慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	甲殻類の性分化と造雄腺ホルモン
Sub Title	
Author	長谷川, 由利子(Hasegawa, Yuriko)
Publisher	慶應義塾大学商学部創立五十周年記念日吉論文集編集委員会
Publication year	2007
Jtitle	慶應義塾大学商学部創立五十周年記念日吉論文集 (2007.) ,p.505- 513
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Book
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO40001001-00000001-0505

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

甲殻類の性分化と造雄腺ホルモン

長谷川　由利子

1．はじめに

現在、地球上には多種多様な生物が存在する。その要因の一つは、親とは遺伝的に異なる子が生み出される有性生殖にあると考えられている。両性生殖によって生じた受精卵は、個体発生の進行につれて、雄にも雌にも分化しうる能力を持つ性的に未分化な状態から、雄または雌の特徴を持つ状態へと分化していく。

性決定・性分化の機構は、多様である。脊椎動物の性は性染色体の組み合わせにより遺伝的に決定されるのが一般的であるが、異型の性染色体を持つ性は哺乳類と鳥類で異なっている。哺乳類は雄が異型の性染色体をもつ XY 型であり、鳥類は雌が異型の性染色体をもつ ZW 型である。一方、一部の爬虫類では、孵卵温度により性が決定される。脊椎動物においては、性ホルモンが性分化に重要な役割を果たしている。哺乳類では、分化した精巣から分泌される雄性ホルモンとミュラー管抑制因子という２種類のホルモンの作用により、未分化な内部生殖器および外部生殖器が雄型に分化する。魚類では、孵化直後の性ホルモン処理により性転換が起こることが知られている。

節足動物の昆虫類の性は、個体を構成する細胞ごとに遺伝的に決まる。性の決定・分化に性ホルモンは関与しない。例えば、哺乳類と同じ XY 型であるキイロショウジョウバエでは、Y 染色体の有無によって性が決定される哺乳類とは異なり、X 染色体と常染色体の数の比によって性が決定される。この情報は一連の性決定遺伝子群に次々と伝えられ、体細胞、神経細胞、生殖細胞に雌雄差が生じる[1)]。

一方、昆虫類と同じ節足動物に属している甲殻類では、性分化は昆虫類とは異なり、脊椎動物に近い内分泌的な機構で制御されている。1954年に Charniaux-Cotton により発見された造雄腺ホルモンと呼ばれる雄性ホルモンが甲殻類の性分化の鍵を握っている[2)]。造雄腺ホルモンの発見から45

年後の1999年、フランスのグループと筆者を含む日本のグループによりほぼ同時に、無脊椎動物の性ホルモンとして初めて造雄腺ホルモンの構造が明らかにされた[3),4)]。本稿では、商学部創立25周年記念論文集中の片倉康寿（商学部名誉教授）による総説[5)]以降の研究結果を加えて、甲殻類の性分化について論じたい。

2．造雄腺ホルモンによる性分化の制御

1954年、フランスのCharniaux-Cottonは、端脚目のオオハマトビムシ*Orchestia gammarella*を使って雌雄間で生殖腺の移植実験を行い、雄の輸精管の末端近くに付着している内分泌器官から分泌されるホルモンが雄性分化を誘導することを発見し、この器官を造雄腺と名付けた[2)]。その後、甲殻類の軟甲亜綱に属するほとんどの目で造雄腺の存在が明らかにされた[6)]。造雄腺は、多くの種ではオオハマトビムシと同じように輸精管末端近くに付着しているが、等脚目のダンゴムシ類やワラジムシ類などでは3対ある精巣の各先端に付着している（図1）。

造雄腺ホルモンの機能を調べるために、これまでに多くの種で、雌への造雄腺の移植実験あるいは雄からの造雄腺の除去実験がなされてきた。端脚目のオオハマトビムシ、等脚目のオカダンゴムシ*Armadillidium vulgare*やオビワラジムシ*Porcellio dilatatatus*などで機能的な性転換が報告されている。しかし、エビ・カニ類が属する十脚目でこれまでに機能的な性転換が報告されているのはオニテナガエビ*Macrobrachium rosenbergii*だけである[6),7)]。

