

科学研究費助成事業「新学術領域研究（研究領域提案型）」 研究概要
〔令和4年度事後評価用〕

令和4年6月30日現在

機関番号：14401
領域設定期間：平成29年度～令和3年度
領域番号：3905
研究領域名（和文）性スペクトラム - 連続する表現型としての雌雄
研究領域名（英文）Spectrum of the Sex: a continuity of phenotypes between female and male
領域代表者 立花 誠（TACHIBANA Makoto） 大阪大学・大学院生命機能研究科・教授 研究者番号：80303915
交付決定額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,196,500,000円

研究成果の概要

性を理解するにあたり、「二項対立的な雌雄」から「連続する表現型（スペクトラム）としての雌雄」へとパラダイムシフトを引き起こす概念を提唱し、2017年度から本領域研究を開始した。遺伝、内分泌、環境要因のそれぞれが、性スペクトラムの基盤形成、細胞・器官での同調、修飾・攪乱を通じて性スペクトラムを成立させるとの理解のもと、そのメカニズムを明らかにする研究を推めた。遺伝要因による性スペクトラムの基盤形成では、ヒストン修飾によるエピゲノム制御の重要性が浮き彫りになった。内分泌要因による性スペクトラムの同調では、これまで知られていなかった性ステロイドの機能を明らかにした。環境要因による性スペクトラムの修飾・攪乱では、温度や栄養環境要因は、代謝経路の変動を介して性スペクトラムに働きかけることを明らかにした。本領域研究の成果はテレビや新聞で大きく取り上げられ、領域発足時には全く馴染みが無かった「性スペクトラム」の概念が、現在では一般社会に普及しつつある。

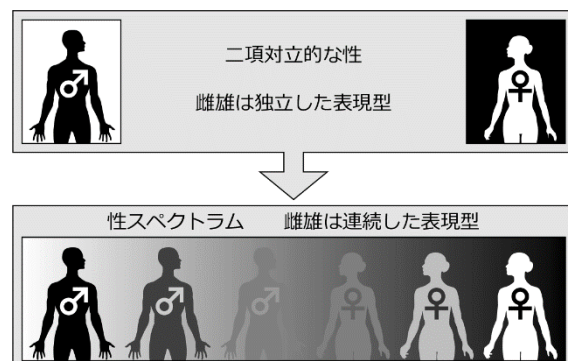
研究分野:生物学(基礎生物学)

キーワード:性

1. 研究開始当初の背景

我が国の性研究は、2004年度発足の特定領域研究「性分化機構の解明」と、2010年度発足の新学術領域研究「性差構築の分子基盤」による強力なサポートによって支えられてきた。このふたつの領域研究により、① 根源的な生命現象である性の決定機構には多様性が存在すること、② 性分化・性差構築の過程では性ステロイドによる内分泌制御が極めて重要な役割を担っていること、③ ほ乳類の性決定機構にはエピジェネティック制御が必須であることなど、性研究分野を世界的にリードする重要な研究成果を得ることができた。

この一連の研究過程では、我々は雌雄を二項対立的な表現型として捉えてきた。しかしそのような観点からは、ヒトの性同一性障害で認められるような個体を構成する器官（細胞）の間での性の乖離、あるいは一部の動物種で観察される温度依存的性決定や性転換などの現象に明快な説明を与えることが困難であった。そこで本領域の主要な研究者が慎重に議論を重ねた結果、「性スペクトラム」の概念を想起するに至った。つまり、雌雄を二項対的に分類するのではなく、連続する表現型（性スペクトラム）として捉えるとの考え方である。



