

## 魚類の性分化の制御機構

濱 口 哲

(新潟大学教養部)

魚類には多くは雌雄異体魚のほかに、様々な様式の雌雄同体魚の存在も知られており、魚の性決定の仕組みは極めて多様なものであると考えられる。一方、性現象は種の存続にとっては決定的に重要な現象であることを考えると、性決定の根本的な仕組みは魚類はおろか動物界全般に普遍的なものであるはずである。

性決定の問題を考える際には、個体・器官・組織・細胞の各段階での性決定を区別して考え、その上でそれらの関係を整理することが肝要である。哺乳類では、個体の性は未分化生殖巣が精巣あるいは卵巣のどちらに分化するかで決まり、生殖巣以外の性的 2 型性を示す器官の性は生殖巣より分泌されるホルモンによってその分化方向が決定されるとされている。つまり、第 1 義的な性決定機構は「生殖巣の性決定機構」であるということになる。哺乳類以外では鳥類の一部を除いてはそうした点をはっきりと区別して行われた実験は殆ど報告されていないが、全体的には同様な仕組みであろうという漠然とした了解があるようである。そうした了解の下で、魚類の「生殖巣」の性決定機構を考えると、多様な性決定機構を持つ魚類も、生殖巣の組織構築の上では、精巣・卵巣ともに極めて普遍的な構造を持っていることが解る。精巣・卵巣共に生殖細胞とその支持細胞からなる「区画」即ち、細精管と卵胞により構成されており、それらの間に間質がある。そして、細胞レベルでみると、生殖巣の性分化の問題は究極的には始原生殖細胞と生殖細胞支持細胞の性決定の仕組みとその両者の関係という問題に還元できる。つまり、時間的・空間的な発現調節機構はその魚の生殖戦略に応じて異なっているにせよ、そこで発現される生殖巣組織の性分化の細胞レベルでの仕組みは魚類、あるいは脊椎動物全般に普遍的なものであることは十分想定可能である。

ここでは、以上のような考え方の下で性決定機構の普遍性を意識して行ってきたメダカ (*Oryzias latipes*) の生殖巣の性分化過程についての研究結果を概説し、その事実から推論できる性決定機構についての考え方を紹介する。さらに、魚の性的人為的制御方法の可能性についても触れる。

### 1 メダカの生殖巣の性分化過程

メダカの生殖巣はほとんどの脊椎動物と同様に始原生殖細胞と体腔上皮細胞から構成される。始原生殖細胞は神経胚後期には、多核の周縁質と内胚葉の間の腔所にあるが、やがて消化管の形成と共に、側板中胚葉と外胚葉との間に移動する。側板は内外 2 層に分かれ、両者の間に体腔が出現するが、その際始原生殖細胞は外側板に取り込まれ、体腔形成の形態形成運動の進行につれて背側腸管膜部へその位置を変える。メダカでは、側板から体腔に突出する形で生殖巣原基が形成される (図 1)。その時点での生殖巣原基の構造 (HAMAGUCHI 1982a)、その中に含まれる生殖細胞数 (QUIRK and HAMILTON 1973) には顕著な雌雄差は認められない。

メダカの生殖巣の性分化過程で最も早く認識できることは、生殖細胞の増殖動態の雌雄差である。生殖巣原基形成部位への移動過程にある始原生殖細胞は殆ど増殖しないが、生殖巣原基に納まった後にその増殖が始まる。その際、雌の増殖率は雄より高く、孵化の時点で雌は雄の2～3倍の生殖細胞数を有している。雌では孵化後も生殖細胞の増殖は継続し、生殖細胞数は増加し続けるが、雄では孵化後10日余り（25℃で飼育した場合：以下も同じ）増殖が停止している期間がある（SATO and EGAMI 1972; HAMAGUCHI 1979, 1982a）。さらに、雌では、孵化の時点で減数分裂に移行する細胞（卵母細胞）が出現する。一方、雄で減数分裂が始まるのはずっと遅れ、孵化後数十日を経過した後である。つまり、減数分裂への移行の時期の違いが、メダカでの性分化の第2の指標となる（図2）。