オカダンゴムシの成熟雄から摘出した造雄腺を若い雌に移植すると、脱皮を繰り返すにしたがって二次性徴の雄性化が進行する（図2）。生殖器官の雄性化も進行し、本来の卵巣部分に貯精嚢が発達し、その前方には造雄腺を有する精巣が、後方には輸精管が発達する（図3）。造雄腺を移植された雌は、3～4ヶ月後には機能的な雄に性転換する[8)]。しかし、成熟した雌に造雄腺を移植した場合には、一部の外部性徴の雄性化や貯精嚢・輸精管の発達は観察されるが、精巣および造雄腺の発達は見られない[9)]。また、輸卵管に関しては、ごく若い雌に造雄腺を移植した場合にのみ発達が抑制される[10)]。これらの結果は、造雄腺ホルモンに対する感受性の程度ならびに感受性を示す時期が標的器官によって異なることを示唆している[11)]。一方、若い雄から造雄腺を除去すると、機能的な雌に性転換する[12)]。

造雄腺の移植および除去実験の結果から、甲殻類の性分化機構は以下のように考えられている。遺伝的雄では、造雄腺原基の細胞が活性化されて造雄腺ホルモンを合成・分泌する。造雄腺ホルモンは、性的両能性を持つ性特徴原基に作用して、雄の形態形成を誘導し、雌の形態形成を抑制する。一方、遺伝的雌では、造雄腺ホルモンが産生されないので、性特徴原基は自律的に雌の形態に分化する[6),13)]。なお、分化した卵巣が雌の二次性徴を制御するホルモンを分泌するか否かについては未だ明らかにされていない。

図1　オオハマトビムシ（左）とオカダンゴムシ（右）の雄の生殖器官

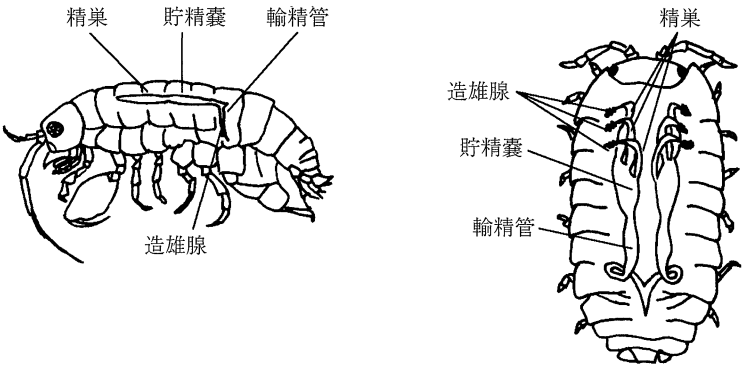


図2　オカダンゴムシにおける腹部腹面の二次性徴の性分化と造雄腺移植による雄性化

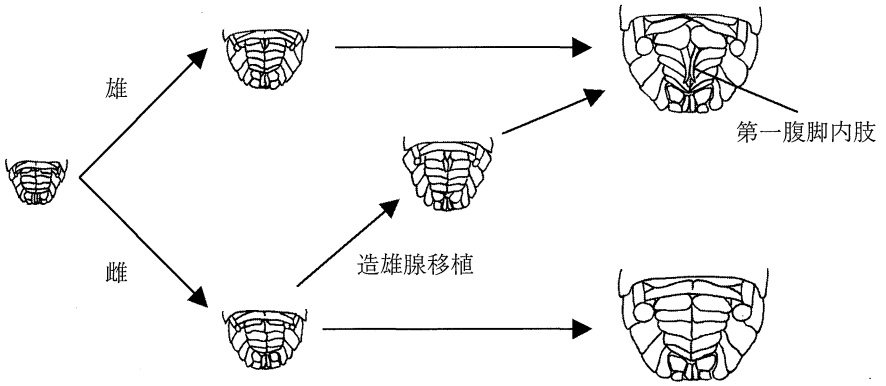
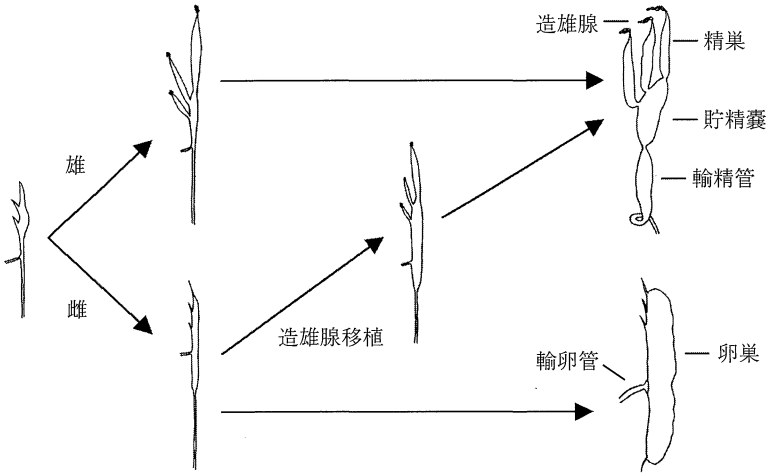