2. 研究の目的

本領域研究者の議論によって導かれた性スペクトラムの特徴は以下である。

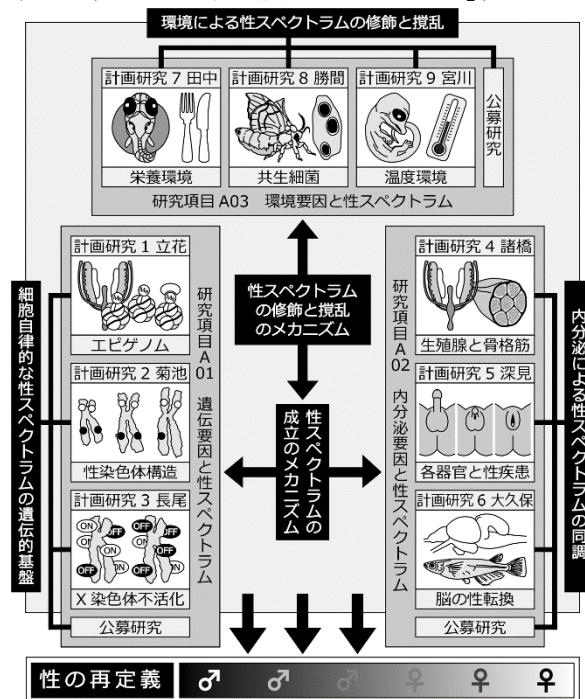
- 1) 性は、スペクトラム上の位置として決まり(定位し)、かつ移動が可能である。
- 2) 性スペクトラム上の位置は、オス化のレベル(強弱)やメス化のレベル(強弱)を示し、種々の指標によって定量的に議論することが可能である。
- 3) 性スペクトラムは、細胞・器官・個体の各階層で成立し、器官の性スペクトラムは細胞の性スペクトラムの総和として、個体の性スペクトラムは器官の性スペクトラムの総和として捉えられる。
- 4) 細胞は、それぞれ独自に性スペクトラム上に定位する能力を有する。そして細胞・器官の性スペクトラムは通常同調するが、乖離することもある。

このような特徴を有する性スペクトラムを理解するためには、性スペクトラムの遺伝的基盤の成立機構、内分泌要因による細胞・器官の間の性スペクトラムの同調の機構、さらに環境要因による性スペクトラムの修飾・攪乱の機構を解明することが重要であるとの観点から、本領域では、遺伝要因、内分泌要因、ならびに環境要因に焦点をあてた研究項目、「研究項目 A01」、「研究項目 A02」、「研究項目 A03」を設定した。これらの要因がどのようにして細胞、器官、個体における性スペクトラム上の位置の定位と移動を制御するかを明らかにすることで、性スペクトラムの制御機構の理解を目指した。

3. 研究の方法

性スペクトラムは、細胞自律的な遺伝的基盤、内分泌要因による細胞・器官間の同調、環境要因による修飾と攪乱のもとに形成される。したがって本領域では、A01「遺伝要因と性スペクトラム」、A02「内分泌要因と性スペクトラム」、A03「環境要因と性スペクトラム」の三つの研究項目を設定した。

研究項目 A01 では、性決定遺伝子のエピゲノム修飾および性決定システムとともに進化する性染色体構造の観点から、性スペクトラムの遺伝的基盤を解明する。研究項目 A02 では、性ステロイドを産生する生殖腺とその標的器官としての骨格筋、脳の解析を行い、内分泌要因による性スペクトラムの同調機構を解明する。研究項目 A03 では、計画研究代表者が独自に見出した性関連環境要因として栄養、共生、温度に焦点を当て、環境要因による性スペクトラムへの影響を明らかにする。さらに、研究項目 A01 と A02 の連携によって、性スペクトラム成立の機構を明らかにする。ついで、この連携に研究項目 A03 が加わり、環境要因による性スペクトラムの修飾と攪乱のメカニズムを解明する。



4. 研究の成果

研究項目 A01「遺伝要因と性スペクトラム」

立花(計画)は、マウスをモデルとしてほ乳類性決定遺伝子のエピゲノム制御に関する研究を進めた。特筆すべき成果は、マウス *Sry* 遺伝子座にはこれまで30年間見つからなかった第2エクソンが存在し、それが性決定に必須であることを見出したことである(Science 2020)。本研究によって、単一エクソン型で既知の翻訳産物である *SRY-S* はタンパク質分解を受ける機能不全因子であること、複数エクソン型で新規の翻訳産物である *SRY-T* はタンパク質分解を受けない真の性決定因子であることが明らかになった。この成果により、「すべてのほ乳類性の *Sry* は単一エクソン遺伝子である」との性分化の教科書の記載が書き換えられることになった。*Sry* のエピジェネティック制御の発見(Science 2013)に続いて *Sry* のゲノム構造を明らかにしたことは、ほ乳類の性分化研究分野における我が国のプレゼンスの向上に大きく貢献した。

