

# 魚類性決定遺伝子の収斂進化

## Convergent evolution of fish sex-determining genes

竹花 佑介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>長浜バイオ大学バイオサイエンス学部アニマルバイオサイエンス学科

<sup>2</sup>長浜バイオ大学ゲノム編集研究所

Yusuke Takehana<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Bio-Science, Faculty of Bio-Science, Nagahama Institute of Bio-Science and Technology

<sup>2</sup>Genome Editing Research Institute, Nagahama Institute of Bio-Science and Technology

### 要旨

脊椎動物において魚類は特に多様な性決定機構をもつことが知られている。なかでもメダカ属魚類では、性決定遺伝子 *Dmy* の発見を契機に性分化経路が解明され、さらに近縁種がそれぞれ異なる性決定機構をもつという、著しい多様性が明らかになってきた。また、近年はゲノム研究の進展によって多くの魚種から性決定遺伝子が同定されつつある。これらの成果から、TGF- $\beta$  シグナル関連遺伝子や特定の転写因子が何度も独立に性決定機能を獲得してきたことが判明した。そこで本稿では、筆者らのメダカ属魚類における研究例を中心に、魚類の性決定機構とその多様化メカニズムについて現在の知見を概説する。

Among vertebrates, fish have particularly diverse sex-determination mechanisms. The discovery of the sex-determination gene *Dmy* in the medaka led to the elucidation of the conserved sex differentiation pathway and the remarkable diversity of sex determination mechanisms in closely related species. They have both XY and ZW sex determination systems, and their sex chromosomes and sex-determining genes differ among species. In addition, recent advances in genome sequencing technologies led to the identification of sex-determining genes in many fish species. These studies indicate that TGF- $\beta$  signaling factors and specific transcription factors have repeatedly and independently acquired sex-determining functions. Here, I review the current knowledge on the diverse sex-determination mechanism in fishes, especially in the medaka fishes.

### 1. はじめに

「性決定」とは、未分化生殖腺が精巣と卵巣のどちらに分化するかを決定する段階であり、その後の「性分化」によって精巣や卵巣が形成される。これらの過程により、最終的にオス・メスで異なる表現型、すなわち性的二型が生じる。しかし、哺乳類が1億年以上にわたって共通の性決定遺伝子 *Sry* を使

い続けてきたのと対照的に、哺乳類以外の脊椎動物は分類群によって異なる性決定機構を示し、特に魚類には著しい多様性が認められる。なかでもメダカ属魚類では、近縁種それぞれが異なる性染色体や性決定遺伝子をもつことから、性決定機構が種間で頻繁に交代してきたことが明らかになってきた。近年、これら魚類を用いた研究から、性決定遺伝子のレパートリーやその多様化機構を理解する上で重要な手がかりが得られつつある。

## 2. メダカの性決定遺伝子 *Dmy* と性分化経路

哺乳類の *Sry* に次ぐ 2 例目の性決定遺伝子として、2002 年に日本のメダカ種群 (*Oryzias latipes* および *O. sakaizumii*) から *Dmy* が発見された<sup>1)</sup>。*Dmy* は Y 染色体特異的な遺伝子であり、その機能欠損変異をもつ XY 個体がメスに性転換し、*Dmy* を導入した XX 個体がオスに性転換することから、そのオス決定機能が証明された。また、*Dmy* は DM ドメインをもつ転写因子をコードし、常染色体に存在する *Dmrt1* の重複と転座によって生じた Y 特異的のパラログである。そのため、SRY と同様に、DMY も下流遺伝子の転写制御によって精巣分化を開始させることが予想された。この発見が契機となり、哺乳類ほど詳細ではないが、これまでにミナミメダカ (*O. latipes*) でも図 1 のような性分化経路が明らかにされてきた<sup>2)</sup>。

