



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ナイルティラピアの性分化開始機構に関する研究
Author(s)	荒井, 那允
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第16708号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16708
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99553
Type	doctoral thesis
File Information	Tomomitsu_Arai_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：荒井 那允

学位論文題目

ナイルティラピアの性分化開始機構に関する研究

有用水産魚種には雌雄で経済価値の異なる魚種が存在し、これらは水産増養殖産業において、経済価値の高い性を優先的に生産する性統御技術の開発が望まれている。しかし、魚類の性決定様式や性決定遺伝子は多様性を極めており、近縁種であっても共通性は無い。一方で、魚類の性分化過程は異なる魚種間でも共通性がみられるため、この過程の分子機構を明らかにできれば様々な魚種で性統御技術の確立に応用できると考えられる。そのためには、まず魚類に共通して性分化に関与する遺伝子と性決定遺伝子に着目し、性決定から性分化までの分子機構を一貫して説明することができるモデルを確立することが必要である。そこで、本研究は安定した XX/XY 型の性決定様式をもち、魚類の性分化機構研究におけるモデル魚としても有用なナイルティラピア (*Oreochromis niloticus*) の性決定遺伝子 *Y-linked anti-Müllerian hormone (amhy)* および精巢分化誘導遺伝子 *gonadal soma-derived growth factor (gsdf)* に着目し、ナイルティラピアの性分化開始機構を解明することを目的とした。

まず、哺乳類細胞 (HEK293F) で発現させたナイルティラピア組換え Gsdf を孵化後 5-6 日、7-8 日および 9-10 日の XX 雌仔魚に顕微注射し、未分化生殖腺における既知性分化関連遺伝子の発現変化を定量 PCR により調べた。その結果、ステロイド転写酵素遺伝子の *hsd17b1* および *cyp19a1a* の mRNA 量が組換え Gsdf 注射群で有意に低値を示した。ナイルティラピアでは Hsd17b1 がアンドロステンジオン (A4) をテストステロン (T) に変換し、さらにエストロン (E1) を E2 に変換することも示されている。卵巣発現型アロマターゼ Cyp19a1a は T を E2 に転換する酵素であり、卵巣分化はこの E2 により直接誘導される。分子性分化期における *hsd17b1* および *cyp19a1a* の mRNA 量は、XX 雌で有意に高い一方で、XY 雄ではほとんど発現していない。本研究ではこれらの機能を持つ遺伝子が Gsdf に

より発現が抑えられる結果が得られた。したがって、ナイルティラピアの分子的性分化期では *gsdf* により *hsd17b1* および *cyp19a1a* の発現が抑制され E2 産生が阻害される分子機構の存在が示唆された。さらに、*gsdf* と *doublesex and mab-3 related transcription factor 1 (dmrt1)* の関連を明らかにするため、XY 雄の未分化生殖腺および精巣における発現局在をダブル蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによって解析した。その結果、XY 雄未分化生殖腺では、*gsdf* は始原生殖細胞 (PGCs) に接する体細胞に発現していたのに対し、*dmrt1* は PGCs に接していない体細胞全体に発現していた。*gsdf* および *dmrt1* の陽性シグナルは異なる細胞で検出され、共局在は確認できなかった。精巣では、*gsdf* は A 型精原細胞に接するセルトリ細胞に発現しており、*dmrt1* は A 型精原細胞に接するセルトリ細胞および B 型精原細胞のシスト周縁のセルトリ細胞に発現していた。両遺伝子は精巣白膜近傍の一部のセルトリ細胞で共局在の発現が観察されたが、大部分では別々の細胞で発現していた。以上より、*gsdf* と *dmrt1* はそれぞれ独立した経路で精巣分化を誘導すると考えられた。

次に、昆虫細胞 (S2) で発現させた組換え *Amhy* を分子的性分化期の孵化後 4-5 日、5-6 日、7-8 日および 9-10 日の XX 雌に顕微注射し、未分化生殖腺の既知性分化関連遺伝子 mRNA 量を調べた。その結果、孵化後 4-5 日の *cyp19a1a* の mRNA 量が対照群比較して有意に低値を示した。このことから E2 産生の抑制機構が示唆されたが、組換え *Gsdf* 顕微注射ほどの発現抑制はみられなかったことから別経路の存在が示唆された。さらに、*amhy* の下流遺伝子探索のために孵化後 4-5 日の対照群と組換え *Amhy* 注射群を用いて RNA-seq 解析を行った。その結果、HISAT2 および STAR の 2 通りのマッピングで共通する 30 の発現変動遺伝子 (DEGs) が得られた。この DEGs の *in vivo* における発現動態を孵化後 5-10 日の遺伝的雌雄で経時的に調べたところ、*wnt5a*、*atr*、*msl3*、*ralgds*、*ps1*、*myo9a*、*trbf2*、*ezh2*、*bahcc1b* および *sox6* で性的二型性発現を確認した。

以上本研究では、ナイルティラピアの精巣分化に関わる 2 つの遺伝子 *gsdf* および *amhy* に着目して、性分化開始機構の解明を目的に実験を行った。その結果、*gsdf* と *dmrt1* の発現は分子的性分化期の未分化生殖腺では共局在しないことが明らかとなり、*gsdf* と *dmrt1* がそれぞれ独立した経路で精巣分化を誘導することが示唆された。また、組換え *Gsdf* の顕微注射実験では *hsd17b1* および *cyp19a1a* の発現を抑制し E2 産生を阻害する機構の存在を *in vivo* で初めて示すことができた。さらに、RNA-seq 解析では、*amhy* の下流遺伝子として新たに *wnt5a*、*atr*、*msl3*、*ralgds*、*ps1*、*myo9a*、*trbf2*、*ezh2*、*bahcc1b* および *sox6* を同定し、それらの性分化への関与を示唆した。

本研究は発見以来その分子機構が明らかにされていなかった *gsdf* の作用機序を明らかにしただけでなく、性決定遺伝子 *amhy* の下流遺伝子を新たに同定した。これらの知見はナイルティラピア性分化開始機構解明に寄与するだけでなく、有用水産魚種の性統御技術開発にも応用でき、増養殖技術の効率化にも寄与できると期待される。