図3　オカダンゴムシにおける生殖器官の性分化と造雄腺移植による雄性化



軟甲亜目の雌雄異体種では、性は遺伝的に決定されると考えられている。しかし、性染色体が未だ明らかにされていないので、造雄腺の移植により性転換させた遺伝的雌と正常雌の交配で得られた子供の性比から性染色体構成が推測されている。オオハマトビムシ、ワラジムシ亜目の *Helleria brevicornis*、オビワラジムシ *Porcellio dilatatus dilatatus* はXY型、オカダンゴムシ、オビワラジムシ *Porcellio dilatatus petiti* はZW型であるとされている。オカダンゴムシでは、性転換させた雌（ZW）と正常雌（ZW）の交配で得られる子供の性比は、およそ雄1に対して雌3の割合になる。これらの雌のうちの1/3は、正常雄（ZZ）との交配で雌だけを生むので、性染色体構成はWWであると考えられる。WW雌は、ZW雌と同じように造雄腺の移植により性転換する。また、機能的な雄になったWW雌の精巣の先端には機能的な造雄腺が発達する[14),15)]。

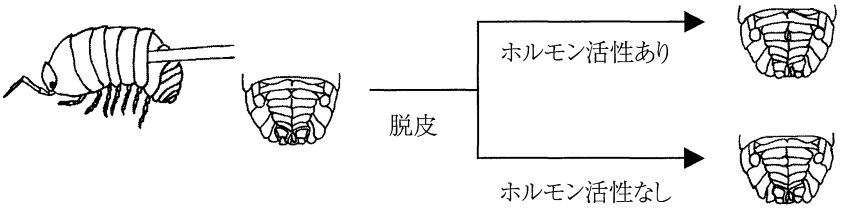
以上の結果から、甲殻類における性決定機構は次のように考えられる[6),16)]。XY型の種においては、造雄腺原基の細胞の活性化に関与する雄性決定遺伝子がY染色体上にあり、遺伝的雄（XY）ではこの遺伝子の作用により造雄腺原基の細胞が活性化される。ZW型の種においては、雄性決定遺伝子は常染色体か、Z染色体とW染色体の相同部分にあり、この遺伝子の作用を抑制する遺伝子がW染色体上にある。遺伝的雄（ZZ）ではこの抑制作用がないので、雄性決定遺伝子の作用により造雄腺原基の細胞が活性化される。しかし、雄性決定遺伝子の実体は未だ明らかにされていない。

3．物質としての造雄腺ホルモン

造雄腺ホルモンの化学的性質については、当初、脊椎動物の性ホルモンと同様に脂溶性であるとする説と水溶性であるとする説があった。Berreur-Bonnenfantらは、イソワタリガニ *Carcinus maenas* の造雄腺から、オオハマトビムシの卵黄形成の阻害を引き起こす2種類の脂溶性物質（ファルネシルアセトンとヘキサヒドロファルネシルアセトン）を抽出・精製した[17),18)]。しかし、これらの物質は、明確な雄性化作用を示さないので造雄腺ホルモンとは別の物質であるとされた。

