

# 性の分化と転換の謎を探る

## ——生殖幹細胞の性制御

田中 実

総合研究大学院大学准教授 基礎生物学専攻／自然科学研究機構 基礎生物学研究所准教授

雄か雌、生物の性は二者択一で決まる。しかしこのスイッチの入り方は、遺伝子の指示によるだけでなく、環境や状況に応じて、さまざまである。融通無碍な性の機構が、メダカを用いた実験技術の開発によって、しだいに明らかにされてきた。

性の現象は、雌と雄がいて初めて成り立ち、それらが異なる現象を示しつつも補完し合うことによって初めて意味をなします。それぞれの個体の根底をなす細胞自体にも雌と雄があり、その細胞たちが織りなす社会構造（細胞相互作用ともいえるでしょう）にも雌雄を見て取ることができます。しかし、生物によってそれらの現象はさまざまです。

このような性の多様な現象は、「生物の繁殖戦略の結果」であるとか、「生物は、時々の状況や環境に応じて、最適に繁殖できるように進化してきた」とか説明されてきました。しかしそう言い切ってしまうには何か大切なもの落としているような気がして……、その落とし物とはいったい何なのだろうか、と物忘れの人のように考え続けてきました。この数年でようやく、その忘れ物が何であるか、細胞レベルまたは遺伝子レベルの現象として見えてくるようになりました。

### 性研究とのめぐり合い

性の現象に引き込まれたのは、天啓のようなものでした。当時私は、基礎生物学研究所の長濱嘉孝先生のスタッフに加わり、サケ科などの大型魚類の生殖内分泌の研究を始めていました。そこではさまざまな魚の話を書く機会に恵まれていました。そんなある日、メダカの話を知り、メダカを利用すれば性や生殖の現象がいろいろわかるかもしれない

と突然感じたのでした。

ご存知のように、魚は脊椎動物の中では進化的にもっとも長く、同じようなかたちをしていても、種によって生物としての現象はさまざまです。性に関していえば、多くの魚が性転換をすることが知られています。また生殖周期（卵を産む周期）も種によっていろいろです。メダカの話を知り、それらの現象の基本的な仕組みがメダカを用いればわかるのではないかと感じたのでした。

当時、メダカについてのゲノム情報はなく、遺伝子導入の技術も確立していませんでした。まわりの研究者に状況を聞いてみると、分子遺伝学の方法が適応できそうだとわかってきました。分子遺伝学はとても魅力的でしたので、最先端の研究ができる場所を探しました。運よく、米国ノースウエスタン大学（シカゴ）のJ.タカハシ先生の研究室に居候させてもらうことができ、マウスの分子遺伝学の研究をはじめとしてラットでの原因遺伝子同定法など、最先端の分子遺伝学的研究に熱中することができました。ここで私は、何が具体的にできそうか、その見極めの感覚が得られたことはなによりだったと感謝しています。

巷ではこの頃、メダカと並ぶもうひとつのモデル脊椎動物のゼブラフィッシュを用いて、モルフォリーノによる遺伝子機能阻害が行われており、初期発生の分子機構を解析する研究が華やかに展開さ

れていました。しかし同じ発現現象であっても、生殖腺器官形成や性分化などの現象は、発生の最終期もしくは出生後に進行するため、初期発生で用いられる手段では解析することはできません。当時の性分化研究、特に生殖腺の研究は、ヒトの先天性障害の解析と、それをもとにしたマウスの遺伝子破壊の知見に依存していました。性にまつわる現象の多様性が生物ごとに厳然としてあるなかで、それぞれの動物がもつ現象に切り込めないのは何とももどかしいものでした。

### メダカの生殖細胞の可視化に成功

メダカには胚や幼魚がきわめて透明な系統もいますから、何となくでも細胞を可視化して細胞レベルで何が起きているか調べたいと思ったのもこの頃です。イメージングという言葉が一般的になるかなり前のことでした。

