

論文審査の結果の要旨

氏名 遠藤 大輔

温度依存性性決定とは、発生時の孵卵温度によって性が決定される性決定様式であり、爬虫類・有鱗目では近縁な種間でも異なる性決定様式を示すことがある。このことから有鱗目は性決定様式の進化を研究する上で極めて重要な動物であると考えられるが、その分子生物学的研究は殆ど行われてこなかった。本研究は温度依存性性決定動物であるヒョウモントカゲモドキにおける性決定の分子機構の解析の可能性を切り開くと共に、性ステロイドホルモン情報伝達系の役割という観点から生殖腺と脳の性分化機構の解明を試みるものでもある。

本論文は以下のように3部構成となっている。まず第一章ではヒョウモントカゲモドキでの性ステロイド情報伝達系の重要な遺伝子を同定し、性決定時の発現を解析している。同定された cDNA は、性ステロイドホルモン合成酵素の転写因子であり性決定因子もある Steroidogenic factor 1 (SF-1) とステロイドホルモン合成の最初の段階を触媒する酵素、コレステロール即鎖切断酵素 (P450scc)、そしてエストロゲン合成酵素である芳香化酵素 (P450arom) と、エストロゲン受容体 β である。そして、既に得られている Sox9 と性ステロイドホルモン受容体3種 (エストロゲン受容体 α 、アンドロゲン受容体、プロゲステロン受容体) も研究対象に加え、発生期での発現を様々な組織で網羅的に調べた。その結果、2種の合成酵素、P450scc と P450arom は、調べたすべての発生ステージを通じて脳と生殖腺で mRNA 発現が確認され、これらの二つの器官が性決定時期に中心的な性ステロイドホルモン合成器官になりうることが示唆された。また、ホルモン受容体は性決定期の初期から様々な器官での発現されており、多くの器官がステロイドホルモン反応性をもつ可能性が示唆された。このことから生殖腺と脳での各遺伝子の発現の発現動態をより詳しく解析し、それぞれを第2章と第3章に分けて纏めている。

発生期の生殖腺における各遺伝子の発現には、明瞭な温度依存性は検出されなかった。また、多くの動物種でオスの生殖腺における強い発現が報告されている Sox9 の発現でもヒョウモントカゲモドキの生殖腺では明瞭な性差をみられなかった。一方、形態的な生殖

腺の性分化が識別できはじめた時期での SF-1 の発現はマウス、ニワトリと異なり性ステロイドホルモン合成酵素 P450arom の発現が弱い性である雄において高かったことは、性分化の分子機構の進化を考える上で非常に興味深い結果である。

最後の章では第 1 章で明らかになった発生の早い時期からみられる脳での各遺伝子の発現が、孵卵温度によってどのような影響を受けるかが解析された。その結果、脳での P450scc と P450arom の mRNA 発現量が温度の影響を強く受けていることが明らかとなった。即ち、P450scc mRNA 発現量が温度感受期にオスが多く生まれる温度で一過的に高くなり、性周期の制御に関わる脳の性分化に重要な働きをしていることが示唆された。一方、P450arom の発現量は温度と性比の関係とは一致せず、孵卵温度が高くなるほど高くなった。ヒョウモントカゲモドキでは孵卵時の温度が各個体の性行動に直接的な影響を示すことが報告されており、この現象に P450arom が重要な働きをしていると考えられる。なお、鳥類でもこのような脳に対する性決定因子の直接的な作用が示唆されていることから、ニワトリでの研究も行われた。その結果、P450scc、P450arom そして SF-1 mRNA が生殖腺の性分化以前の早い時期から脳で発現し、孵卵 5.5 日の SF-1 の発現はオスでメスより強く、ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) で発現していること明らかにした。

以上のように本研究は、脊椎動物に環境適応の機構あるいは性決定様式の進化を考える上で非常に重要な動物群である有鱗目においてその性決定・分化の分子機構に迫る研究を行う基盤を形成し、性ステロイド情報伝達系という新しい観点から生殖腺と脳の性決定と性分化を解析したものである。そしてそれと共に、様々な動物で示唆されていた脳の自律的性分化現象を、世界で初めて、遺伝子発現レベルで示した。このようなことから、論文提出者の研究成果は博士（理学）の学位を受けるにふさわしいと判定した。

なお、本論文の第 1 章の一部は朴民根と、第 2 章の一部は金保洋一郎、朴民根と、そして第 3 章の一部は、村上志津子、赤染康久、朴民根との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験の計画と実施を行ったものであると認められる。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。