加えて立花(計画)は、生殖腺の性スペクトラムの形成におけるエピゲノム制御の役割を明らかにした。

Sry 遺伝子座の H3K9me2 の量がマウスの胎仔期生殖腺の性スペクトラム上の位置を決めるパラメーターであることを示した (PLoS Genet 2017)。すなわち *Jmjd1a* による H3K9 脱メチル化と GLP/G9a 複合体による H3K9 メチル化の拮抗した活性によって、*Sry* の発現レベルがチューニングされる。このチューニングのメカニズムは、胎仔期生殖腺のみならず、初期胚や生殖細胞での遺伝子の発現制御にも働くことも見いだした (Stem Cell Reports 2018, Stem Cell Reports 2020)。XY マウスの生殖腺体細胞において、*Sry* の発現と逆相関して DNA のメチル化が低下することに着目し、その分子機構について解析した。その結果、DNA のハイドロキシメチル化酵素である Tet2 が *Sry* 遺伝子座の能動的な DNA 脱メチル化を触媒していることを明らかにした (Sci Rep 2019)。

菊池 (計画) は、海産魚類の性染色体の起源を明らかにする研究を行った。アジ類のカンパチの性染色体の参照ゲノム配列を作製して関連解析をおこなった結果、カンパチの性はステロイド代謝酵素 *Hsd17b1* をコードする遺伝子上一塩基多型座により決定されているとの新たな事実を発見した (Curr Biol, 2019)。この研究成果は、胎盤を持たない生物ではステロイドが性決定の実行因子であるという説に関する初めての決定的な証拠を提示した。また本論文は、Faculty Opinions 推薦論文にも取り上げられている。さらに、トラフグ属魚類がもつ性決定遺伝子 *Amhr2* は、クサフグ、ショウサイフグ、ナシフグにおいてそのゲノム上の位置が異なることを見出した (PNAS, in press)。この発見により、性決定遺伝子近傍に「オス表現型に関与する遺伝子」(性スペクトラム上の位置定位に関わる遺伝子) が集積してしまったがゆえに、性決定遺伝子は動き回らざるをえなくなったという仮説を提唱した。

長尾 (計画) は、ほ乳類性染色体のヘテロクロマチンの構造と機能に関する研究を進めた。不活性 X 染色体のヘテロクロマチン構造に必要な *Smchd1* の機能を明らかにした。*Smchd1* は、分化の過程で不活性化を維持するために必要であること、不活性 X 染色体全域に渡って形成される抑制型ヒストン修飾パターンの形成に必要なことを明らかにした (Development 2018)。また、深見 (計画) との共同研究により、SMCHD1 の機能喪失変異がヒト疾患の新たな発症要因であることを見出した (Sci Rep 2020)。

研究項目 A02 「内分泌要因と性スペクトラム」

諸橋 (計画) は、ほ乳類細胞の代謝関連遺伝子の性差構築の分子機構を明らかにする研究を進めた。核内受容体型転写因子である Ad4BP がステロイド合成系や解糖系に加え、コレステロール代謝、NADPH 産生系を制御することを明らかにした (Commun Biol 2019)。XY と XX ライディッヒ細胞の遺伝子発現解析から、XY と XX 細胞ではコレステロール代謝に関与する遺伝子発現が異なっており、それが H3K4me3 の分布と相関することを明らかにした (Sci Rep 2021)。さらに骨格筋の性差に着目し、雌雄のエネルギー代謝の性差は性ホルモン非依存的な PFKFB3 遺伝子と女性ホルモン依存的な PDK4 遺伝子の二つによって制御されていることを見出した (Commun Biol 2021)。