帰国後、京都大学の木下政人先生がメダカのマイクロインジェクションを試みていましたので、共同で、2年近くかけてメダカの生殖細胞を蛍光で可視化できる技術（トランスジェニックメダカ）を確立しました。内在性の制御領域を用いて特定細胞を蛍光で可視化した脊椎動物としては嚆矢となりました（図1）。

この結果を日本分子生物学会で発表したところ、大阪大学の近藤寿人先生が声をかけて下さり、メダカを用いた大規模突然変異体単離のプロジェクトに参画す

ることとなりました。メダカは人間と同様に遺伝的に性が決まる動物で、Y染色体上の *Dmy* という遺伝子があると雄になります。プロジェクト研究の結果、生殖腺形成不全をおこす突然変異体メダカが多数単離されただけでなく、その中には後述のような性が転換してしまう変異体も含まれていました。

その後、メダカに関してさまざまな実験技術が改良・開発され、またゲノム情報も充実し、いっそう便利に研究できるようになりました。しかし基本的には、トランスジェニックメダカの確立と変異体を単離した時点で、生殖腺形成や性分化のときにどのような現象がおきているかを、遺伝子・細胞レベルで予断なく単離・解析できる基礎が整った、といえると思います。

### 性は二者択一の保障によってもたらされるもの

メダカは哺乳類と同様に、特定の遺伝子の有無で性が決まります。しかし、使われている遺伝子は哺乳類とはまったく異なった *Dmy* と呼ばれる遺伝子です。最初の性の決定の仕組みからして動物の

間では多彩なのです。性が決まった後、生殖腺は卵巣あるいは精巣のいずれかに分化を開始します。脳や肝臓の発生と同様、発生学という器官分化の過程に入ります。このとき、卵巣から精巣へと、またはその逆に、器官分化過程を変えて性転換する動物もいますが、哺乳類もメダカも通常では性は変わりません。

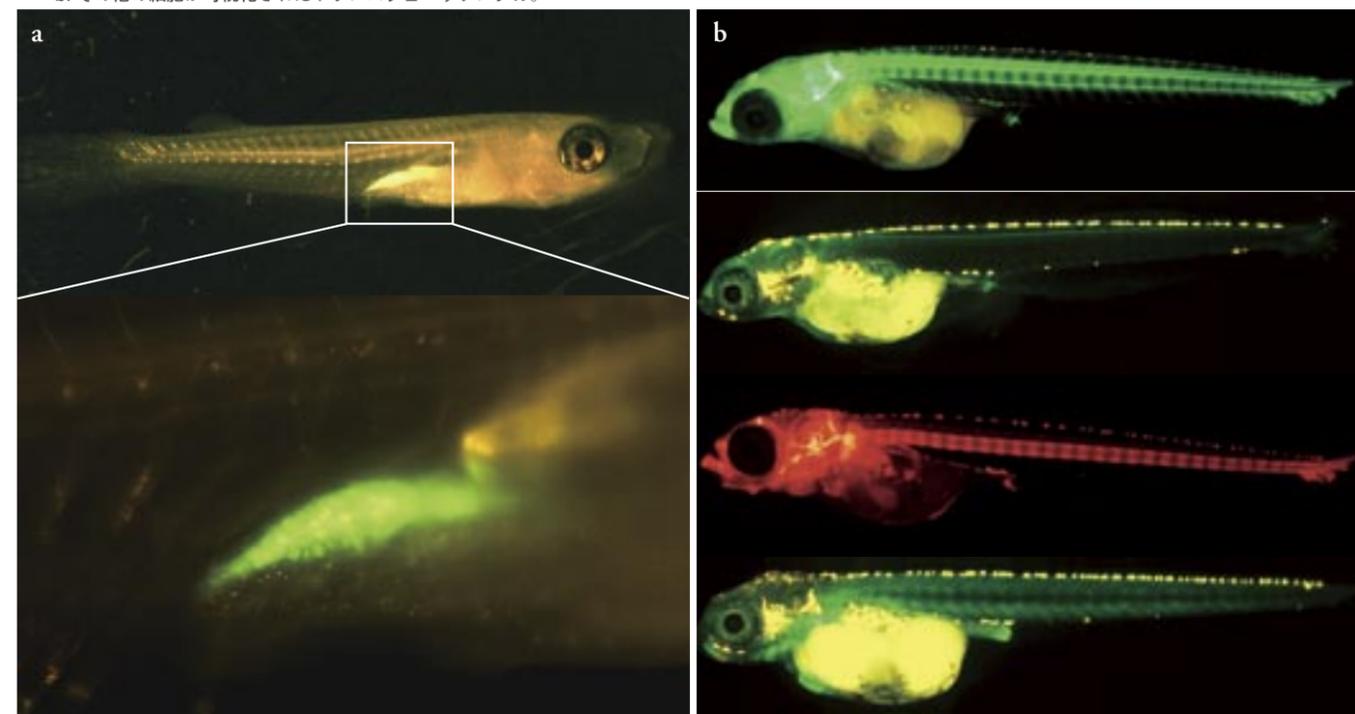
ここで「通常」と記したのがみそで、特殊な状態ではこれらの動物でも性が変わってしまう、いわゆる性転換という現象が個体全体あるいは部分的にでもおきることがあるのです。すなわち動物は、性を決定する遺伝子の指示とは異なって、環境によって、状況によって、性を転換する能力を潜在的にもっていると考えられるのです。ここに通常の器官分化とは異なる性の面白いところがあります。通常の器官発生では、何らかの障害がおきると「形成不全」になってしまうことが多いのですが、性の世界では雌でなければ雄になり、雄でなければ雌になるように仕組まれているようなのです。この特性こそが、生物の多彩な性の現象の根幹ではないだろうかとも予見できま

