

## 客員部門

勝 義直 (客員准教授)

1) 専門領域:比較内分泌学

2) 研究課題:

- a) ステロイドホルモン受容体の分子進化に関する研究
- b) 爬虫類の温度依存的な性決定の分子機構解明

3) 研究活動の概略と主な成果:

a) ステロイドホルモンは生体内の恒常性維持に必須の役割を持ち、欠乏は重篤な疾患に繋がる。ステロイドホルモンは、副腎ステロイド、黄体ホルモン、男性ホルモン、女性ホルモンに大別され、それぞれ「ホルモン依存的な転写制御因子」であるステロイドホルモン受容体を介して生理機能を発揮する。このステロイドホルモン受容体遺伝子は生物進化のどの段階から出現してきたのか？という問題はまだ未解決のまま残されている。私たちの研究グループは様々な進化段階の生物種からステロイドホルモン受容体遺伝子の単離を試み、分子進化・機能進化の解明を目指している。今回、軟骨魚類であるゾウギンザメ(全頭類に属する)から、女性ホルモンの受容体であるエストロゲン受容体の単離を試みた。その結果、2種類のエストロゲン受容体を持っている事を明らかにした。これら2種類はそれぞれ高等脊椎動物が持つアルファ型およびベータ型の受容体に相当する。これまで、軟骨魚類ではベータ型の受容体のみが単離されていたが、今回の成果から既に軟骨魚類の進化段階で、2種類のエストロゲン受容体を有する事を初めて示す事ができた。さらに、機能解析の結果、ベータ型は通常のエストロゲン受容体と同じく、ホルモン依存的な転写活性を持つ事を確認した。しかし、アルファ型受容体はホルモンが無い状態でも転写活性を有する事が判明した。これは受容体蛋白質のN末側のA/B領域によると考えられた。今後、生物進化に伴いどのようにホルモン依存性能を獲得したのかを解明すると共に、発現解析や標的遺伝子の探索等の解析により生体内での機能の解明にも取り組む予定である。

b) 爬虫類に分類されるワニは性染色体を持っておらず胚発生中の温度によって性が決定するというユニークな性決定機構をもつ。この温度の刺激がどのように性の決定・分化に繋がるのか？という疑問はこれまで未解決である。私たちの研究グループは性決定・性分化メカニズムへのダイオキシン受容体の関与を想定し、ワニからダイオキシン受容体及びコアクチベーターであるArntの遺伝子単離を行なった。これまで爬虫類では判明していなかった3種類のダイオキシン受容体と2種類のArntの単離に成功した。実際に、リガンドとして用いられる3-メチルコラントレンやインディゴによって転写活性が増加する事を確認した。またその特異性や活性の強さは、受容体とコアクチベーターの組み合わせによって変動する事も判明した。さらに性分化関連遺伝子との関係を調べたところ、卵巣の分化に必要とされるエストロゲンの合成酵素であるアロマターゼ遺伝子の転写を調節している事を示唆する結果を得た。この結果は、ワニの性決定時期におけるダイオキシン受容体の関与を示唆する初めての成果であり、今後、ダイオキシン受容体がどのように

アロマターゼ遺伝子の転写調節を行っているのかを詳細に解析すると同時に、温度依存的な性決定機構の全体像の解明に迫りたい。

#### 4) 学術論文

**A. Lange\*, Y. Katsu\*, S. Miyagawa, Y. Ogino, H. Urushitani, T. Kobayashi, T. Hirai, JA. Shears, M. Nagae, J. Yamamoto, Y. Ohnishi, T. Oka, N. Tatarazako, Y. Ohta, CR. Tyler, T. Iguchi** (\* These authors contributed equally), “Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species commonly used in the laboratory and field monitoring” *Aquat. Toxicol.*, **109**, 250-258 (2012).

**I. Hirakawa, S. Miyagawa, Y. Katsu, Y. Kagami, N. Tatarazako, T. Kobayashi, T. Kusano, T. Mizutani, Y. Ogino, T. Takeuchi, Y. Ohta, T. Iguchi**, “Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol” *Chemosphere*, **87**, 668-674 (2012).

**T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, H. Watanabe, T. Mizutani, T. Sato, KI. Morohashi, T. Takeuchi, T. Iguchi, Y. Ohta**, “Wnt family genes and their modulation in the ovary-independent and persistent vaginal epithelial cell proliferation and keratinization induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice” *Toxicology*, **296**, 13-19 (2012).

**T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, T. Sato, T. Iguchi, Y. Ohta**, “Sequential changes in the expression of Wnt- and Notch-related genes in the vagina and uterus of ovariectomized mice after estrogen exposure” *In vivo*, **26**, 899-906 (2012).

**T. Nakamura, S. Miyagawa, Y. Katsu, T. Mizutani, T. Sato, T. Takeuchi, T. Iguchi, Y. Ohta**, “P21 and Notch signalings in the persistently altered vagina induced by neonatal diethylstilbestrol exposure in mice” *J. Vet. Med. Sci.*, **74**, 1589-1595 (2012).

#### 7) 招待講演

勝 義直「エストロゲン受容体の分子進化と機能進化」、日本進化学会第 14 回東京大会、首都大学東京南大沢キャンパス、2012 年 8 月

#### 11) 外部獲得資金

科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「生物進化に伴うエストロゲン受容体の遺伝子重複と機能獲得の解明」、勝 義直 (代表) (2011 年- 2013 年)

公益財団法人 クリタ水・環境科学振興財団 研究助成「医薬品類による水環境汚染を調査する簡易バイオアッセイ法の確立」勝 義直 (代表) (2012 年- 2013 年)