以上の2つの分化指標は、脊椎動物一般に認められるもので、哺乳類や両生類でも同様の現象が報告されているが、メダカでは孵化の時点で生殖細胞の細胞内小器官の超微形態に雌雄差が認められる。脊椎動物、無脊椎動物を問わず多くの動物では、生殖細胞に特有のオルガネラ（NUAGE：その他いろいろ名前でも呼ばれることがある）が存在することが知られて

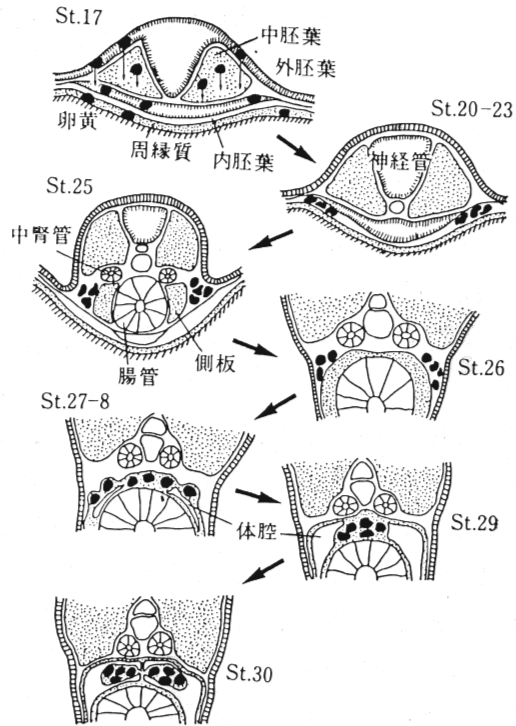


図1 始原生殖細胞の移動経路と生殖巣の形成過程。

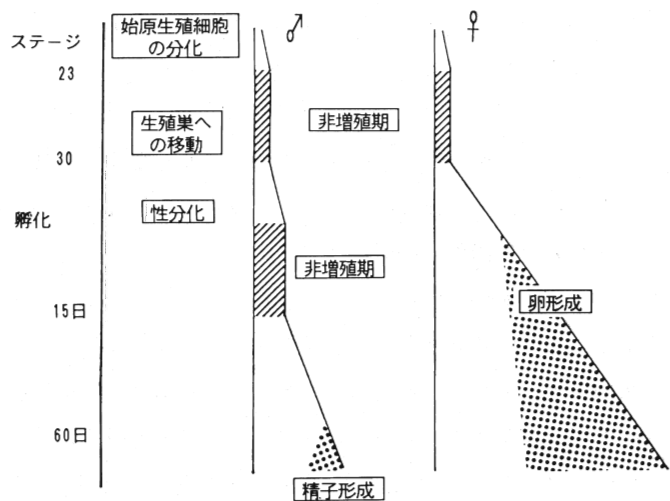


図2 メダカの生殖細胞の増殖動態。

いる。メダカではその形態に“紐状”と“雲状”の2型があり、さらにその両者の中間型も存在する。孵化直後の稚魚の卵原細胞と精原細胞中のNUAGEの形態を比べると、その紐状・雲状の存在比に顕著な差が認められることが判明している (HAMAGUCHI 1982b, 1985, 1987)。NUAGEの生理的機能がはっきりしない時点でその存在比の性差の意義は不明であるが、一般的な超微形態上は区別できない雄と雌の生殖細胞の間に少なくともこの時点で違いがあることになる。特に、始原生殖細胞と精原細胞の間に違いがあるという事実が、増殖動態としてはそれほど積極的な分化をしているようには見えない雄の生殖細胞もこの時点ですでに雄方向への分化の第1歩を踏み出していることを意味するとしたら、興味深い (濱口 1990)。