す。似たような性転換はマウスでも知られており、それ故昔から「性はバランスである」ともいわれてきました。

「生物は多様である」とよくいいます。なぜ多様なのか、「進化がそうもたらした」ということはできます。しかし、その多様性は決してでたらめではありません。その多様性の中に「それらを保障している機構」が見いだせることがあります。たとえば、生物は進化の過程で融通無碍にそのかたちを変化させていることはよく知られていますが、それを生み出すからくり（機構・基盤）があることもまたよく研究されています。*box* と呼ばれる遺伝子群は、生物の「前後」など、いわゆる「軸に沿った差」を作り出すことで動物のかたちの共通基盤を形成しています。生物が環境に合わせてどんなにかたちを変えようとも、基盤は変わりません。

一方、生物は地球の自転に合わせた時計機構もっています。24時間周期の時計機構の核にはオシレーターがあると考えられ、現代の生物学はこのオシレーターの構成成分（遺伝子）が生物によって異なっていることを明らかにしてきま

図1 a: 生殖細胞だけが蛍光で可視化されたトランスジェニックメダカ。  
b: その他の細胞が可視化されたトランスジェニックメダカ。



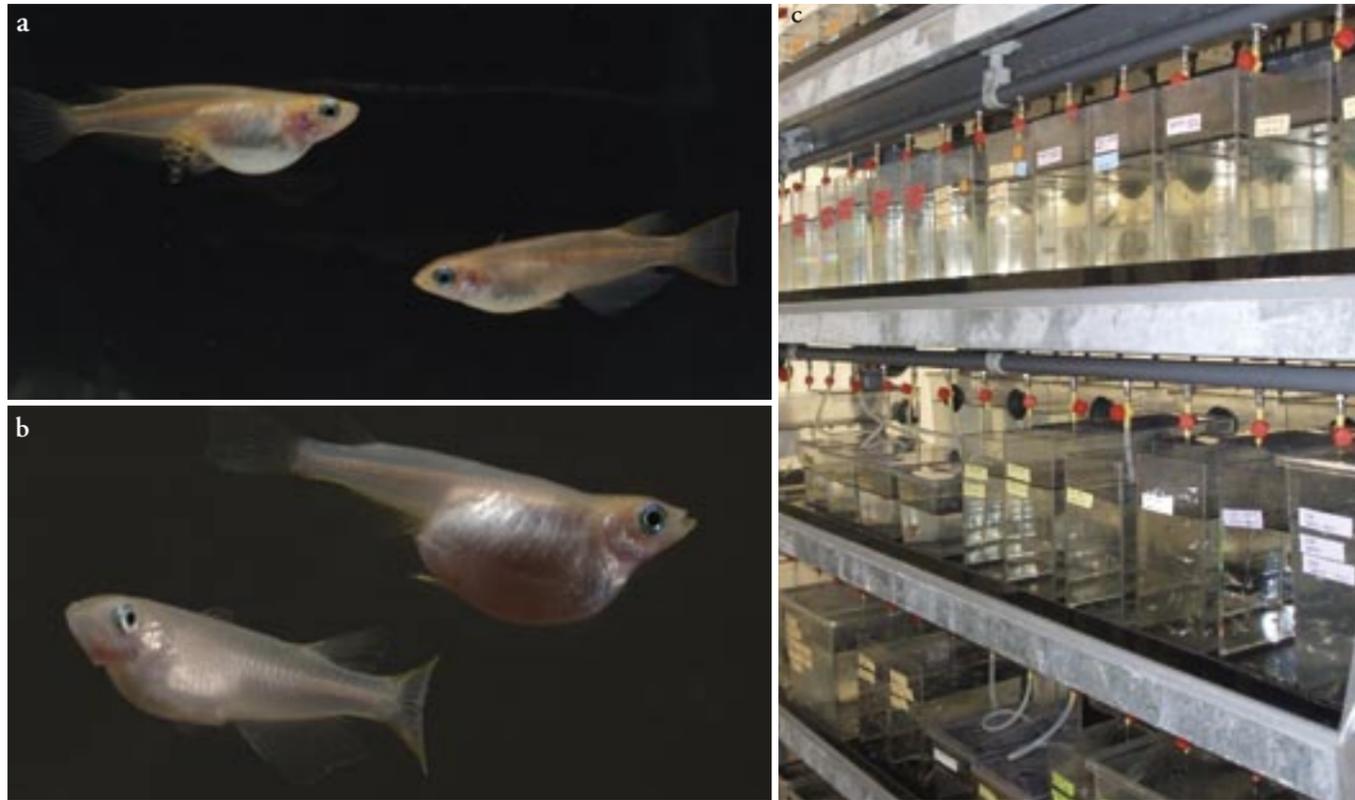