一方、片倉らは、オカダンゴムシの乾燥造雄腺から雌の腹部の雄性化（第一腹脚内肢の後方への伸長）をもたらす水溶性の物質を抽出した。その後筆者も加わり、オカダンゴムシの雄の生殖器官全体を材料として造雄腺ホルモンの精製が本格的に始められた。ホルモン活性の検定は、体長6-7mmの若い雌10個体に、マイクロシリンジを使って一定濃度に調整した試料を0.5μlずつ注射し、注射後の最初の脱皮で腹部の雄性化の有無を調べるという方法で行われた（図4）。また、半数以上の個体で雄性化が見られる量を基準として、ホルモン活性を定量した。緩衝液で抽出され、硫安塩析・ゲルろ過・陰イオン交換クロマトグラフィーという方法で部分精製された造雄腺ホルモン活性物質はタンパク質であると考えられ、分子量は15,000～17,000であると推定された[19)]。部分精製した活性物質をオカダンゴムシの若い雌に継続的に注射すると、外部性徴だけでなく生殖器官も雄性化することから、この活性物質が造雄腺ホルモンであることが確かめられた[20)]。造雄腺ホル

図4　造雄腺ホルモンの活性検定法

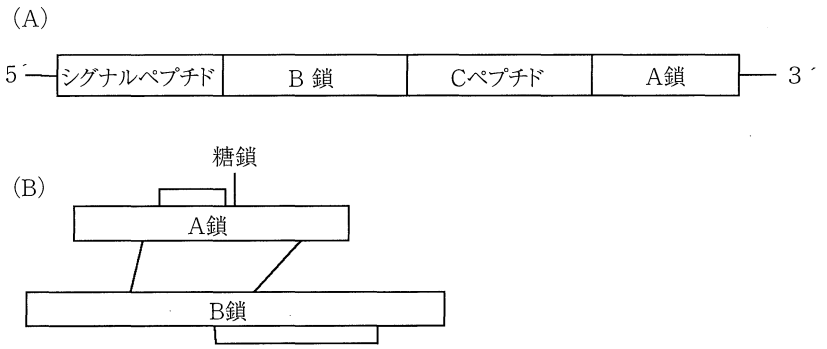


モンがペプチドホルモンであることは、造雄腺細胞の微細構造の観察結果とも一致した。なお、ペプチドホルモン特有の分泌顆粒については、これまでに多くの種で造雄腺細胞の微細構造の観察が行われてきたにもかかわらず長い間不明であったが、最近、急速凍結・凍結置換法によるオカダンゴムシの造雄腺微細構造の観察でその存在が確認された[21]。

オカダンゴムシの造雄腺ホルモンの精製は、3段階の高速液体クロマトグラフィーによりさらに進められ、2種類の造雄腺ホルモン AGH Ⅰと AGH Ⅱが得られた[22]。しかし、AGH Ⅰの構造解析を始めた段階で、まだ多くの不純物が含まれていることが判明したので[23]、抽出材料を生殖器官全体から造雄腺だけに切り替えて精製が行われた。その結果、2000個体の雄由来の造雄腺から160ngの造雄腺ホルモンが単離され、ジスルフィド結合を含み、熱に対して安定な、分子量約12,000のタンパク質であることが明らかになった[24]。

一方、日本のグループとは別にフランスのグループも、リケッチア科のボルバキアの感染により肥大化した造雄腺を抽出材料として、オカダンゴムシの造雄腺ホルモンの精製を行ってきた[25),26]。そして、1999年、2つのグループによりほぼ同時に、無脊椎動物の性ホルモンとして初めて造雄腺ホルモンの構造が明らかにされた[3),4]。造雄腺ホルモンは、A鎖とB鎖からなる2本鎖の糖ペプチドであるが、その前駆体は、脊椎動物のインスリンと同様に、Cペプチドを介した1本鎖である(図5)。クローニングした cDNA と大腸菌およびバキュロウイルスの2つの発現系を用いて、C

