

温度で決まる動物のオスとメスの研究

東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 准教授 みやがわ しんいち
宮川 信一

はじめに

筆者は2018年4月に東京理科大学基礎工学部生物工学科に着任した(写真1)。現在、研究室のセットアップを進めながら、動物の発生と分化、特に性決定・性分化の分子基盤解明を目指して研究を行っている。実験材料は、動物の性決定や生殖戦略の多様性を鑑み、幅広い動物種、例えば、マウスやメダカのように多くの研究者が対象としている動物のほか、ワニやカメなどの爬虫類も対象としている。

本稿では、爬虫類の一風変わった、環境温度で性が決まる仕組みを取り上げるが、そもそも爬虫類は研究室での飼育や繁殖が困難であり、特に日本では研究者人口も少ない。私たちが国内外の多くの共同研究者らの協力のもと、試行錯誤しながら研究を進めてきた。最近私たちはミシシッピーワニをモデルとし

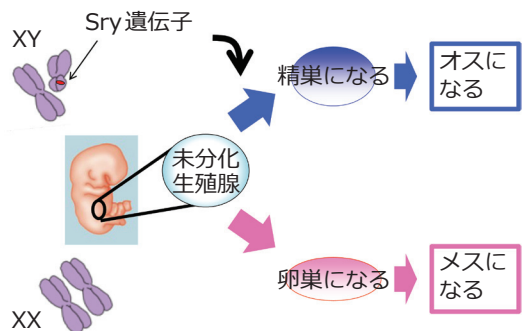


写真1 2018年4月からスタートした研究室メンバー
後列中央が筆者

て、発生中の胚が温度を受容するメカニズムとして、TRPV4というタンパク質が温度センサーとして作用していることを明らかにした。そこで、まず動物の性決定について概説し、その後に研究の背景を踏まえながら、温度で決まる動物の性決定のメカニズムについて話題提供する。

温度で性が決まる動物の不思議

男と女(オスとメス)がどのように決まるのか、という性決定の興味は、昔から多くの研究者を惹きつけてきた。古代ギリシャのアリストテレスも、ヒトの性決定について言及している。しかし、アリストテレスはヒトの性決定は精液の温度に依存すると考えていたようだ。もちろん現在では、ヒトの性は、性染色体(X染色体とY染色体)の組み合わせ、すなわち遺伝的に決まることは、読者の皆さんもご存じのことと思う。XY型の組み合わせを持つと男性、XX型の組み合わせを持つ



未分化生殖腺：オスでは精巣に、メスでは卵巣になる組織

図1 ヒトの性決定の仕組み

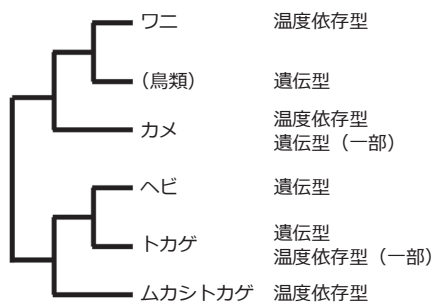


図2 爬虫類の性決定システム

と女性になる(図1)。これは、Y染色体にあるSry遺伝子が男性になるスイッチとなるからであり(具体的には、精巣と卵巣のおおもとである未分化生殖腺を精巣にする)、このスイッチが押されないと女性になる(未分化生殖腺は卵巣となる)。単孔類(カモノハシなど)を除くほぼすべての哺乳類は、Sry遺伝子を持っていたらオス、持っていなかったらメスになる。

Sry遺伝子のように、オスになるか、メスになるかを決定する遺伝子を性決定遺伝子と呼ぶ。このような遺伝的に性が決まる仕組みを「遺伝型性決定」と呼び、無脊椎動物から脊椎動物まで、多くの動物が遺伝的性決定を採用している(このような性染色体の組み合わせのほかにも、染色体の数によって性が決まるなど、さまざまな遺伝型性決定の方法があるが、ここでは割愛する)。