図2 a: 研究に用いられているメダカ (野生型 OK-cab 系統) と b: 雌へと性転換する突然変異体メダカ、*hotei*。c: 多数の雌雄のつがいごとに管理されているメダカ胚と稚魚 (分子遺伝学的解析)

した。今のところ、オシレーターがもつ属性そのものが、なぜか多くの生物で保たれ、利用されているといったほうがよさそうです。では、性はどのようなのでしょうか？ 性の場合、雌か雄の二者択一です。この二者択一の現象を保障する機構は生物の間で保たれているのでしょ

か？ これはまったくの謎です。この文脈では性決定過程は、性分化の基盤というよりもスイッチと位置づけることができます。生物の状況に合わせて雌か雄になり、子孫を作ることさえできれば、スイッチの入れ方は多彩であってもおかしくないことになります。

#### 二者択一の保障機構は細胞相互作用？

二者択一の機構が細胞レベルの相互作用にあるらしい、ということがわかってきたのは、メダカの生殖細胞 (将来の卵や精子になる細胞) をなくしてみたときでした。トランスジェニックメダカを作製して生殖細胞を蛍光で可視化していたので、ひとつも生殖細胞がないメダカを生きのまま選ぶことができました。大学院生であった黒川絢美さんが、そのメダカを育てて生殖腺と性を解析しました。