哺乳類の生殖巣の性分化の最も早い指標として知られるのは、生殖巣の組織構築上の変化、具体的には雄で細精管形成の形態形成が始まることであるとされている。哺乳類では、生殖細胞の挙動はメダカと同様の経過をたどるが、時間的には細精管形成が先行する。しかし、メダカで生殖巣としての組織構築が始まるのは、生殖細胞の性分化より遅れる。雌では卵母細胞が減数分裂の複系期に至ると(孵化後10日頃)その卵母細胞の回りでは濾胞形成が始まる。しかし雄で精巣としての組織構築が始まるのは、ずっと遅れ孵化後数十日後になる (KANAMORI *et al.* 1985; HAMAGUCHI 1987)。

以上述べたことに加え、細胞表面の糖鎖を認識するレクチンを分化マーカーとして性分化を細胞レベルで検討することができることが判明してきた。これまで13種のレクチンを試みたがBPAとSBAの2種が、生殖細胞・体細胞の性に異なる結合性を示すことが分かった (柴田・濱口) \*。レクチン結合性という指標では、生殖細胞では雌の方が早く性に伴う特徴が出現する。一方体細胞としての特徴は雄で精巣の組織形成が進むのと同調して発現されることが判った (松沼ら\*; HAMAGUCHI 1992)。

これらの分化指標の出現を発生ステージの進行に従って整理し、哺乳類の結果と比較したのが図3である。生殖細胞について言えば、哺乳類とメダカでその性分化過程は殆ど共通で、ただ一つの顕著な違いは体細胞の組織構築の時期であるということが解る。生殖巣の分化過程で、生殖細胞と体細胞の間には当然相互作用があり、哺乳類では、性決定遺伝子が発現するのは体細胞で、それによって細精管が作られることが生殖細胞の精原細胞への分化を誘導する、一方雌では細精管が作られないことによって生殖細胞は卵原細胞に分化すると考えられるが、メダカでは、生殖細胞・体細胞共に雄型にも雌型にも分化できる能力を保持しており、それらが分化する過程で両者の間に相互作用があることは確かであるが (SHIBATA and HAMAGUCHI 1988)、正常発生過程で雄への分化の最初の引き金がどのように引かれるかは、現時点での想定は難しい (図4)。

---

\* 未発表資料

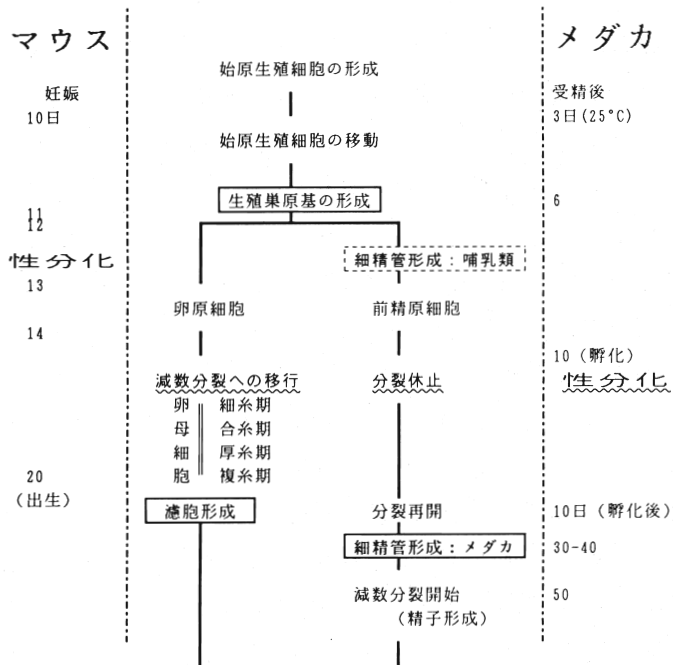


図3 生殖巣の性分化過程での諸「出来事」のマウスとメダカの比較. 細精管の形態形成の時期以外は、両者はほぼ同様な経過で性分化することが分かる.

