばれており、それらの領域で何らかの役割を担っている可能性が考えられた (図 1)。

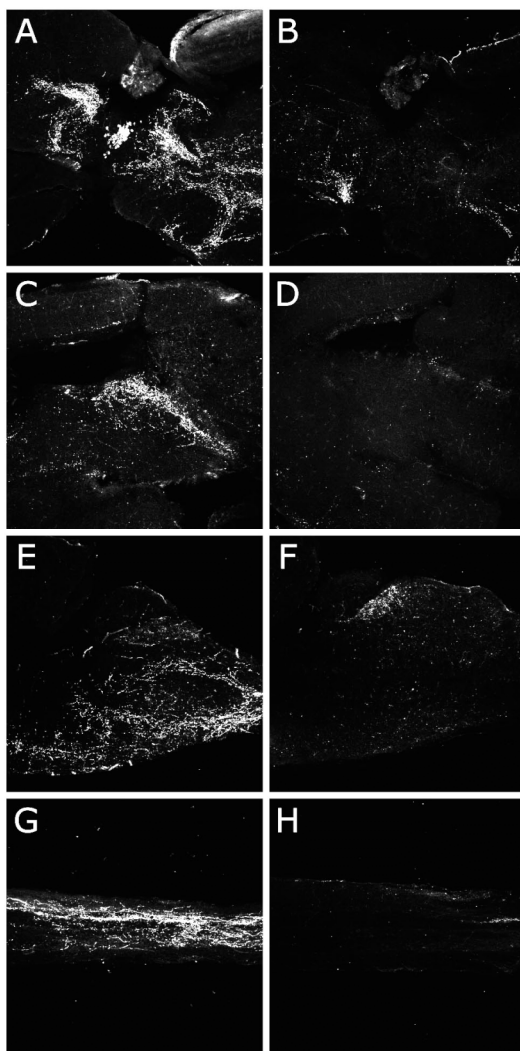


図 1. FPG1 の免疫組織化学。A: メスの終脳と視索前野。B: オスの終脳と視索前野。C: メスの間脳。D: オスの間脳。E: メスの延髄。F: オスの延髄。G: メスの脊髄。H: オスの脊髄。FPG1 はメス特異的に終脳と視索前野で

発現し、脳内のあらゆる領域に運ばれていることが分かる。特に、延髄から脊髄にかけて多く運ばれている。

同様の実験を MPG1 についても行った。in situ hybridization により、MPG は視索前野の一部の神経核でオス特異的に発現していることが明らかとなった。また、MPG1 に対する免疫組織化学により、視索前野で産生された MPG1 も FPG1 と同様、脳内の広い範囲に運ばれることが明らかとなった。

## 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 5 件)

- ① 大久保範聡 (2010 年 9 月 24 日) メダカの脳における性差と性分化. 日本動物学会第 81 回大会, 東京都目黒区, 東京大学 (招待講演)
- ② Kataaki Okubo (2010 年 3 月 27 日) Sex difference and its plasticity in the expression of aromatase in the medaka brain. 14th International Congress of Endocrinology, 京都府京都市, 国立京都国際会館 (招待講演)
- ③ 大久保範聡, 長濱嘉孝 (2009 年 10 月 23 日) *cyp19a2* の発現解析から見えてきたメダカの脳の性分化機構. 第 34 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 32 回大会合同大会, 大阪府大阪市, 千里ライフサイエンスセンター (最優秀発表賞受賞)
- ④ 大久保範聡 (2009 年 10 月 9 日) メダカの脳の性分化と性ステロイド. 博多シンポジウム「内・外環境と生物応答」, 福岡県福岡市, 九州大学 (招待講演)
- ⑤ Kataaki Okubo (2009 年 6 月 21 日) Medaka: a model for the study of brain sex. The Second International Symposium for Fish Growth and Reproduction, 香港, 香港大学 (招待講演)

[その他]

ホームページ等

## 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 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：