先にも述べたように、メダカはY染色体上の *Dmy* という遺伝子があれば雄になり、それがなければ雌になります。ところが生殖細胞がないと、*Dmy* がいないにもかかわらず、他の生殖腺の細胞も身体全体も雄化してしまったのです。このことは単に生殖細胞が雌化に必須というだけでなく、生殖細胞がないと他の細胞は雄化するという驚くべきことを意味しています。

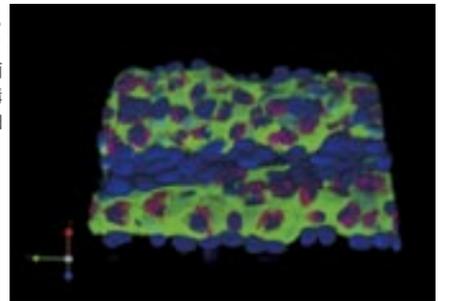
この関係は、反対に *Dmy* があるにもかかわらず雌への性転換をしてしまうメ

ダカ突然変異体 *hotei* (おなかが大きく布袋のようであることから名付けられた) でも成り立っていることが明らかとなりました (図2b)。研究員だった森永千佳子さんがポジショナルクローニングでこの変異体の原因遺伝子を突き止めると、*TGFβ* 遺伝子群に属する *Amb* という遺伝子産物の受容体 (*AmhRII*) がおかしくなっていることがわかりました。このAMHは細胞から分泌され、その受け手となる受容体をもつ細胞に作用すると考えられます。AMHとその受容体の両方は、生殖細胞ではなく、それを取り囲んでいる支持細胞と呼ばれる体細胞で発現していることから、支持細胞はAMHを分泌して自ら受け取っていると考えられました。

この変異体メダカのおなかの大きい原因は、生殖細胞が異常に増殖したためです。一方、生殖細胞のないメダカでの解析は、生殖細胞が雌化には必須ということを示していました。そこで *hotei* の生殖細胞を除いてみると、雌への性転換は起きませんでした。支持細胞は除かれなくてそのままですから、おかしいAMHのシグナルはそのまま支持細胞でおかしくなっているはずですが、生殖細胞を除くと性転換をしないということは、おかしい支持細胞が直接性転換を引き起こすのではなく、生殖細胞が関与して雌へ性転換を引き起こしていることを示しています。AMHの正式名称は抗ミューラー管因子ですが、これは哺乳類の雄で、雌の付属生殖器官の原基であるミューラー管の発達 (発達すると卵管や膈の一部になる) を抑える因子として知られています。哺乳類や鳥類以外ではミューラー管はありませんから、その機能は謎でした。一連の結果は、このAMHが生殖細胞との細胞相互作用を制御することにより、性分化に関与していることを示しています。

それでは、この生殖細胞と他の生殖腺の細胞との細胞レベルの相互作用は他の動物でもあてはまるのでしょうか？ その機構の是非については議論があるものの、通常は性が変化しないマウスでも、性転換という現象を見いだすことができ

図3 メダカ生殖腺の三次元構築画像。トランスジェニックメダカを用いてさまざまな細胞を蛍光で可視化し、その画像から三次元の生殖腺 (発生中) を構築したもの。赤は生殖細胞。緑は体細胞。青は細胞核。



## 性研究のために精進精進!

西村俊哉

総合研究大学院大学 基礎生物学専攻5年一貫制博士課程1年



西村俊哉 (にしむら・としや)

学部生のころ、英国の科学誌 *Nature* のスナップショットに目をひかれました。それはキリンが交尾している姿でした。なぜ一流雑誌にキリンの交尾姿が載っているのだろうか？ 写真に収めたのは初めてだったのだろうか？ キリンは恥ずかしがり屋？ 好奇心にかられて記事を読んでみて、驚きました。二頭のキリンは雄同士だったのです。自然界にもホモセクシャルが存在することを初めて知り、以前から興味をもっていた性の不思議さに魅せられました。