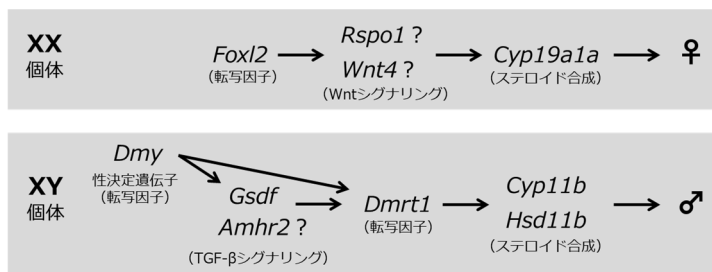


図 1. ミナミメダカにおける性分化経路

メダカ生殖腺における最初の形態的性差は生殖細胞の数に表れ、XX 個体では孵化直前から活発に増殖するのに対し、XY 個体ではほとんど増殖しない。*Dmy* はこのような形態的な違いが明らかになる直前に、XY 個体の生殖腺体細胞で発現し始める。*DMY* はセルトリ細胞前駆体において、TGF-β ファミリーのリガンド遺伝子である *Gsdf* や、転写因子をコードする *Dmrt1* の発現を活性化する。これらの因子が、生殖細胞の増殖制御や精巣分化に関与する他の遺伝子の活性化に関与すると考えられている。また、TGF-β ファミリーに属する抗ミュラー管ホルモン (AMH) シグナルも、生殖細胞の増殖制御を介して精巣分化への関与が示唆されているが、GSDF や DMRT1 との関係は不明である。孵化後一ヶ月頃になると、分化したセルトリ細胞は生殖細胞やライディッヒ細胞とともに精細管構造を形成し、やがて精子形成が開始される。ライディッヒ細胞におけるステロイド代謝酵素遺伝子 (*Cyp11b* や *Hsd11b*) の発現は、テストステロンから活性アンドロゲンである 11-ケトテストステロン (11-KT) への変換を促進し、オスの表現型を誘導する。しかし、精子形成に 11-KT は関与しない。

一方、*Dmy* が存在しない XX 個体では、孵化直後から転写因子をコードする *Foxl2* が生殖腺体細胞で発現し始め、顆粒膜細胞や莢膜細胞の分化に関与する下流遺伝子が活性化すると考えられている。また、生殖細胞は孵化直後から減数分裂に移行し、卵母細胞はやがて支持細胞に取り囲まれて卵濾胞を形成する。莢膜細胞でアロマターゼ遺伝子 *Cyp19a1a* が発現すると、テストステロンが 17β-エストラジオール (E2) に変換される。E2 は初期の卵形成には関与しないが、メスの表現型を誘導すると同時に、卵巣構造を維持するのに必要である。

### 3. メダカ属魚類における性決定遺伝子の多様性

メダカ (*Oryzias*) 属魚類は東南アジアを中心に 35 種程度が知られている。*Dmy* の発見後、メダカ近縁種においてその共通性が調べられ、*Dmy* はメダカ種群 (*O. latipes*、*O. sakaizumii* および *O. sinensis*) とハイナンメダカ (*O. curvinotus*) の共通祖先で生じた進化的に新しい遺伝子であることが判明した<sup>3)</sup> (図 2)。言い換えれば、他の近縁種が別の性決定遺伝子をもつことが示唆されたことになる。そこで筆者らはこれらのメダカ近縁種について、遺伝学および細胞遺伝学的手法によってその性決定様式や性染色体を解明してきた<sup>4)~6)</sup>。近年はゲノム解析の進展によって容易に性染色体を特定できるようになり<sup>7)</sup>、これまでに *Dmy* をもたない 16 種について性決定様式と性染色体が特定された。これにより、メダカ属では XY 型が多数であるが、ZW 型の性決定様式も存在し、性染色体も種ごとに異なるという、著しい多様性が明らかになった。