深見 (計画) は、ヒトの性疾関連疾患の発症機構を明らかにする研究を進めた。(i) 性分化疾患、生殖機能障害、性成熟疾患を招く新たな遺伝学的異常の発見 (Endocr J. 2021, Am J Med Genet A 2021, Endocr Soc 2021)、(ii) 新規ヒト男性ホルモン (11-oxyandrogen) の生理的および病的意義の解明 (Steroids 2021, Hum Reprod 2020, Endocr J 2018)、(iii) 初期胚の X 染色体不活性化と異数性レスキューの時期の同定 (Front Genet 2020, Hum Reprod 2019)、(iv) 胎児期低栄養が性分化に与える影響の理解 (J Endocr Soc 2022)、(v) 健常小児や胎盤における性ホルモン代謝の解明 (Eur J Endocrinol 2021, Endocr Connect 2021) に関する成果を上げた。

大久保 (計画) は、大久保は、自身が見つけたメス特異的な性ステロイド応答性ニューロン (FeSP ニューロン) に着目し、魚類の性行動パターンと性指向の性スペクトラムを規定する機構の解明に取り組んだ。一連の解析により、生殖腺から放出されたエストロゲンが FeSP ニューロンに届くと、エストロゲン受容体の一種 *Esr2b* を介して神経ペプチド *Npba* やプロスタグランジン受容体 *Ptger4b* などの転写が活性化され、性行動パターンと性指向のメス化と脱オス化が可逆的に進むという機構を見出した (eLife 2019; Curr Biol 2021)。一方、生殖腺から放出されたアンドロゲンには性行動パターンと性指向を可逆的にオス化させる作用があることを見出した (Curr Biol 2021)。これらの結果から、魚類の性行動パターンと性指向の性スペクトラムは、エストロゲンとアンドロゲンの量的バランスに応じて一過性に成立することが明らかとなった。

研究項目 A03 「環境要因と性スペクトラム」

田中 (計画) は、環境因子が生殖腺の性転換をもたらす仕組みについて、メダカをモデルとして研究を進めた。その結果、生殖腺がどちらの性にもなれる分子機構を明らかにした。体細胞では CoA 産生

を介した脂質合成がオス化に必須の遺伝子 *dmrt1* の発現を抑制している。環境要因などによってこの脂質合成が抑制されると遺伝的メスがオス化する (Biol Open 2020)。この発見は、脂質代謝が体細胞に働きかけて生殖腺の性に影響を与えること世界で初めて明らかにした。一方の生殖細胞ではメス化遺伝子 *foxl3* によって卵形成モジュールとメス型減数分裂モジュールが駆動し、*figla* が発現するまで、*fbxo47* や *lhx8b* が精子形成を抑制することが明らかとなった (Dev Biol 2019, PNAS 2020)。この抑制が働かないと卵巣中でも精子様細胞が出現する。これら機構が遺伝的性を示す動物における生殖腺が、環境によって性スペクトラムを示す基盤であることを見出した。

勝間(計画)は、共生細菌ボルバキアがチョウ目昆虫においてオス特異的致死(オス殺し)を誘導するメカニズムの解明を行った。ボルバキア感染胚子を用いた実験から (Biochem Biophys Res Commun 2018)、ボルバキアが細胞質において、オス化と遺伝子量補償を司る Masc タンパク質と相互作用することが示唆された。ボルバキア感染培養細胞を用いた生化学的な解析により、Masc の N 末端に結合する新規ボルバキアタンパク質 Oscar を同定した。Oscar はさまざまなチョウ目昆虫由来の Masc に結合し、プロテアソーム経路による Masc の分解を誘導した。Oscar cRNA を用いたインジェクション実験の結果、Oscar のみでカイコとアワノメイガにおいて完全なオス殺しを誘導することに成功した。これらの結果から、Oscar が追い求めたボルバキアのオス殺し因子であることが判明した(論文投稿中)。