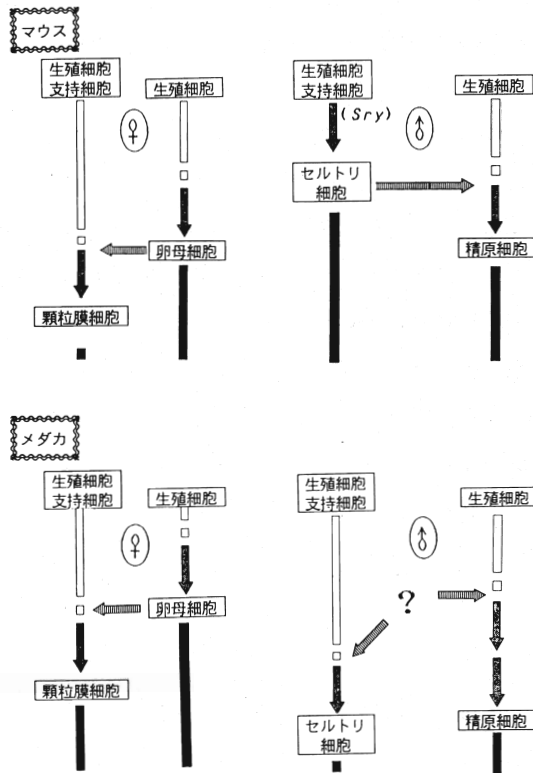


図4 生殖細胞と生殖細胞支持細胞の性分化過程. ➡は細胞間相互作用を示す.

## 2 性分化の遺伝的制御

多くの動物で性が性染色体構成によって決まることが知られている。つまり、「Y (W) 染色体上の精巢 (卵巢) 決定遺伝子, もしくは, X (Z) 染色体上の遺伝子量が性決定プロセスの引き金を引く」と考えられている。そして近年哺乳類のY染色体上の性決定遺伝子としてSryがクローニングされた (SINCLAIR *et al.* 1990)。しかし, Sryは性決定にいたる遺伝子カスケードの最初の遺伝子であり, そのカスケードを構成する遺伝子についての脊椎動物での知識は極めて限定されたものにとどまっているのが現状である。哺乳類を含め多くの動物では生殖巣を構成する生殖細胞・体細胞共に性的両能性があることから, 生殖細胞・体細胞の性決定カスケードの下流を構成する遺伝子は常染色体上にあることが想定できる。EICHER and WASHBURN (1986) はマウスの精巢への分化, 卵巢への分化の両者の分化にかかわる遺伝子カスケード (TdとOd) を想定し, 性染色体上の遺伝子によってその両者の始動時期が調節される結果として生殖巣の性決定が起こるという仕組みを提案している (図5)。そして, 亜種間雑種個体の性分化の遺伝的解析から, 性決定に関与する少なくとも3つの常染色体上の遺伝子の存在を示し, それらはTdかOdのどちらかのカスケードを構成していると推定している (EICHER 1988)。

メダカでも, 先に述べたように, 生殖巣性分化過程での生殖細胞・体細胞の挙動は, 基本的には哺乳類と同様である。ただ, 精巢の組織構築の開始時期は明らかに異なっている。そのことを考慮すると, メダカの性決定カスケードは, 図5に示すようなものになると考えられる。メダカでは現時点では哺乳類のSryに相当する遺伝子は同定されていない。しかし, 近年, メダカでも哺乳類と同様に性

