

〔別紙2〕

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 張替 香生子

哺乳類において、性腺の性決定は、その後の生殖器の発達や繁殖行動に非常に重要な役割を果たす。性腺は胎生期に未分化な状態で発生し、精巢の支持細胞であるセルトリ細胞と卵巢の顆粒層細胞の起源は全く同一である。性染色体でXYを持つ個体は、精巢決定遺伝子SRY遺伝子を発現し、このSRY遺伝子が様々な精巢特異的な下流因子の発現を誘導することで、未分化な性腺は精巢へと分化する。一方、XX個体での卵巢の性分化については、幾つかの卵巢特異的な発現を示す遺伝子が知られている。このように、哺乳類の性は遺伝子によって厳しく制御されている。しかし、一方で、XXの性染色体を持ちながらも、雄性化が認められるXX雄性化性腺の存在が知られている。XX雄性化については、現在まで形態学的な記載のみが報告され、その詳細な原因や、発生過程については未だに解明されていない。また、そもそも、XX雄性化は、XX卵巢への正常な発生が妨げられた結果と考えられるが、卵巢が胎生期にどのように分化するのか、また、どのような因子が関与するのか、に関しては謎に包まれている。

そこで本研究では、第一章と第三章について、ウシおよびマウスの自然発生的なXX精巢化性腺を用いることにより、形態学および網羅的な遺伝子解析による研究を行っている。第一章は、XX型の性染色体を持ちながらも、性腺において雄性化の報告が存在するウシ・フリーマーチン個体について報告したものである。フリーマーチン症は、偶然にXY個体と双子として生まれた90%以上のXX個体におこる繁殖疾患であり、獣医畜産領域において非常に大損失となる。申請者が、免疫組織化学法による解析を行ったところ、フリーマーチン性腺にセルトリ細胞、ライディッヒ細胞、筋様細胞を認めた。よって、XX精巢であることが明らかとなった。そこで第三章では、XX精巢化へと至る過程を詳細に解析するため、マウスにおける自然発生的なXX精巢化性腺を用い、時系列毎に詳細な形態学的解析および網羅的な遺伝子解析を行っている。その結果、何らかのTGF- β シグナル因子や、アンドロゲンに曝露され、卵巢内の卵胞が退行し、精巢特異的な索様構造へと分化転換する様子が明らかとなった。さらにこの過程において、卵巢因子の発現減少、精巢因子の発現上昇が認められた。また、精巢因子の発現パターンが、正常なXY精巢形成過程とは全く異なっており、今まで哺乳類では報告されていない新規の経路であることが明らかとなった。一方でこのXX精巢形成機序は、哺乳類を除く脊椎動物間で広く保存された精巢形成機序と酷似しており、本結果は脊椎動物の精巢決定において最も重要な“コア・カスケード”の解明

へとつながる可能性を秘めている。また、XX 精巢化において発現上昇する新規精巢因子の同定を試みているが、これら因子に関しては、XY 精巢形成においても、進化的に保存された非常に重要な役割を担う可能性がある。

第二章では、初期卵巣分化様式を解明するため、卵巣内における性的未分化な細胞の動態を観察している。性的未分化な細胞の可視化にあたり、Sry を任意の時期に強制発現可能なマウスの卵巣について、時系列的に SRY 依存的な SOX9 誘導能の解析を行っている。その結果、1)SRY 依存的な SOX9 誘導能が性的未分化性を反映していること、2)卵巣の分化が胎齢 11 日から 12 日にかけて、頭側から尾側に起こること、3)卵巣髄質領域に、性的未分化な細胞が初回卵胞形成まで残存し続けること、を明らかにした。この実験において、卵巣性決定/分化が高い性的可塑性を持ちつつ不均一に起こることを世界に先駆けて示した。同時に、未分化性消失は抗精巢/卵巣分化因子の発現によると考えられるが、マイクロアレイにより、これら候補の抽出にも成功した。

第一章から第三章までを総合すると、髄質領域に性的可塑性/未分化性を保持し続ける卵巣が、アンドロゲン等の雄性環境下に曝されると、抗精巢/卵巣分化因子の発現が消失し、卵巣全域で性的未分化性を再獲得し、進化的に保存された環境依存的な精巢形成機序を用い、XX 精巢化へと至ることが明らかになった。遺伝的に全く変異のない、自然発生的な XX 精巢化性腺を用い、哺乳類の性分化機構の解明を試みた点で、本研究は非常に独創的でユニークであると言える。新規の卵巣決定・分化様式の発見、新規の精巢分化様式の発見、性分化異常症・繁殖疾患の原因および過程の解明など、本研究は今後の性分化研究に重要な役割を果たし、広く影響をもたらすと考えられる。これらの研究成果は、獣医学学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。