さらに、これら性染色体が特定された 16 種のうち 5 種については、性決定遺伝子 (候補含む) が特定され、そのうち 2 種については機能喪失実験や機能獲得実験によってその性決定機能も証明されてきた。ルソンメダカ (*O. luzonensis*) で同定された *Gsd<sup>f</sup>* は、Y 染色体上に位置するオス決定遺伝子として機能する<sup>8)</sup>。本種では、*Gsd<sup>f</sup>* の対立遺伝子は X 染色体と Y 染色体の両方に存在するが、*Gsd<sup>f</sup>* と呼ばれる Y 対立遺伝子は *Gsd<sup>f</sup>* よりも早い時期に未分化生殖腺で発現し、この *Gsd<sup>f</sup>* を遺伝子導入すると XX 個体がオスに性転換する。また、インドメダカ (*O. dancena*) で同定された *Sox3<sup>y</sup>* も、X 染色体と Y 染色体の両方に存在するが、Y 染色体特異的なエンハンサーの獲得によって *Sox3<sup>y</sup>* のみが未分化生殖腺で発現する<sup>9)</sup>。さらに、*Sox3<sup>y</sup>* の機能欠損や機能獲得によって性転換が生じることから、本種におけるそのオス決定機能が証明された。その後、*Sox3* はマーモラタスメダカ (*O. marmoratus*) やプロファンディコラメダカ (*O. profundicola*) の性決定遺伝子座からも発見された<sup>9)</sup>。インドメダカ同様、Y 特異的エンハンサーがオス決定機能をもたらしたと予想されるが、エンハンサー間に相同性が認められないことから、それぞれの *Sox3* は独立に性決定機能を獲得したと考えられる。さらに、最近のゲノム解析から、エバーシメダカ (*O. eversi*) が XY 型の性決定様式をもち、その性決定遺伝子座に *Amh* が存在することも明らかになった<sup>7)</sup>。後述するが、*Amh* は他の魚類において繰り返し性決定遺伝子に進化してきたことから、本種でもこの遺伝子が性決定機能を獲得した可能性が指摘されている。

### 4. 性分化経路における性決定遺伝子の役割

メダカ、ルソンメダカおよびインドメダカの 3 種については、それぞれ異なる性決定遺伝子 (*Dmy*、*Gsd<sup>f</sup>*、*Sox3<sup>y</sup>*) をもつが、いずれにおいても *Gsd<sup>f</sup>* がオス分化に関与するという、性分化経路における共通性も明らかにされている。上述のように、メダカでは *DMY* が *Gsd<sup>f</sup>* の転写活性化に関与することが知

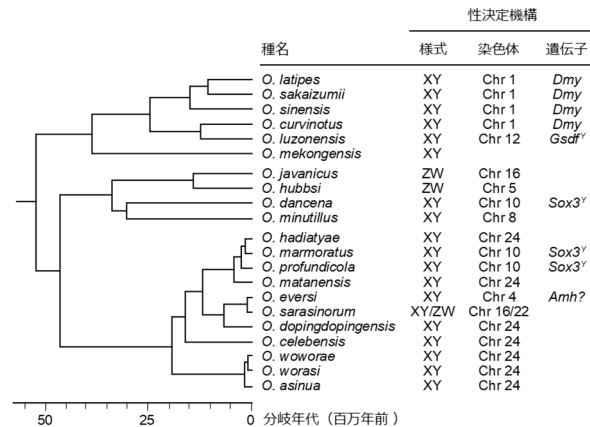


図 2. メダカ (*Oryzias*) 属魚類における性決定機構の多様性

られている。インドメダカでも、*Sox3<sup>Y</sup>* 依存的に *Gsdf* 発現が誘導され、*Gsdf* の機能喪失や強制発現によって性転換することから、*Gsdf* が *Sox3<sup>Y</sup>* 下流の精巣分化遺伝子であることが示されている<sup>9)</sup>。したがって、メダカやインドメダカでは、転写因子である *DMY* や *SOX3<sup>Y</sup>* が *Gsdf* を活性化して精巣分化を導くと考えられる。また、ルソンメダカの Y 染色体では、*Dmy* の制御なしに転写活性が上がるような突然変異が *Gsdf* のシス調節領域に生じている。これにより、ルソンメダカの祖先で *Dmy* が担っていた性決定遺伝子としての役割を、*Gsdf<sup>r</sup>* が後から乗っ取ったと考えられている<sup>8)</sup>。このように、これら 3 種は性決定遺伝子が異なるものの、いずれも *Gsdf* の転写活性を上げると精巣分化が開始される。したがって、これらのメダカ属魚類では、*Gsdf* より下流の性決定の仕組みは種間で保存されており、*Gsdf* そのものの変化、あるいは *Gsdf* の転写制御因子 (*Dmy* や *Sox3<sup>Y</sup>*) の獲得によって、新たな性決定機構が生じてきたと考えられる。

