

脊椎動物における季節繁殖の脳内分子機構の解明

吉村崇（名古屋大学大学院生命農学研究科・名古屋大学高等研究院）

takashiy@agr.nagoya-u.ac.jp

次世代が餌の豊富な季節に生まれるように、限られた季節に繁殖活動を行なうことを季節繁殖というが、その制御機構は長年謎に包まれていた。そこでウズラにおいて日長の読み取りに必要な時計遺伝子を単離し、脳内の時計の局在を明らかにした。また季節繁殖を制御するキー遺伝子を同定し、脳内分子機構を解明した。さらに同様な機構が哺乳類にも存在することを示しており、今後家禽、家畜の生産性の向上につながる事が期待される。

はじめに

四季の変化は生物の生存や、種の保存に重大な影響を与える。したがって生物は日長を感知し、繁殖時期を特定の季節に限定することで、環境の変化に適応しながら種を維持してきた。例えば妊娠期間が約1年のウマや数週間のハムスター、孵卵期間の短い鳥類などは、日が長くなる春に繁殖活動を行なう。一方、妊娠期間が約半年のヒツジやヤギは秋に繁殖活動を行なう。いずれの場合も、春から夏にかけて出産し、餌が豊富な時期に仔が成長できるようにプログラムされている。つまり季節繁殖あるいは生物の日長に対する反応性（光周性）のメカニズムの解明は動物の生産性の向上に直結する重要な課題と言える。しかしその分子機構についてはいかなる生物種においても明らかにされていなかった。分子遺伝学の進んでいるショウジョウバエやマウスなどの動物は高度に選抜を受けており、光周性を示さないため光周性研究には適さない。一方、鳥類は飛ぶためにできるだけ身体を軽くする適応戦略をとっており、生殖腺も繁殖期のみ発達させる（図1）。そのため、非繁殖期と繁殖期では生殖腺の大きさが数百倍変化し、日長に急速かつ劇的に反応するため、古くから優れたモデルとして生理学的な研究が行われてきた。そこで入手が容易かつ、大きさが手ごろで、莫大なデータの蓄積のあるウズラを光周性の脳内分子機構解明の材料とすることとした。



図1. ウズラ（左）は長日条件下で卵（右上）を産む。精巢（右下）の大きさも日長によって大きく変化する。

時計遺伝子の単離と時計の局在の同定

生物が日長を感知する際に約 24 時間のリズムを刻む概日時計が関与することが古くから知られていた。しかし概日時計の発振機構自体が不明であったため、研究が進んでいなかった。最近になって、ショウジョウバエやマウスにおいて概日リズムを制御する「時計遺伝子」が相次いで同定され、概日時計の分子機構が明らかになってきた。そこでまずウズラにおいて時計遺伝子のクローニングを行なった。その後単離した時計遺伝子について明暗条件下、恒暗条件下において発現解析を行ない、光照射の及ぼす影響について検討した結果、哺乳類以外の脊椎動物で初めて概日時計の光による同調のメカニズムを解明することに成功し、光周性の分子機構解明に道筋をつけた¹⁾。また、脳における時計遺伝子の発現部位を *in situ* ハイブリダイゼーション法により詳細に検討することにより、鳥類の身体のリズムを制御する視交叉上核の解剖学的位置を明らかにしたほか、光周性を制御する中枢が存在すると考えられていた視床下部内側基底部(Mediobasal hypothalamus: MBH)に日長を測定する「光周時計」が存在することを明らかにした^{2,4)}。

光周性制御遺伝子の同定

MBH には脳深部光受容器や生殖腺を制御する性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンが存在することが知られていたが、新たに光周時計も存在することが明らかになり、MBH に日長測定に必要な役者が全て揃っていることが推察された。MBH が光周性を制御する中枢であるなら、日長の変化に曝された時、MBH では分子レベルで何らかの反応が起こることが期待された。そこで、次に長日刺激を与えた時に MBH において発現量に差が生じる遺伝子を Differential subtractive hybridization 法により探索した。その結果、150 個の候補遺伝子の中から光周性を制御するキー遺伝子となる 2 型脱ヨウ素酵素遺伝子を同定することに成功した^{5,6)}。つまり日長が長くなると MBH において 2 型脱ヨウ素酵素(Dio2)が誘導され、視床下部において局所的に甲状腺ホルモンが低活性型のチロキシン(T_4)から活性型のトリヨウドチロニン(T_3)へ変換されることが明らかになった。さらに T_3 の脳室内投与によって短日条件下においても精巣の発達を促すことができること、Dio2 の阻害剤によって長日刺激による精巣発達が阻害されることを明らかにした。また、甲状腺ホルモンの末梢投与によっても精巣発達を促進できることを明らかにし、産業化への可能性を示した⁷⁾。古くから様々な鳥類や哺乳類において甲状腺の機能障害が季節繁殖に影響を及ぼすことが知られていたが、この発見により遂に甲状腺ホルモンの作用部位と作用機序が明らかになった。

