

氏 名 橋山 一哉

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1203 号

学位授与の日付 平成 20 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 ショウジョウバエ始原生殖細胞における自律的性差
形成機構

論文審査委員	主 査 教授	大隅 良典
	教授	小林 悟
	准教授	田中 実
	教授	松居 靖久（東北大学）

論文内容の要旨

多細胞生物を構成する細胞は、大きく体細胞系列と生殖系列に分けられる。体細胞系列は、個体の発生に伴い多様な組織に分化し、その個体の死とともに役割を終える。一方、生殖系列は精子や卵である生殖細胞に分化し、有性生殖により生命の連続性を担う。この有性生殖を支えるために、始原生殖細胞（生殖系列）は、雌雄で異なった分化を行うことが知られている。

マウスやショウジョウバエでは、始原生殖細胞の性は生殖巣を形成した後に、周囲の体細胞からの誘導によって決定されると考えられてきた。マウスでは、生殖巣を形成する体細胞において性決定遺伝子である *Sry* 遺伝子が働くことにより生殖巣が精巣化し、始原生殖細胞を雄化する。一方、ショウジョウバエでは、生殖巣形成後、生殖巣を構成する体細胞からの JAK/ STAT シグナルによって、始原生殖細胞の雄化が誘導される。いずれの場合も、体細胞からの雄化シグナルを受けない始原生殖細胞が雌として決定されると考えられてきた。

しかし、体細胞からの誘導に加えて、生殖系列自律的な性差形成機構の存在も指摘されてきた。マウスの始原生殖細胞で最初に観察される性差として、*Insulin-like growth factor 2 receptor (Igf2)* と *H19* 遺伝子領域の雄特異的な DNA メチル化が知られている。この性差の形成には、周囲の体細胞からの誘導は関与せず、細胞自律的に起こる。また、ショウジョウバエにおいても、胚発生初期に始原生殖細胞を異なる性の個体に移植する実験から、体細胞からの誘導とともに、始原生殖細胞自律的な性差形成機構が存在することが予想されていた。しかし、どの様なメカニズムで、細胞自律的な性が決められているのかは明らかになっていない。本研究では、ショウジョウバエの始原生殖細胞の性差形成に関して、以下の諸点を明らかにした。

1) ショウジョウバエにおいて、SUMO 化に関わる *lesswright (lwr)* 遺伝子の機能を生殖系列特異的に抑制すると、雌個体のみにおいて生殖系列の細胞が失われることを見出した。また、その大部分が、生殖巣形成前にアポトーシスによって失われることを明らかにした。この結果は、生殖巣を形成するよりも早期に、始原生殖細胞自律的に性差が形成されていることを示唆している。

2) H99 染色体領域に含まれる *head involution defective (hid)*, *grim reaper (rpr)* 遺伝子がアポトーシスに関与することが知られている。*lwr* 遺伝子の機能を生殖系列で抑制すると、始原生殖細胞で *hid* *rpr* 遺伝子の発現が上昇することを見出した。さらに、H99 染色体領域の欠失突然変異および *hid* 突然変異によって、始原生殖細胞のアポトーシスが抑制されることが明らかとなった。

3) 始原生殖細胞は、胚生殖巣が形成される以前から、将来、胚生殖巣を形成する中胚葉性の体細胞と接している。胚生殖巣形成以前の始原生殖細胞の性差が、この中胚葉性の体細胞の働きにより誘導されるか否かを明らかにするため、中胚葉を欠く *snail (sna)* *twist (twi)* の 2 重変異体を用い、雌の始原生殖細胞数の減少が観察されるか否かを調べた。その結果、*sna twi* の 2 重変異体においても、*lwr* 遺伝子の機能を抑制すると、雌個体でのみ始原生殖細胞が失われることを見出した。この結果は、始原生殖細胞の性差の形成に、中胚葉性の体細胞が関与しないことを示唆している。

4) ショウジョウバエの体細胞における性決定遺伝子として知られている *Sex lethal (Sxl)* 遺伝子が、始原生殖細胞の性差形成に関与するか否かを調べた。体細胞において、*Sxl* は雌特異的に発現し、細胞の雌化に関与する。まず、*Sxl* 遺伝子が、雌個体でのみ、生殖巣形成以前の始原生殖細胞で一過的に発現することを見出した。さらに、*Sxl* を雄の始原生殖細胞で強制発現すると、*lwr*