宮川(計画)は、温度受容の分子基盤として、TRP チャネルが普遍的な環境受容因子であることを示した。さらに、温度環境と性分化をつなぐ鍵因子の候補として、パントテン酸及びその代謝経路を同定し、動物に共通して性スペクトラムの基盤を形成する因子であることを示唆するデータを得た。立花(計画)とマウスの外部生殖器形成におけるアンドロゲンシグナルの役割に関する共同研究を行い、共著論文を発表した (Biol Reprod 2021)。

5. 主な発表論文等(受賞等を含む)

原著論文(研究代表者には二重下線、corresponding author には左に*印を付した)

研究項目 A01「遺伝的要因と性スペクトラム」

1. Kabir A, Ieda R, Hosoya S, Fujikawa D, Atsumi K, Tajima S, Nozawa A, Koyama T, Hirase S, Nakamura N, Kadota M, Nishimura O, Kuraku S, Nakamura Y, Kobayashi H, Toyoda A, Tasumi S, *Kikuchi K (2022) Repeated translocation of a supergene underlying rapid sex chromosome turnover in Takifugu pufferfish. **Proc Natl Acad Sci USA** (in press)
2. Maeda R, *Tachibana M (2022) HP1 maintains protein stability of H3K9 methyltransferases and demethylases. **EMBO Rep** 23:e53591
3. Okude G, Moriyama M, Kawahara-Miki R, Yajima S, Fukatsu T, *Futahashi R (2022) Molecular mechanisms underlying metamorphosis in the most-ancestral winged insect. **Proc Natl Acad Sci USA** 119:e2114773119
4. Yoshino T, Suzuki T, Nagamatsu G, Yabukami H, Ikegaya M, Kishima M, Kita H, Imamura T, Nakashima K, Nishinakamura R, Tachibana M, Inoue M, Morohashi K, *Hayashi K (2021) Generation of ovarian follicles from mouse pluripotent stem cells. **Science** 373:eabe0237
5. Miyawaki S, Kuroki S, Maeda R, Okashita N, Koopman P, *Tachibana M (2020) The mouse Sry locus harbors a cryptic exon that is essential for male sex determination. **Science** 370:121–124
6. Kuroki S, Maeda R, Yano M, Kitano S, Miyachi H, Fukuda M, Shinkai Y, *Tachibana M (2020) H3K9 demethylases JMJD1A and JMJD1B control prospermatogonia to spermatogonia transition in mouse germline. **Stem Cell Rep** 15:424–438
7. Jin H, Seki T, Yamaguchi J, *Fujiwara H (2019) Pre-patterning of *Papilio xuthus* caterpillar camouflage is controlled by three homeobox genes: *clawless*, *abdominal-A* and *Abdominal-B*. **Sci Adv** 5:eaa7569
8. *Futahashi R, Yamahama Y, Kawaguchi M, Mori N, Ishii D, Okude G, Hirai Y, Kawahara-Miki R, Yoshitake K, Yajima S, Hariyama T, Fukatsu T (2019) Molecular basis of wax-based color change and UV reflection in dragonflies. **eLife** 8:e43045
9. Hosoi Y, Soma M, Shiura H, Sado T, Hasuwa H, Abe K, Kohda T, Ishino F, *Kobayashi S (2018) Female mice lacking *Ftx* lncRNA exhibit impaired X-chromosome inactivation and a microphthalmia-like phenotype. **Nat Commun** 9:3829

10. Kuroki S, Nakai Y, Maeda R, Okashita N, Akiyoshi M, Yamaguchi Y, Kitano S, Miyachi S, Nakato R, Ichiyanagi K, Shirahige K, Kimura H, Shinkai Y, *Tachibana M (2018) Combined loss of *Jmjd1a* and *Jmjd1b* reveals critical roles for H3K9 demethylation in the maintenance of embryonic stem cells and early embryogenesis. **Stem Cell Rep** 10:1340–1354
11. Kuroki S, Okashita N, Baba S, Maeda R, Miyawaki S, Yano M, Yamaguchi M, Kitano S, Miyachi H, Itoh A, Yoshida M, *Tachibana M (2017) Rescuing the aberrant sex development of H3K9 demethylase *Jmjd1a*-deficient mice by modulating H3K9 methylation balance. **PLoS Genet** 13:e1007034