脳の可塑性

甲状腺ホルモンは一般的に代謝を高め、体温調節に重要なホルモンとして知られているが、脳においては神経の発達や可塑性に関与することが報告されている。そこで甲状腺ホルモン受容体の発現について検討したところ、視床下部の正中隆起に確認されたため、次に電子顕微鏡を用いて正中隆起の超微細構造について検討した。その結果、短日では GnRH ニューロンの神経終末がグリア細胞に包み込まれて基底膜との接触が阻害されていたのに対し、長日条件下ではあたかもシャッターが開いたかのようにグリア細胞による包み込みが減少し、GnRH ニューロンの神経終末の多くが基底膜に接していた。この形態変化によって季節性の GnRH の分泌が制御されている可能性が考えられた⁸⁾。

哺乳類の光周性の制御機構

さて、哺乳類では松果体から夜間分泌されるメラトニンが季節繁殖の制御に重要であることが知られている。鳥類では哺乳類とは異なり、メラトニンは季節繁殖の制御には関わっておらず、脳内光受容器で光が受容されているため、哺乳類と鳥類の季節繁殖の脳内制御機構は全く異なると考えられてきた。哺乳類ではメラトニンの作

用機序も不明であったため、哺乳類の光周性の分子機構を解明することを目的として、光周性を示すハムスターとラットを用いて *Dio2* の発現を検討した。その結果、ハムスターやラットにおいてはメラトニンを介して *Dio2* の発現が日長により制御を受けていることを明らかにし、鳥類で明らかにしたメカニズムが他の脊椎動物にも広くあてはまる可能性を示した(図2)⁹⁾。

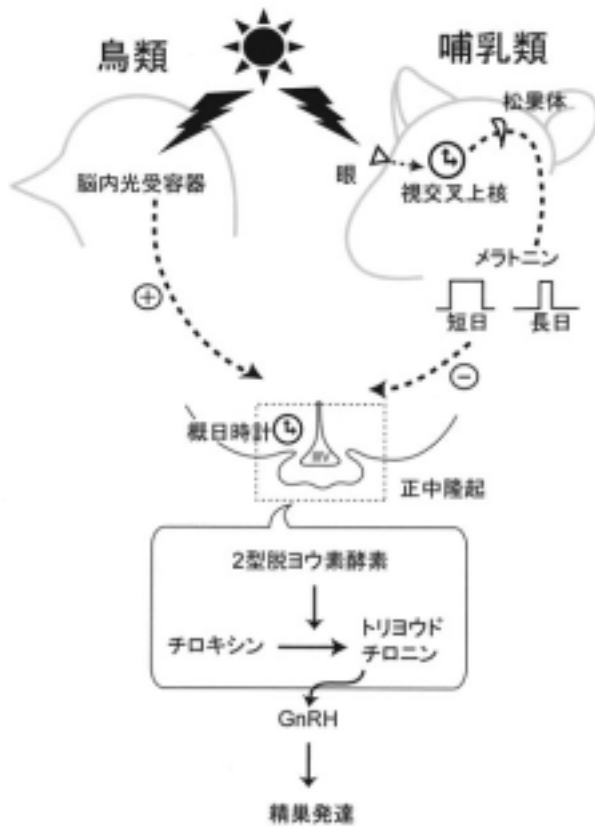


図2. 鳥類と哺乳類の季節繁殖の脳内制御機構

鳥類では、光は脳内光受容器で受容され、視床下部内側基底部(MBH)において2型脱ヨウ素酵素(*Dio2*)の発現が誘導される。*Dio2*はMBHにおいて局所的に甲状腺ホルモンを活性化し、GnRH分泌を促す。一方、哺乳類では日長の情報は眼で受容された後、視交叉上核を介して松果体へ伝えられ、メラトニンの分泌パターンの違いとして視床下部内側基底部へ伝えられる。メラトニンは暗期の情報を担っているため、*Dio2*の発現を抑制的に制御する。鳥類と哺乳類では光の伝達経路が異なるだけで、共通の機構を介して季節繁殖が制御されていると考えられた。