遺伝子の機能阻害による雌特異的であった始原生殖細胞のアポトーシスが、雄の始原生殖細胞においても観察されることが明らかとなった。一方、*Sxl* の機能欠損型突然変異により、雌の始原生殖細胞のアポトーシスが観察されなくなった。

以上の結果は、始原生殖細胞における雌特異的な *Sxl* の発現は、始原生殖細胞の性差の形成（雌化）に必要かつ十分であることを示している。すなわち、生殖巣形成以前の始原生殖細胞で発現する *Sxl* が、性差形成のマスタースイッチになっていると結論づけられる。これまでの始原生殖細胞の性差形成機構と今回の結果を総合すると、雌個体では *Sxl* の機能により始原生殖細胞は自律的に雌化し、雄個体では生殖巣に入った後に体細胞からの誘導により雄化が起これると考えられる。

論文の審査結果の要旨

生殖系列は精子や卵である生殖細胞に分化し、有性生殖により生命の連続性を担う。この有性生殖を支えるために、始原生殖細胞（生殖系列）は、雌雄で異なった分化を行うことが知られている。マウスやショウジョウバエでは、始原生殖細胞の性は生殖巣を形成した後に、周囲の体細胞からの誘導によって決定されると考えられてきた。一方、体細胞からの誘導に加えて、生殖系列自律的な性差形成機構の存在も指摘されていた。ショウジョウバエでは、胚発生初期に始原生殖細胞を異なる性の個体に移植する実験から、始原生殖細胞自律的な性差形成機構が存在すると予想されてきた。しかし、どの様なメカニズムで、細胞自律的に性が決められているのかは明らかになっていない。本研究では、ショウジョウバエの始原生殖細胞の性差形成に関して、以下の諸点を明らかにした。

1) ショウジョウバエにおいて、SUMO 化に関わる *lesswright (lwr)* 遺伝子の機能を生殖系列特異的に抑制すると、雌個体のみにおいて生殖系列の細胞が失われることを見出した。また、その大部分が、生殖巣形成前にアポトーシスによって失われることを明らかにした。この結果は、生殖巣を形成するよりも早期に、始原生殖細胞自律的に性差が形成されていることを示唆している。

2) 始原生殖細胞は、胚生殖巣が形成される以前から、将来、胚生殖巣を形成する中胚葉性の体細胞と接している。胚生殖巣形成以前の始原生殖細胞の性差が、この中胚葉性の体細胞の働きにより誘導されるか否かを明らかにするため、中胚葉を欠く *snail (sna) twist (twi)* の 2 重変異体を用い、雌の始原生殖細胞数の減少が観察されるかを調べた。その結果、*sna twi* の 2 重変異体においても、*lwr* 遺伝子の機能を抑制すると、雌個体でのみ始原生殖細胞が失われることを見出した。この結果は、始原生殖細胞の性差の形成に、中胚葉性の体細胞が関与しないことを示唆している。

3) ショウジョウバエの体細胞における性決定遺伝子として知られている *Sex lethal (Sxl)* 遺伝子が、始原生殖細胞の性差形成に関与するか否かを調べた。体細胞において、*Sxl* は雌特異的に発現し、細胞の雌化に関与する。まず、*Sxl* 遺伝子が、雌個体でのみ、生殖巣形成以前の始原生殖細胞で一過的に発現することを見出した。さらに、*Sxl* を雄の始原生殖細胞で強制発現すると、*lwr* 遺伝子の機能阻害による雌特異的であった始原生殖細胞のアポトーシスが、雄の始原生殖細胞においても観察されることが明らかとなった。逆に、*Sxl* の機能欠損型突然変異により、雌の始原生殖細胞のアポトーシスが観察されなくなった。

以上の結果は、始原生殖細胞における雌特異的な *Sxl* の発現は、始原生殖細胞の性差の形成（雌化）に必要な十分であることを示している。すなわち、生殖巣形成以前の始原生殖細胞で発現する *Sxl* が、性差形成のマスタースイッチになっていると結論づけられる。

本出願論文は、不明であった始原生殖細胞の性差形成機構を解明するための基盤を築いた点において高く評価できる。以上の成果は、博士論文に値するものと審査委員全員一致で判断された。