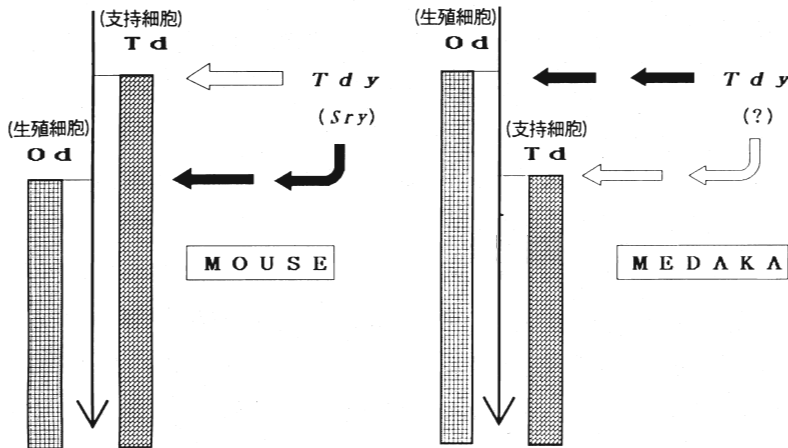


図5 マウスではY染色体上の精巢決定遺伝子 (Tdy : Sry) によって, 生殖細胞支持細胞でまず精巢への分化の遺伝子カスケード (Td) が発動すると考えられる。また, Tdyは生殖細胞で雌方向への分化の遺伝子カスケード (Od) が発動するのを抑制する働きもあると想定される。一方, メダカではOd, Tdカスケードの発動の順序が哺乳類と異なり, Tdの発動は遅れる。メダカのTdyがいかなるもので, どのように働いているのかは今後の問題である。 ⇨発動を誘起, ⇨発動を抑制。

決定にかかわる複数の遺伝子が常染色体上に存在することを示唆する結果が得られている (HAMAGUCHI and SAKAIZUMI 1990, 1991).

メダカでは、北日本・南日本・東韓・中国西韓の4地域集団が遺伝的に区別できることが知られている。メダカとハイナンメダカ (*Oryzias curvinotus*) を種間交配すると、その交配方向によらずF1では雌雄がほぼ1:1で出現し、雑種雌は2nの卵を生むが、雄は精子変態がうまく行かず不稔になる。しかし、東韓集団のメダカの雌とハイナンメダカの雄を交雑すると、その雑種第1代はその性染色体構成によらずすべて雌となった。つまり、東韓集団のメダカのX染色体もしくは常染色体上にはハイナンメダカのY染色体上の性決定遺伝子の発現を阻害する遺伝子が存在すると推論できる。東韓メダカと性染色体にマーカー遺伝子の乗っている南日本集団のメダカとのF1雑種個体、およびその戻し交配して得られた個体とハイナンメダカの雄とを掛け合わせて得られた種間雑種の性比の解析は、その性決定機構に関与する遺伝子は常染色体上に複数あることを示した。これらの遺伝子がどのように性決定機構に関与しているのかは不明であるが、恐らくはTDもしくはODカスケードを構成する遺伝子であろうと考えられる。

### 3 魚の性の人為的制御の可能性

以上述べた性決定機構に関する知見に基づいて魚の性を人為的に制御する方法はいくつか考えられる。まず第1は薬理学的手法であり、性ステロイドを発生過程の魚に投与する方法である。メダカでは、山本が餌に混ぜて性ステロイドを稚魚に投与することにより、雄から雌、雌から雄の両方向の性転換が可能であることを示して以来、いろいろな目的での性転換が実際に行われている (YAMAMOTO 1969)。ステロイドホルモンの投与方法としては、卵を性ステロイドを含む水で保持するだけでも可能であることが解り、実際の操作自身はかなり簡便になっている。メダカ以外の魚でも行われているが、新たな魚種に適用する際には投与量・投与期間など事前に検討する必要があることはいうまでもない。性ステロイドによって性転換できることと、性決定機構へのステロイドホルモンの関与の問題は別の問題として考えられるべきであるが、その両者の関係を明らかにすることは、性決定機構の解明にとって一つの鍵を提供するものである可能性がある。その意味では性ステロイドによる性転換の機序は興味深い未解明な問題である。

第2の方法は、単為発生を利用する方法である。魚類は、比較的容易に未受精卵の人為的付活が可能であるし、近年はいわゆるヘルトヴィッチ効果を利用しての紫外線照射精子による“受精”を利用して効率の良い人為的付活が行われている。ただし、この方法では、特定の魚種について任意に雄、あるいは雌を“作る”ことはできず、その性染色体構成がホモの個体のみ得ることが可能である。