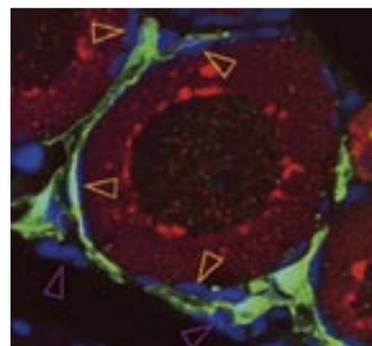
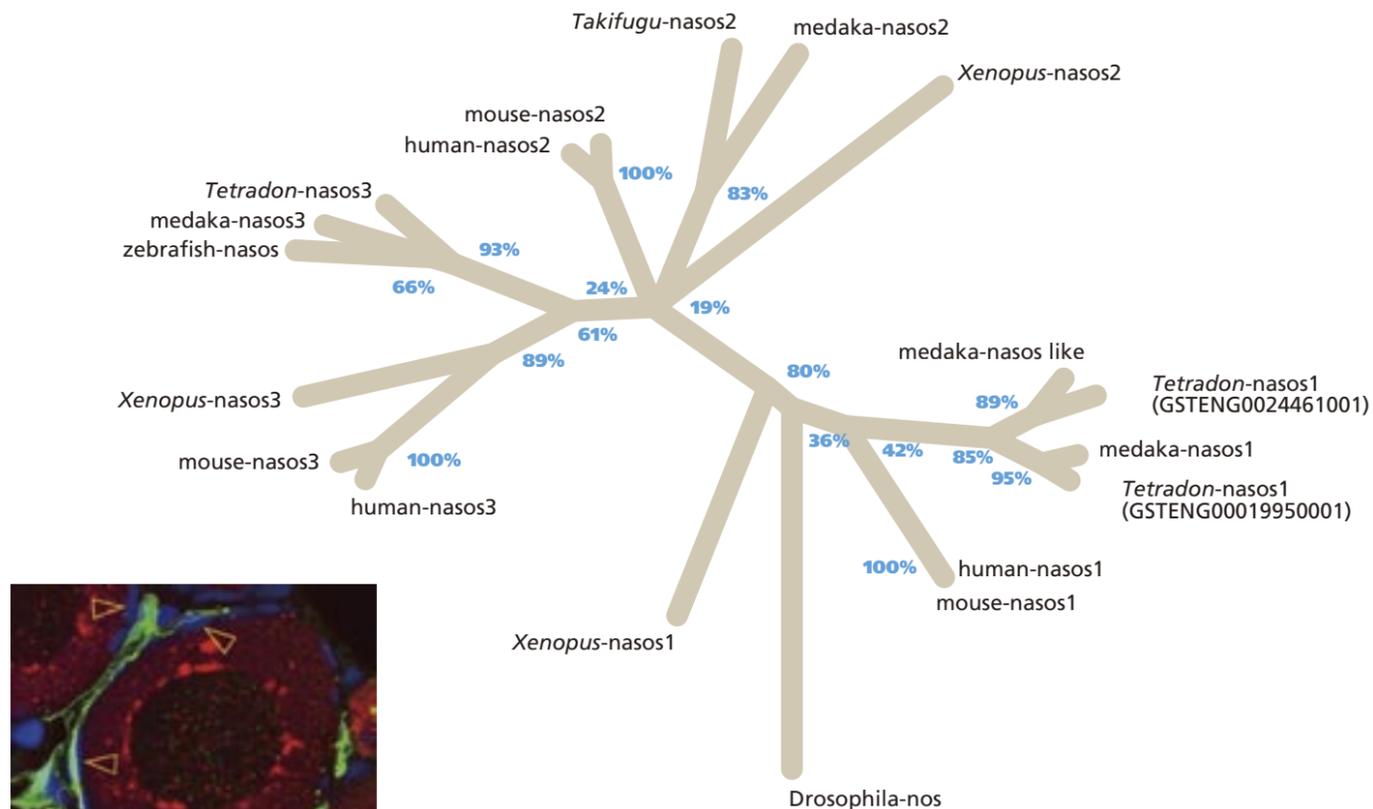
卒業研究では、生殖細胞をなくしたドジョウの生殖腺を調べました。メダカやゼブラフィッシュでは、生殖細胞がないと雄化することがすでに明らかにされていました。興味深いことにド