ところが、動物の性は遺伝子で決まることが常識になりつつあった時代、西アフリカに棲息するアガマ科のトカゲ(*Agama agama*)の性が、温度に依存しているという論文が1966年に出版された。この論文はフランス語で執筆されていたこともあり、最初はそれほど注目されなかったが、その後次々と温度で性が決まる動物が報告され始めた。これらの動物では、卵発生中のある特定の時期の温度環境によって性が決まり、この現象は「温度依存型性決定」と呼ばれている。現在では、これまで調べられてきたすべてのワニ、ほとんどのカメ、一部のトカゲ、ニュージーラン

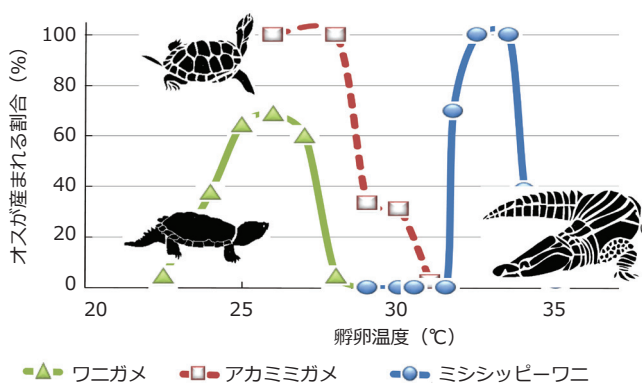


図3 爬虫類の温度依存型性決定

ドでのみ生息するムカシトカゲ(現存する最も原始的な爬虫類といわれている)が温度依存型性決定を行うことが分かっている(図2)。

私たちの身近な動物では、イシガメ、クサガメやニホンヤモリが温度依存型性決定を行うことが知られている。同じ爬虫類でも、ヘビ類では温度依存型性決定を行うものは確認されていない。なお爬虫類の祖先は温度依存型性決定を行っていたと推定されており、遺伝型性決定を行う爬虫類は、後からそのシステムを獲得したらしい。

温度が性決定に影響する時期を温度感受性期といい、それは未分化生殖腺が精巣か卵巣に分かれ始め、分化する時期とおおむね一致する。温度感受性期を過ぎてから孵卵温度を変えても、一度決まった性は変わらない。温度と性比の関係は動物によって異なる。恒温で人工孵卵した場合、例えば、ミシシッピーワニ(アリゲーター; *Alligator mississippiensis*)では卵を33°Cで孵卵すると100%オスが、31.5°C以下および35°C以上では100%メスが産まれる(図3)。一方、アカミミガメ(*Trachemys scripta*)では31°Cで孵卵すると100%メスが、26°Cでは100%オスが産まれる。このことは、動物種ごとに異なる温度を感受し、オスになるかメスになるかが決まることを示している。なお、オス産生温度とメス産生温度の中間で孵卵した場合、卵の性は確率論的にどちらかの性になり、オスとメス

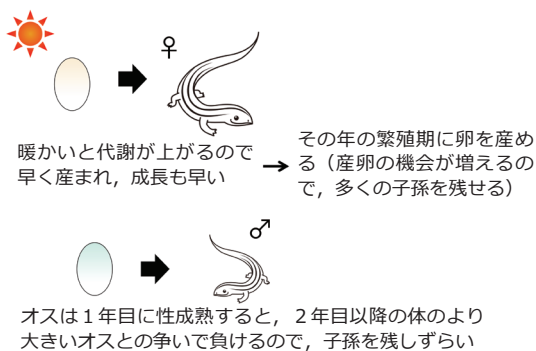


図4 温度依存型性決定のメリット



写真2 故ルイス・ジレット Jr. 先生(左)と井口泰泉先生
サウスカロライナのジレット先生のご自宅にて

両方の性質を持つ（例えば精巣と卵巣の両方を持つような）個体はでてこない。

温度依存型性決定のメリット

ところで、温度依存型性決定は、天候によって温度が変動したり、あるいは何かと話題の地球温暖化の影響によって、性比がオスあるいはメスに偏ってしまうことが予想される。したがって、常に1:1の安定した性比を作り出すことができる遺伝型性決定に対し、温度依存型性決定は明らかに不利であると推測される。チャルノフとブルは、「各性の適応度を最大化する温度条件が異なるのであれば、環境依存型性決定が有利」であると述べている。適応度とは、どれだけ多くの子孫を残せるかという尺度を表す生物学用語である。では、どのような場合に温度依存型性決定の方がより