図5　オカダンゴムシ造雄腺ホルモン前駆体の構造（A）と組換え体の構造から推定される造雄腺ホルモンの構造（B）



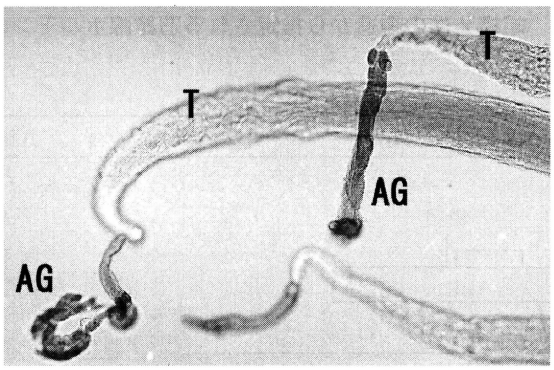
ペプチドを含む造雄腺ホルモン前駆体型の組換え体を合成し、ホルモン活性を調べたが、いずれも活性が認められなかった。造雄腺ホルモン前駆体型の組換え体から、酵素処理によりCペプチドの一部を切除して２本鎖にしたものでは、糖鎖を有するバキュロウイルス発現組換え体に天然ホルモンのおよそ1/10の活性が認められた。以上の結果から、クローニングされたcDNAが造雄腺ホルモンをコードしていることが確かめられた。また、Cペプチドの切断により２本鎖になること、糖鎖が付加されていることが造雄腺ホルモン活性に重要であると考えられた。造雄腺ホルモンの生合成経路については、先ずプレプロ造雄腺ホルモンからシグナルペプチドが除かれ、１本鎖の段階で４対のジスルフィド結合が形成された後にCペプチドが切断されて２本鎖になり、さらに糖鎖が付加されて成熟造雄腺ホルモンが形成されると推定されている[27]。

オカダンゴムシ造雄腺ホルモン前駆体の異なる部位（大腸菌発現ホルモン前駆体型の組換え体、A鎖のN末端部、B鎖のN末端部）を抗原として作成された３種類の抗体がいずれも造雄腺抽出液中の活性物質を吸着して活性を阻害することからも、クローニングされたcDNAが造雄腺ホルモンをコードしていることは明らかである[28]。これらの抗体はいずれも精巣・貯精嚢・輸精管を免疫染色せず、造雄腺だけを特異的に免疫染色した（図６）。

また、ワラジムシ亜目に属している６科９種の陸生等脚類の造雄腺がオカダンゴムシの抗造雄腺ホルモン抗体と反応するか否かを検索した結果、オカダンゴムシ科、ワラジムシ科、ウミベワラジムシ科の種の造雄腺で陽性反応が認められたが、これらより分類学的にやや遠縁のハマダンゴムシ *Tylos granuriferus*、フナムシ *Ligia exotica* では陽性反応が認められなかった。造雄腺ホルモンの種特異性の高さはこれまでにも造雄腺の異種間移植により示されてきたが、免疫組織化学的にも造雄腺ホルモンがかなり高い種特異性を示すことが明らかになった[29]。

最近、ワラジムシとオビワラジムシの造雄腺ホルモン前駆体をコードするcDNAがクローニングされた[30]。cDNAの塩基配列からアミノ酸配列を推定した結果、２種のワラジムシの造雄腺ホル

図6　オカダンゴムシ雄生殖器官の免疫染色



AG：造雄腺、T：精巣

モン前駆体はオカダンゴムシの造雄腺ホルモン前駆体と同様の構成であり、Ａ鎖とＢ鎖のアミノ酸配列は３種の間でかなりよく保存されているがＣペプチドのアミノ酸配列の類似性は低いことが明らかになった。エビ・カニ類が属する十脚目の造雄腺ホルモンもタンパク質であると考えられているが、まだ精製されていない。実用に耐えるホルモン活性検定法が開発されていないこと、高い種特異性が障壁になっている。