ジョウの場合、生殖細胞がなくても生殖腺は雄と雌に分化しており、雌の生殖腺では卵巣マーカーといわれている *foxl2* や *aromatase* も発現していたのです。なぜ魚種によってこのような違いが生み出されるのか、そのメカニズムを知りたいと思うようになりました。

現在は、性分化のメカニズムを探るべく、メダカを用いて研究を進めています。メダカでは、生殖細胞をなくすと雄化するので、生殖細胞は性分化において雌化に関わっていることを示唆しています。そこで、まずは雌化因子の同定を目標にしています。しかし、その候補遺伝子については何もわかっていないので、性分化時の生殖細胞と生殖腺体細胞をそれぞれ単離してきて、網羅的に遺伝子発現を解析することから始めています。

大学院生として研究生活を始めて、早くも一年が過ぎようとしています。実験と解析に追われる毎日で、時には実験がうまくいかず悪戦苦闘することもあります。そんなときには初心にかえり、自分の研究成果に感動する日が来ることを願いつつ、日々精進しています。

図4 a 生殖幹細胞で発現する遺伝子の系統解析図。



4b: エストロゲンを産生する雌細胞（緑色）の出現。赤い生殖細胞の周りに出現してくる。

ます。また、遺伝的に性の決まっていな動物、すなわち環境などによって性が決まったり、性が転換する動物がありますが、その多くは雄へと向かうときに生殖細胞の数が減少することが知られるようになりました。

たとえばゼブラフィッシュでは、すべての個体でいちどは卵巣様生殖腺ができて卵も形成されます。性決定遺伝子で性が一意的に決まっていなのです。ところが、この卵巣様生殖腺の中の生殖細胞の数は個体によってまちまちで、生殖細胞のより少ない一部の卵巣様生殖腺では生殖細胞の数が減少し、これがどうも精巣へと分化するようです。ゼブラフィッシュでも、生殖細胞を実験的に取り除くと雄になるとの報告があります。メダカで解析された相互作用がそのまま当てはまるかは検証が必要ですが、マウスでも同様な実験例があります。

メダカでの結果は、たとえ遺伝子で性が決まる動物であっても細胞は両性になりうる能力をもっており、それどころか、たとえ性が決まっても、細胞相互作用を介してその性になるように保つ機構（性の維持機構）が働き続けなくてはならないことを示しているようです。逆にこの機構を制御すれば任意に性転換が生じるのかもしれませんが、自然界の動物たちはそこを制御して多様な性の現象を見せているのかもしれませんが。

#### 卵巣で生殖幹細胞を発見

では、具体的にどのように卵巣という構造から精巣へ、またはその逆に精巣から卵巣へと性が転換するのでしょうか。この部分も大きな謎でした。卵巣と精巣とではまったく組織構造が異なっています。ひとたび性が決まると生殖腺の性分化がおきますが、それは言い換えると卵

巣形成、精巣形成という別々の器官形成が進行していることと同じにみえます。しかし生殖腺の場合はどうも単なる器官形成ではなく、その過程で今見てきたような性を保つ機構がつねに一方の性へと働いているようなのです。