多くの子孫を残す確率が高くなるのであろうか？

ジャッキードラゴン (*Amphibolurus muricatus*) というトカゲは、暖かいとメス、寒いとオスになる。季節性繁殖（1年に1回繁殖期があり、交尾と産卵を行う）で寿命が短いこのトカゲでは、暖かい条件下で生まれたメスは体が大きく（高温条件では代謝が活発になるために発生速度が速く、早く産まれるために、孵化してから繁殖期までに餌を多く食べることで成長にかけられる時間が長くなる）、より多くの卵を産めるので子孫を残すという点で有利となる（図4）。

一方でオスは、体が大きくなって1年目に性成熟してしまうと、前年に生まれた体のより大きなオスと縄張りやメスを巡って争いになってしまい、怪我をしたり殺されたりしてしまう。したがって1年目は体が小さいまま繁殖に参加せず、2年目から繁殖できるようにしたほうが、結果として多くの子孫を残しやすい（図4）。この仮説は、女性ホルモンや女性ホルモン阻害剤などで性転換させたトカゲ（例えば高温で生まれたオスや、低温で生まれたメス）を作って、通常のトカゲと一緒に野外に放し、実際にどちらのトカゲがより多くの子供を作ったかを数えた実験によって証明された。しかしながらワニのような大型で寿命の長い爬虫類では、孵卵時の温度と体サイズに関して、適応度との関係は不明である。爬虫類のなかでもより原始的なワニやカメの多くが温度依存型性決定システムを保っている理由は、いまだ説明ができていない。

ワニの研究のきっかけ

このような温度依存型性決定は非常にユニークな性決定様式だが、そのメカニズムの詳しい研究はほとんど行われていなかった。現在では次世代シーケンサーという強力な遺伝子解析手法が開発されており、さまざまな

動物で性決定遺伝子が同定されつつある。性決定のトリガーとなる性決定遺伝子を見つけることは、動物の性決定メカニズムを解き明かす一つのモチベーションになっているが、温度依存型性決定を行う動物には性決定遺伝子がない。そもそも、温度依存型性決定のトリガーとは何だろうか？

筆者がワニの研究を始めたきっかけは、当時の研究室の教授とアメリカの研究者との共同研究だった（基礎生物学研究所井口泰泉先生（現横浜市立大学特任教授）とサウスカロライナ医科大学の故ルイス・ジレットJr.先生：写真2）。

当時、ジレット先生は、フロリダ半島のワニの生息数が激減していることに関して、内分泌攪乱物質（環境ホルモン）の影響についての生態調査をしていた。当時はまだ、ワニの遺伝子情報などはほとんどなかったので、私たちの研究室では、遺伝子のクローニングや発現パターンなどを調べたりして、ワニの研究のお手伝いをしていた。そうしてワニの研究の基盤が徐々に整っていくなかで、お手伝いだけでなく、なにかおもしろいことをしたいと考えるようになった。私たちは、環境からの刺激が、動物の性決定・分化や生殖器官の発達等にどのように影響するかを、マウスやメダカ、ミジンコなどの甲殻類を使って研究していた。環境ホルモンも含めて、生物は常に環境から何らかの刺激を受けていて、それらは表現型に影響を及ぼす（これを表現型可塑性という）。温度依存型性決定も、温度環境という刺激で、オスになるかメスになるかという表現型として顕れるので、表現型可塑性という現象のひとつと言える。そこで、ワニの（コントロール実験に使うためのきれいな湖の）卵を余計に準備してもらって、温度依存型性決定の研究を始めることにしたので