研究項目 A02「内分泌要因と性スペクトラム」

1. Christianto A, Baba T, Takahashi F, Inui K, Inoue M, Suyama M, Ono Y, Ohkawa Y, *Morohashi K (2021) Sex differences in metabolic pathways are regulated by *Pfkfb3* and *Pdk4* expression in rodent muscle. **Commun Biol** 4:1264
2. Yamashita J, Nishiike Y, Fleming T, Kayo D, *Okubo K (2021) Estrogen mediates sex differences in preoptic neuropeptide and pituitary hormone production in medaka. **Commun Biol** 4:948
3. Nishiike Y, Miyazoe D, Togawa R, Yokoyama K, Nakasone K, Miyata M, Kikuchi Y, Kamei Y, Todo T, Ishikawa-Fujiwara T, Ohno K, Usami T, Nagahama Y, *Okubo K (2021) Estrogen receptor 2b is the major determinant of sex-typical mating behavior and sexual preference in medaka. **Curr Biol** 31:1699–1710
4. *Nagasaki K, Takase K, Numakura C, Homma K, Hasegawa T, Fukami M (2020) Foetal virilisation caused by overproduction of non-aromatisable 11-oxygenated C19 steroids in maternal adrenal tumour. **Hum Reprod** 35:2609–2612
5. Yamashita J, Takeuchi A, Hosono K, Fleming T, Nagahama Y, *Okubo K (2020) Male-predominant galanin mediates androgen-dependent aggressive chases in medaka. **eLife** 9:e59470
6. Baba T, Otake H, Inoue M, Sato T, Ishihara Y, Moon J-Y, Tsuchiya M, Miyabayashi K, Ogawa H, Shima Y, Wang L, Sato R, Yamazaki T, Suyama M, Nomura M, Choi M-H, Ohkawa Y, *Morohashi K (2018) *Ad4BP/SF-1* regulates cholesterol synthesis to boost the production of steroids. **Commun Biol** 1:18

研究項目 A03「環境要因と性スペクトラム」

1. Kikuchi M, Nishimura T, Ishishita S, Matsuda, *Tanaka M (2020) *foxl3*, a sexual switch in germ cells, initiates two independent molecular pathways for commitment to oogenesis in medaka. **Proc Natl Acad Sci USA** 117:12174–12181
2. Nishimura T, Yamada K, Fujimori C, Kikuchi M, Kawasaki T, Siegfried KR, Sakai N, *Tanaka M (2018) Germ cells in the teleost fish medaka have an inherent feminizing effect. **PLoS Genet** 14:e1007259
3. Ogino Y, Tohyama S, Kohno S, Toyota K, Yamada G, Yatsu R, Kobayashi T, Tatarazako N, Sato T, Matsubara H, Lange A, Tyler CR, Katsu Y, Iguchi T, *Miyagawa S (2018) Functional distinctions associated with the diversity of sex steroid hormone receptors ESR and AR. **J Steroid Biochem Mol Biol** 184:38–46
4. *Kato Y, Perez CAG, Mohamad Ishak NS, Nong QD, Sudo Y, Matsuura T, Wada T, Watanabe H (2018) A 5' UTR-overlapping lncRNA activates the male-determining gene *doublesex1* in the crustacean *Daphnia magna*. **Curr Biol** 28:1811–1817

受賞

の場章悟 (2019.4) 文部科学大臣表彰若手科学者賞

諸橋憲一郎 (2021.4) 日本内分泌学会賞 (一般社団法人日本内分泌学会)

深見真紀 (2019.5) 藤枝賞 (Kenji Fujieda Prize) (一般社団法人日本小児内分泌学会)

大久保範聡 (2017.11) 日本比較内分泌学会奨励賞 (日本比較内分泌学会)

田中実 (2020.8) 日本動物学会学会賞 (公益社団法人日本動物学会)

6. ホームページ等

新学術領域研究「性スペクトラム」ホームページ <http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/sexspectrum/>

大阪大学大学院生命機能研究科 立花研究室ホームページ <https://tachibana-lab.net/>