私の研究室では最近、生殖腺の潜在的な性転換能力を組織学的に裏付けるような構造体を脊椎動物で初めて同定することに成功しました。基礎生物学研究所は、メダカの研究試料を提供するナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP Medaka）の中核機関となっており、その事業の一環として、研究員小林佳代さんが遺伝子の熱誘導が可能なメダカ系統と、cre/loxP系を用いた、生体内での遺伝子の組み換えを可能とするメダカ系統を開発しました。

このシステムとトランスジェニックメダカを組み合わせることで、今までだれ



も気付くことのなかった構造が発見されました。精巣のような組織構造が卵巣の中に見いだされ、そこに生殖幹細胞までもが存在することが明らかとなったのです（中村修平）。脊椎動物の精巣の生殖幹細胞は研究されはじめていますが、卵巣に生殖幹細胞があるとは、生物学、医学をかじった人はだれも思いませんでした。マウスやヒトでは、卵巣内のすべての生殖細胞は胎児期に急速に卵母細胞と呼ばれる段階にまで分化してしまい、元となる幹細胞は早くから失われているだろうという考えが支配的だったからです。しかし、さまざまな生物で見られる性転換や、その潜在的能力を考えれば、性的にも未分化であろう幹細胞の存在はとて納得できることなのです。

#### 性の先端研究—揺らぐ性の機構解明に向けて

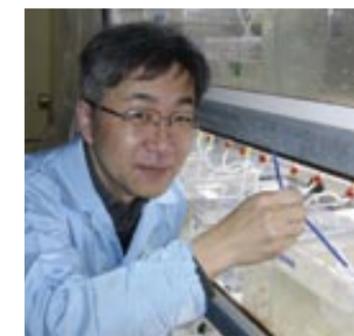
性の示す多様な現象をどう理解すればいいか。冒頭で述べた大きな忘れ物のひとつは、雌か雄への自由な二者択一性の保障でした。一連の研究から、そこには生殖細胞が関与した細胞相互作用による性の制御が見えてきました。しかしこれはまだ端緒でしかありません。今までは、現象すら見いだされておらず、どのように理解したらいいのかもわからなかったのです。

研究室で確立してきた手法で性分化過

程を覗くと、これ以外にもまだまだ謎に満ちたとても魅力的な現象がたくさん見えてきます。それらは従来の組織学的、内分泌学的手法では見えなかった細胞レベルの現象です。性と絡んだ生殖幹細胞の制御も魅力的な問題です。雌雄への分化、さらにこれらを多彩な性の現象の中でどう理解し位置づけるのか、まだまだ妄想をたくましくして知的に楽しんでいけそうです。

一方で、熱誘導系や cre/loxP 系といった遺伝子改変システムやトランスジェニックを研究室で独自に開発、変異体の解析系を立ち上げてきました。現在それらを利用しつつ、見いだされた現象が分子機構としてどのように裏付けされるのかの研究も始動しています。ここに来てようやく細胞レベルの現象と合わせることで、網羅的な遺伝子発現を解析する意味が出てきました。

性は生物の内在的な問題だけでなく、環境にも作用される面がある故に、二者択一の自由な保障、すなわち性の揺らぎの分子機構解明はさまざまな側面で重要だと考えられます。どのようにして性分化が起きるのか、その背景にあるはずの性の揺らぎの本質は何か、現象をしっかりと見据えつつ、その分子機構を精力的に解き明かしているところです。



田中実（たなか・みのる）  
性にまつわる現象、とりわけ生殖腺原基という雌雄共通の構造から、卵巣や精巣への性分化に魅せられて早10年が経ちました。研究を進めれば進めるほど、性分化の仕組みと意味の奥深さに眩惑され、それを理解したいと思うようになってきました。生殖腺の性分化という窓を通して、その向こう側にある性の現象を「諒解したい」と感じるようになってきた、と記すべきなのかもしれませんが、そう感じさせるほど、性の現象は多面的で魅惑的なのです。生殖遺伝学研究室ホームページ [www.nibb.ac.jp/reprogenetics/](http://www.nibb.ac.jp/reprogenetics/)