写真3 大学院生とワニのサンプリング
右側の写真は生まれた直後のワニの世話をしている

ある。

卵の採取は基本的にはジレット研究室の研究チームにお任せして、筆者は大学院生と、毎年卵が孵化する直前の時期（8月くらい）に1週間から1ヵ月くらい滞在して、サンプリングを行った（写真3）。野生のワニの卵を使っているのでも、遺伝的な偏りが実験の誤差を生まないように複数の巣に由来する多数の卵を使う必要があり、したがって発生段階もまちまちで、直前までサンプリングの予定が立てられない。ようやく取ったサンプルも、アメリカのワニは手厚く保護されているので、組織、DNA、RNAは日本への輸入が禁止されている（もちろん革製品もだめ）。学術用途の実験サンプルとして州や国の輸入許可を申請するのだが、だいたい許可が下りるのは数ヵ月後なので、その年に実験を始められるのは、冬になってからであった。

胚はどうやって温度を感じるのか？

温度依存型性決定の研究にあたって、一番肝心なのは最初の温度感受の起点（トリガー）となる因子を見つけることであった。温度を感受するメカニズムとして、これまでヒートショックプロテインや酵素活性（性ホルモン産生酵素など）、グルココルチコイド（副腎皮質ホルモン）などのストレス応答などが考えられていたが、それでは、それぞれの動物で異なるオスまたはメスになる温度を説明することができない（図3）。



写真4 ワニの卵
右側の写真では卵に薬剤をかけている

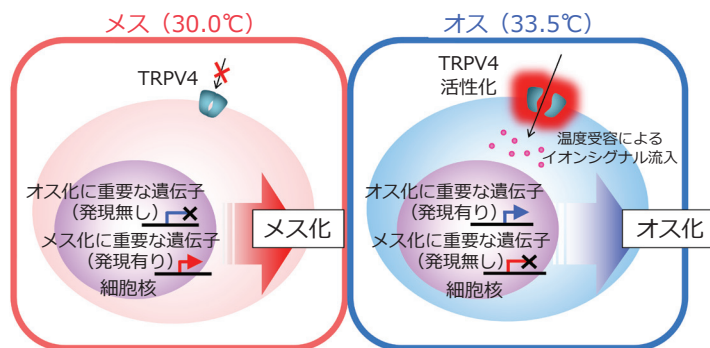


図5 TRPV4タンパク質を介した性決定メカニズム

卵の中の胚は、オスになるあるいはメスになるという特定の温度を感受するメカニズムを持っているはずである。そこで、生体内で特定の温度を感受する温度センサーとして知られるTrpタンパク質に注目した。これは、Trp研究の第一人者である生理学研究所の富永真琴教授が、研究所の同じ建物の一つ上のフロアにいたこととも関係する。筆者らは、富永教授らの助けを借りながら、Trpタンパク質の一つであるTrpv4タンパク質が、ワニのオスを産生する温度付近で活性化されることを見出した。

ところで、残念ながらワニでは遺伝子改変技術はもちろん、器官培養技術もできていなかった。そこで、Trpv4タンパク質が本当にワニの性決定に関与しているかどうか、野生のワニの卵を採取して、薬剤投与実験で確かめることにした(写真4)。ワニの卵に、Trpv4タンパク質の阻害剤あるいは活性化剤を塗布し、オスになる温度とメスになる温度

で卵を育て、数週間後にどちらの性になったかを調べた。その結果、薬剤でTrpv4タンパク質の活性をあげると、オス化に重要な遺伝子(抗ミュラー管ホルモン(Amh)遺伝子やSox9遺伝子)の発現が上昇することが明らかになった。さらに、オスになる温度で孵卵しても、Trpv4タンパク質の阻害剤を塗布すると、メス化(生殖腺が卵巣になり、卵管の発達など)した個体が認められた。これらの結果から、ワニの性決定、特にオスをつくるときには、Trpv4タンパク質が環境温度を感じる実体として、そして性決定のトリガーとして関与すると結論づけた(図5)。