一方、エバーシメダカの性決定遺伝子候補 *Amh* については、X-Y 間における非同義変異が報告されているが<sup>7)</sup>、その機能や性分化経路における役割は不明である。しかし、上述のようにミナミメダカでは *AMH* シグナリングが生殖細胞の増殖に関与することから、これを介して性分化経路の変化をもたらしたのかもしれない。

## 5. 同じ性決定遺伝子の収斂進化

近年のゲノム解読技術の進歩により、メダカ属以外にも多数の真骨魚について性決定遺伝子座が解析され、現在までに 114 種で性決定遺伝子やその候補が報告されている<sup>10)</sup> (表 1)。その中で最も多いのが、TGF- $\beta$  シグナル関連遺伝子である。特に *Amh* 遺伝子は、12 属 33 種の性決定遺伝子として同定されている。また、その受容体遺伝子 *Amhr2* も 9 属 30 種で同定されている。同様に、ルソンメダカで同定された *Gsdf* は 4 属 6 種で、*Gdf6* は 2 属 3 種で報告されている。さらに最近では、別の TGF- $\beta$  受容体遺伝子である *Bmpr1b* や、TGF- $\beta$  シグナルの下流因子である *Id2b* も同定されている。これら TGF- $\beta$  関連遺伝子のほとんど (75 種中 73 種) は、XY 型におけるオス決定遺伝子として用いられており、ZW 型は 2 種のみで認められている。このように、TGF- $\beta$  シグナルに関与する遺伝子が相次いで見つかったことで、これらの遺伝子群が何れも独立に性決定機能を獲得してきたことが判明した。しかし、これらのシグナル伝達系が性決定や性分化にどのように関与するかは、今後の重要な研究課題である。

また、転写因子をコードする性決定遺伝子も *Sox* 関連か *Dmrt1* 関連のいずれかに該当する。そもそも

表 1. これまでに魚類で同定された性決定遺伝子 (候補含む) のリスト

遺伝子名	機能	性決定様式	属数	種数	属名
<i>Amh</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY	12	33	<i>Culaea</i> , <i>Cyclopterus</i> , <i>Esox</i> , <i>Gasterosteus</i> , <i>Hypoatherina</i> , <i>Novumbra</i> , <i>Odontesthes</i> , <i>Ophiodon</i> , <i>Oreochromis</i> , <i>Oryzias</i> , <i>Paralichthys</i> , <i>Sebastes</i>
<i>Amhr2</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY	9	30	<i>Amphilophus</i> , <i>Pangasianodon</i> , <i>Pangasius</i> , <i>Perca</i> , <i>Phyllopteryx</i> , <i>Plecoglossus</i> , <i>Silurus</i> , <i>Syngnathoides</i> , <i>Takifugu</i>
<i>Bmpr1b</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY/ZW	2	2	<i>Clupea</i> , <i>Hippoglossus</i>
<i>Bcar1</i>	性ステロイド	XY	1	1	<i>Ictalurus</i>
<i>Cyp19a1a</i>	性ステロイド	XY	1	1	<i>Pseudocaranx</i>
<i>Dmrt1</i>	転写因子	XY/ZW	4	7	<i>Betta</i> , <i>Cynoglossus</i> , <i>Oryzias</i> , <i>Selenotoca</i>
<i>Fshr</i>	不明	XY	1	1	<i>Solea</i>
<i>Gdf6</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY/ZW	2	3	<i>Astyanax</i> , <i>Nothobranchius</i>
<i>Gsdf</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY	4	6	<i>Anoplopoma</i> , <i>Hippoglossus</i> , <i>Oryzias</i> , <i>Takifugu</i>
<i>Hsd17b1</i>	性ステロイド	ZW	1	5	<i>Seriola</i>
<i>Id2b</i>	TGF- $\beta$ シグナリング	XY	1	1	<i>Arapaima</i>
<i>Paics</i>	不明	ZW	1	1	<i>Oreochromis</i>
<i>Pfpdz1</i>	不明	XY	1	1	<i>Pelteobagrus</i>
<i>SdY</i>	不明	XY	7	13	<i>Hucho</i> , <i>Oncorhynchus</i> , <i>Parahucho</i> , <i>Salmo</i> , <i>Salvelinus</i> , <i>Stenodus</i> , <i>Thymallus</i>
<i>Sox2</i>	転写因子	ZW	1	1	<i>Scophthalmus</i>
<i>Sox3</i>	転写因子	XY	1	3	<i>Oryzias</i>
<i>Sult1st6</i>	性ステロイド	XY	1	2	<i>Thunnus</i>
<i>Zky</i>	不明	XY	2	3	<i>Gadus</i> , <i>Arctogadus</i>