４．おわりに

甲殻類の性分化は、脊椎動物に近い内分泌的な機構で制御されている。しかし、甲殻類の造雄腺ホルモンが雄の生殖腺とは異なる造雄腺で合成されるペプチドホルモンであるのに対して、脊椎動物の性ホルモンは生殖腺で合成されるステロイドホルモンであるという違いがある。甲殻類の性分化機構は、比較内分泌学的な視点から大変興味深い。ヒトを含む哺乳類では、1990年にＹ染色体上の精巣決定遺伝子 SRY ／ Sry（sex determining region on Y chromosome）が同定されて以来今日までに多くの性分化関連遺伝子が発見され、性決定・性分化の分子機構が明らかにされつつある[31]。今後、造雄腺細胞における造雄腺ホルモン遺伝子の発現や翻訳後修飾の調節、標的細胞における受容体を介した標的遺伝子群の発現調節などの解析が進めば、甲殻類の性決定・性分化機構も分子レベルで理解できると期待される。

重要な水産物として世界各国で養殖されているエビやカニ類には、成長速度や単価に雌雄で差が見られる種がある。このような種では、雄だけまたは雌だけを生産する単性養殖が経済的に有利である[32]。単性集団の作成には生理的な性を統御する技術の確立が必要であるが、オカダンゴムシで得られた造雄腺ホルモンに関する研究結果が、この技術の開発に役立つものと期待されている。

引用文献

１）井上邦夫（1998）ショウジョウバエにおける性決定．蛋白質核酸酵素，43: 454-461.

２）Charniaux-Cotton, H. (1954) Découverte chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*) d'une glande endocrine responsable de la differénciation des caractères sexuels primaires et secondaires mâles. C. R. Acad. Sci. Paris, 239: 780-782.

３）Martin, G., Sorokine, O., Moniatte, M., Bulet, P., Hetru, C. and Van Dorsselaer, A. (1999) The structure of glycosylated protein hormone responsible for sex determination in the isopod, *Armadillidium vulgare*., Eur. J. Biochem. 262: 727-736.

４）Okuno, A., Hasegawa, Y., Ohira, Y., Katakura, Y. and Nagasawa, H. (1999) Characterization and cDNA cloning of androgenic gland hormone of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 264: 419-423.

５）片倉康寿（1982）ダンゴムシの性分化．日吉論文集・自然科学編，17: 25-56（商学部創立25周年記念論文集，pp. 553-584）.