第3の方法は、将来の可能性という意味の方法である。性決定プロセスはいずれにしても複数の遺伝子が関与するカスケードであることがかなりの蓋然性を持って推定されている。カスケードを構成する遺伝子に、種内もしくは種間で多型が存在し、その組み合わせ次第で遺伝子間の“不適合”を生じさせることは、可能性として考えられる。マウスの亜種間雑種、また、メダカの種間雑種でのXY雌の出現は、そのような例であると見なせる。したがって、性決定に関与する遺伝子の解析が進めば、いろいろな系統の魚を交雑することでその子孫の性の制御することが出来る可能性がある。

## 文 献

- EICHER, E. V. (1988) Autosomal genes involved in mammalian primary sex determination. *Phil. Trans. R. Soc. Lond., B*, **322**, 109–118.
- EICHER, E. V. and WASHBURN, L. L. (1986) Genetic control of primary sex determination in mice. *Ann. Rev. Genet.*, **20**, 327–360.
- HAMAGUCHI, S. (1979) The effect of methyltestosterone and cyproterone acetate on the proliferation of germ cells in the male fry of the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo IV*, **14**, 265–272.
- HAMAGUCHI, S. (1982a) A light- and electron- microscopic study on the migration of primordial germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*. *Cell Tissue Res.*, **227**, 139–151.
- HAMAGUCHI, S. (1982b) Ultrastructural aspects of the sex- differentiation of germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*. *Medaka*, **1**, 21–22.
- HAMAGUCHI, S. (1985) Changes in the morphology of the germinal dense bodies in primordial germ cells of the teleost, *Oryzias latipes*. *Cell Tissue Res.*, **240**, 669–673.
- HAMAGUCHI, S. (1987) The structure of the germinal dense bodies (nuages) during differentiation of the male germ line of the teleost, *Oryzias latipes*. *Cell Tissue Res.*, **248**, 375–380.
- 濱口 哲 (1990) 生殖細胞の分化. 江上信雄ほか編 メダカの生物学. 東京大学出版会, 東京, 7–27.
- HAMAGUCHI, S. (1992) Sex differentiation of germ cells and their supporting cells in *Oryzias latipes*. *Fish Biol. J. Medaka*, **4**, 11–17.
- HAMAGUCHI, S. and SAKAIZUMI, M. (1990) Sex reversal in interspecific hybrids between the east Korean population of *Oryzias latipes* and *O. curvinotus*. *Zool. Sci.*, **7**, 1057.
- HAMAGUCHI, S. and SAKAIZUMI, M. (1991) Autosomal genes involved in primary sex determination in the teleost, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, **8**, 1126.
- KANAMORI, A., NAGAHAMA, Y. and EGAMI, N. (1985) Development of the tissue architecture in the gonads of the medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, **2**, 695–706.
- QUIRK, J. G. and HAMILTON, J. B. (1973) Number of germ cells in known male and known female genotypes of vertebrate embryos (*Oryzias latipes*). *Science*, **180**, 963–964.
- SATO, N. and EGAMI, N. (1972) Sex differentiation of germ cells in the teleost, *Oryzias latipes* during normal embryonic development. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **28**, 385–395.
- SHIBATA, N. and HAMAGUCHI, S. (1988) Evidence for the sexual bipotentiality of spermatogonia in the fish, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool.*, **245**, 71–77.
- SINCLAIR, A. H., BERTA, P., PALMER, M. S., HAWKINS, J. R., GRIFFITHS, B. L., SMITH, M. J., FOSTER, J. W., FRISCHAUF, A. M., LOVELL-BADGE, R. and GOODFELLOW, P. N. (1990) A gene from the human sex-

determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, **346**, 240–244.

YAMAMOTO, T. (1969) Sex differentiation. In *Fish Physiology* Vol. 3. eds. HOAR, W. S. and RANDALLS, D. J., Academic Press, London, 117–175.