哺乳類 *Sry* の祖先遺伝子は *Sox3* であり、メダカの *Dmy* は *Dmrt1* の重複遺伝子である。上述のように *Sox3* はインドメダカなど3種における XY 型性決定遺伝子であり、*Sox2* はイシビラメの ZW 型性決定遺伝子として報告されている。また、*Dmy* と *Dmrt1* をひとまとめに考えると、メダカを含む4属7種で性決定遺伝子になっていることになる。*Dmrt1* はほとんどの種（7種中6種）で XY 型の性決定様式に寄与するが、一部で ZW 型にも寄与している。これらの成果は、特定の転写因子群（SOX や DMRT1）も進化の過程で何度も独立に性決定遺伝子として獲得されてきたことを示唆している。

## 6. おわりに

メダカ属魚類や真骨魚類の研究から数多くの性決定遺伝子が明らかになり、なかでも特に TGF- $\beta$  シグナルの重要性が見えてきた。これらの成果は、限られた遺伝子群が性決定遺伝子になりやすいことを示唆するのかもしれないが、既知遺伝子の情報によって偏った可能性も考えられる。つまり、同定された性決定遺伝子座に既知の性決定遺伝子や性分化遺伝子が見つければ、短期間で論文発表が可能だからである。実際に筆者らのメダカ近縁種を用いた研究でも、性決定遺伝子座に既知遺伝子が見つからない場合は、候補遺伝子の特定にかなりの時間を要している。今後のゲノム解析やゲノム編集技術の進展により、より偏りのない性決定遺伝子のレパートリーとその多様化機構の解明が期待される。

## 参考文献

- 1) Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., *DMY* is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish., **Nature**. 417, 559–563, (2002).
- 2) Nagahama, Y., Chakraborty, T., Paul-Prasanth, B., Ohta, K., Nakamura, M., Sex determination, gonadal sex differentiation, and plasticity in vertebrate species. **Physiol. Rev.** 1237-1308, (2021).
- 3) Matsuda, M., Sato, T., Toyazaki, Y., Nagahama, Y., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., *Oryzias curvinotus* has *DMY*, a gene that is required for male development in the medaka, *O. latipes*. **Zool Sci**, 159-161, (2003).
- 4) Takehana, Y., Naruse, K., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., Evolution of ZZ/ZW and XX/XY sex-determination systems in the closely related medaka species, *Oryzias hubbsi* and *O. dancena*. **Chromosoma**, 463-470, (2007).
- 5) Takehana, Y., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M. Different origins of ZZ/ZW sex chromosomes in closely related medaka fishes, *Oryzias javanicus* and *O. hubbsi*. **Chromosome Res.**, 801-811, (2008).
- 6) Myosho, T., Takehana, Y., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., Turnover of sex chromosomes in *celebensis* group medaka fishes. **G3**, 2685-2691, (2015).
- 7) Ansai, S., Montenegro, J., Masengi, K.W.A., Nagano, A.J., Yamahira, K., Kitano, J., Diversity of sex chromosomes in Sulawesi medaka fishes. **J. Evol. Biol.**, 1751-1764, (2022).
- 8) Myosho, T., Otake, H., Masuyama, H., Matsuda, M., Kuroki, Y., Fujiyama, A., Naruse, K., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*. **Genetics**, 163-170, (2012).
- 9) Takehana, Y., Matsuda, M., Myosho, T., Suster, M.L., Kawakami, K., Shin-I, T., Kohara, Y., Kuroki, Y., Toyoda, A., Fujiyama, A., Hamaguchi, S., Sakaizumi, M., Naruse, K., Co-option of *Sox3* as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*., **Nat. Commun.** 5, 4157, (2014).

- 10) Kitano, J., Ansai, S., Takehana, Y., Yamamoto, Y., Diversity and convergence of sex determination mechanisms in teleost fish., **Annu. Rev. Anim. Biosci.** (in press).