今後の研究

冒頭でも述べたとおり、爬虫類は研究室での飼育が難しく、野外での実験やサンプルに頼る部分が大きいため、温度依存型性決定の詳しいメカニズム解明にはまだまだ時間がかかりそうだ。地球温暖化によって、爬虫類を含めてさまざまな動物の生殖への影響が懸念されていることから、フィールドでの生態学的研究も併せて、今後の研究の進展が期待されている。ワニをモデルにして、ようやく温度依存型性決定のトリガーが見つかったが、そのあとで細胞内でどのような変化が起きるのか、そしてそれがどのように遺伝子発現を変化させるのか、その解析は始まったばかりである。例えば遺伝子発現に関しては、次世代シーケンサーを用いて、オス産生温度あるいはメス産生温度でそれぞれ孵卵した卵から胚をとりだし、遺伝子発現を網羅的に比較解析することで、オスになるあるいはメスに

なるために働いている遺伝子を見つけようとしている。

また、カメなど他の爬虫類でも、ワニと同じシステムが使われているどうかを、調べていく予定である。昨年（2018）の夏は、兵庫県の姫路市立水族館と神戸市立須磨海浜水族園の協力を得て、

合計で2,000個近くのアカミミガメの卵を送っていただいた（写真5、6）。さらにカメ類のなかでもスッポン（*Pelodiscus sinensis*）は例外的に遺伝型性決定を行う（写真6）。近縁な動物種間でも異なる性決定メカニズムを明らかにすることは、性決定の進化的な理解にもつながるだろう。

トカゲはワニやカメよりも柔軟な性決定システムを備えていると推測される。例えばペットとしてよく見かけるフトアゴヒゲトカゲ（*Pogona vitticeps*）は通常遺伝的に性が決まるが、高温条件下では遺伝型によらずメスが多く産まれるようになる。また、同じ種であっても、高地に生息しているか、低地に生息しているかで遺伝型性決定を行うか、温度依存型性決定を行うかを切り替えるというトカゲ（スノースキンク；*Niveoscincus ocellatus*）も報告されている。トカゲはワニやカメよりも成長が早く、生殖サイクルが短い（性成熟にかかる期間が短い）ため、遺伝的な研究を行うためにはカメやワニよりも適しているといえる。ちなみに筆者の研究室ではトカゲの実験はまだしていないが、ペットとしてヒョウモントカゲモドキ（*Eublepharis macularius*）を飼育しており、研究室員の癒やしとなっている（写真7）。ヒョウモントカゲモドキも温度依存型性決定を行うことが知られている。



写真5 研究室に届いたカメの卵
部屋を暗くしているのは、下からライトをあてると右の写真のように胚が確認できるためである

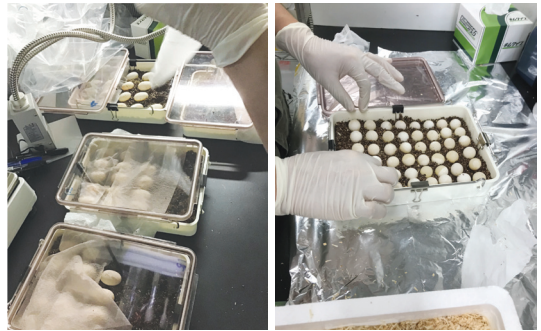


写真6 カメの卵の整理
アカミミガメ（左）とスッポンの卵（右）
スッポンの卵は養殖業者から購入した

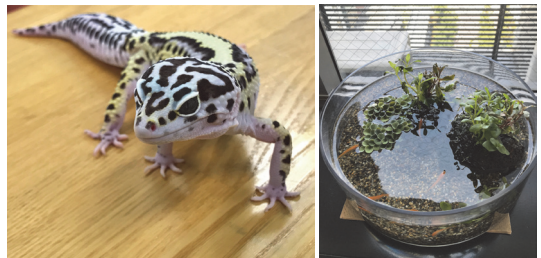


写真7 研究室のペット
ヒョウモントカゲモドキ（左）ほか、研究室にはメダカもいる（メダカは遺伝的に性が決まるが、卵を高温に曝すと、メスがオスに性転換する）

おわりに

性決定の多様性は、多くの種の確立やその繁栄のために大切な分子基盤である。オスになるかメスになるかという、生物にとって最も大切な現象が、なぜ温度という不安定な環境要因によって決まるのか、生態学的、進化的な興味は尽きない。