6) Charniaux-Cotton, H. and Payen, G. (1985) Sexual differentiation. In "The Biology of Crustacea", Vol. 9, pp. 217-299, eds. D. E. Bliss and L. H. Mantel, Academic Press, New York.
7) Sagi, A., Snir, E. and Khalaila, I. (1997) Sexual differentiation in decapod crustaceans: Role of the androgenic gland. Invert. Reprod. Develop., 31: 55-61.
8) Katakura, Y. (1960) Transformation of ovary into testis following implantation of androgenous glands in *Armadillidium vulgare*, an isopod crustacean. Annot. Zool. Japon., 33: 241-244.
9) Katakura, Y. (1961) Hormonal control of development of sexual characters in the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*. Annot. Zool. Japon., 34: 60-71.
10) Hasegawa, Y. and Katakura, Y. (1981) Androgenic gland hormone and development of oviducts in the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*. Develop., Growth and Differ., 23: 59-62.
11) Hasegawa, Y., Hirose, E. and Katakura, Y. (1993) Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea. Amer. Zool., 33: 403-411.
12) Suzuki, S. and Yamasaki, K. (1991) Sex-reversal of male *Armadillidium vulgare* (Isopoda, Malacostraca, Crustacea) following andrectomy and partial gonadectomy. Gen. Comp. Endocrinol., 83: 375-378.
13) Katakura, Y. (1984) Sex differentiation and androgenic gland hormone in the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. Symp. Zool. Soc. Lond., 53: 127-142.
14) Hasegawa, Y. and Katakura, Y. (1983) Masculinization of WW females in the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*. Annot. Zool. Japon., 56: 163-166.
15) Hasegawa, Y. and Katakura, Y. (1985) Masculinization of female by the newly-formed androgenic glands in the ZW and WW females of the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*. Zool. Sci., 2: 419-422.
16) Katakura, Y. (1989) Endocrine and genetic control sex differentiation in the maracostracan crustacea. Invert. Reprod. Develop., 16: 177-182.
17) Berreur-Bonnenfant, J., Meusy, J. J., Ferezou, J. P., Devys, M., Quesneau-Thierry, A. and Barbier, M. (1973) Recherches sur la sécrétion de la glande androgène des Crustacés Malacostracés: purification d'une substance à activité androgène. C. R. Acad. Sci. Paris, 277, Ser. D: 971-974.
18) Ferezou, J. P., Berreur-Bonnenfant, J., Meusy, J. J., Barbier, M., Suchý, M. and Wipf, H. K. (1977) 6, 10, 14-Trimethylpentadecan-2-one and 6, 10, 14-trimethyl-5-trans, 9-trans, 13-pentadecatrien-2-one from the androgenic glands of the male crab *Carcinus maenas*. Experientia, 33: 290.
19) Katakura, Y., Fujimaki, Y. and Unnno, K. (1975) Partial purification and characterization of androgenic gland hormone from the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*. Annot. Zool. Japon., 48: 203-209.
20) Katakura, Y. and Hasegawa, Y. (1983) Masculinization of females of the isopod crustacean, *Armadillidium vulgare*, following injections of an active extract of the androgenic gland. Gen. Comp. Endocrinol., 48: 57-62.
21) Negishi, S., Hasegawa, Y. and Nakajima, Y. (2001) Novel structure in secreting the androgenic gland hormone. Zool. Sci., 18: 1237-1243.
22) Hasegawa, Y., Haino-Fukushima, K. and Katakura, Y. (1987) Isolation and properties of androgenic gland hormone from the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. Gen. Com. Endocrinol., 67: 101-110.
23) Nagasawa, H., Hasegawa, Y., Haino-Fukushima, K., Hatayama, H., Yanagisawa, T. and Katakura, Y. (1995) Isolation and structural determination of seminal vesicle-specific peptides of the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. Biosci. Biotech. Biochem., 59: 1246-1250.

24) Okuno, A., Hasegawa, Y. and Nagasawa, H. (1997) Purification and properties of androgenic gland hormone from the terrestrial isopod *Armadillidum vulgare*. Zool. Sci. 14: 837–842.
25) Martin, G., Juchault, P., Sorokine, O. and Van Dorsselaer, A. (1990) Purification and characterization of androgenic hormone from the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* Latr. (Crustacea, Oniscidea). Gen. Comp. Endocrinol., 80: 349–354.
26) Martin, G., Sorokine, O., Moniatte, M. and Van Dorsselaer, A. (1998) The androgenic hormone of the crustacean isopod *Armadillidium vulgare*. Ann. N. Y. Acad. Sci., 839: 111–117.
27) Okuno, A., Hasegawa, Y., Nishiyama, M., Ohira, T., Ko, R., Kurihara, M., Matsumoto, S. and Nagasawa, H. (2002) Preparation of an active recombinant peptide of crustacean androgenic gland hormone. Peptides 23: 567–572.
28) Okuno, A., Hasegawa, Y., Ohira, T. and Nagasawa, H. (2001) Immunological identification of crustacean androgenic gland hormone, a glycopeptide. Peptides, 22: 175–181.
29) Hasegawa, Y., Okuno, A. and Nagasawa, H. (2002) Immunohistochemical study of androgenic gland hormone: Localization in the male reproductive system and species specificity in the terrestrial isopods. Gen. Comp. Endocrinol., 125: 218–225.
30) Ohira, T., Hasegawa, Y., Tominaga, S., Okuno, A. and Nagasawa, H. (2003) Molecular cloning and expression analysis of cDNAs encoding androgenic gland hormone precursors from two Porcellionidae species, *Porcellio scaber* and *P. dilatatus*. Zool. Sci., 20: 75–81.
31) 的場章悟、平松竜司、金井克晃（2006）哺乳類の性決定遺伝子 Sry．細胞工学，25: 369–373.
32) Sagi, A. and Aflalo, E. D. (2005) The androgenic gland and monosex culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De man): a biotechnological perspective. Aquacult. Res., 36: 231–237.