長日繁殖性と短日繁殖性をもたらす原因

ウズラやハムスターとは異なり、ヤギやヒツジは短日刺激によって繁殖活動にスイッチが入る短日繁殖動物である。繁殖の長日性、短日性を決定しているメカニズムの解明は光周性研究におけるもう一つの大きな謎である。この謎に迫るため、ヤギの *Dio2* の発現に及ぼす日長の影響を検討した。その結果、ウズラやハムスターとは異なり、*Dio2* の発現は長日刺激によって抑制されていた。この結果は長日繁殖動物と短日繁殖動物の脳内で日長の情報に対する反応が逆転している初めての報告となった¹⁰⁾。

今後の展望

鳥類は光周性研究の優れたモデルであったが、哺乳類に比べて研究ツールが揃っていなかったため、研究が滞っていた。最近の研究により季節繁殖の脳内分子機構について大きく理解が進んだが、光周性の制御機構の全貌の解明にむけて、最初の第一歩が踏み出されたに過ぎない。ニワトリドラフトゲノムの発表により、光周性の研究においても、ゲノムワイドな網羅的な解析が可能となっており、今後さらに研究が発展することが期待される。

謝辞

本研究は生研センター基礎研究推進事業の御支援のもと行ないました。

引用文献

- 1) Yoshimura T., Suzuki Y., Makino E., Suzuki T., Kuroiwa A., Matsuda Y., Namikawa T. and Ebihara S. (2000) Molecular analysis of avian circadian clock genes. *Mol. Brain Res.* 78:207-215.
- 2) Yoshimura T., Yasuo S., Suzuki Y., Makino E., Yokota Y. and Ebihara S. (2001) Identification of the suprachiasmatic nucleus in birds. *Am. J. Physiol.* 280:R1185-R1189.
- 3) Yasuo S., Watanabe M., Okabayashi N., Ebihara S. and Yoshimura T. (2003) Circadian clock genes and photoperiodism: Comprehensive analysis of clock gene expression in the mediobasal hypothalamus, the suprachiasmatic nucleus, and the pineal gland of Japanese quail under various light schedules. *Endocrinology* 144:3742-3748.
- 4) Yasuo S., Watanabe M., Tsukada A., Takagi T., Iigo M., Shimada K., Ebihara S. and Yoshimura T. (2004) Photoinducible phase-specific light induction of *Cry1* gene in the pars tuberalis of Japanese quail. *Endocrinology* 145:1612-1616.
- 5) Yoshimura T., Yasuo S., Watanabe M., Iigo M., Yamamura T., Hirunagi K. and Ebihara S. (2003) Light-induced hormone conversion of T₄ to T₃ regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature* 426:178-181.
- 6) Yasuo S., Watanabe M., Nakao N., Takagi T., Follett B.K., Ebihara S. and Yoshimura T. (2005) The reciprocal switching of two thyroid hormone activating and inactivating enzyme genes is involved in the photoperiodic gonadal response of Japanese quail. *Endocrinology* 146:2551-2554.
- 7) Yasuo S., Ebihara S. and Yoshimura T. (2004) Oral thyroxine administration mimics photoperiodically induced gonadal growth in Japanese quail. *Anim. Sci. J.* 75:407-410.
- 8) Yamamura T., Hirunagi K., Ebihara S. and Yoshimura T. (2004) Seasonal morphological changes in the neuro-glial interaction between gonadotropin-releasing hormone nerve terminals and glial endfeet in Japanese quail. *Endocrinology* 145:4264-4267.
- 9) Watanabe M., Yasuo S., Watanabe T., Yamamura T., Nakao N., Ebihara S. and Yoshimura T. (2004) Photoperiodic regulation of type 2 deiodinase gene in Djungarian hamster: possible homologies between avian and mammalian photoperiodic regulation of reproduction. *Endocrinology* 145:1546-1549.
- 10) Yasuo S., Nakao N., Ohkura S., Iigo M., Hagiwara S., Goto A., Ando H., Yamamura T., Watanabe M., Watanabe T., Oda S.I., Maeda K.I., Lincoln G., Okamura H., Ebihara S. and Yoshimura T. (2005) Long day suppressed expression of type 2 deiodinase gene in the mediobasal hypothalamus of the Saanen goat, a short day breeder: Implication for seasonal window of thyroid hormone action on reproductive neuroendocrine axis. *Endocrinology* (in press).

Molecular Mechanism of Seasonal Reproduction in Vertebrates

Takashi Yoshimura (Nagoya University, Graduate School of Bioagricultural Sciences and Institute for Advanced Research)

takashiy@agr.nagoya-u.ac.jp