



カエルの性分化へのストレスホルモンの影響

熊本学園大学付属高等学校 サイエンス部 2年 堤 愛菜 島田 ちの
菅村 嘉隆 梶野 八雲

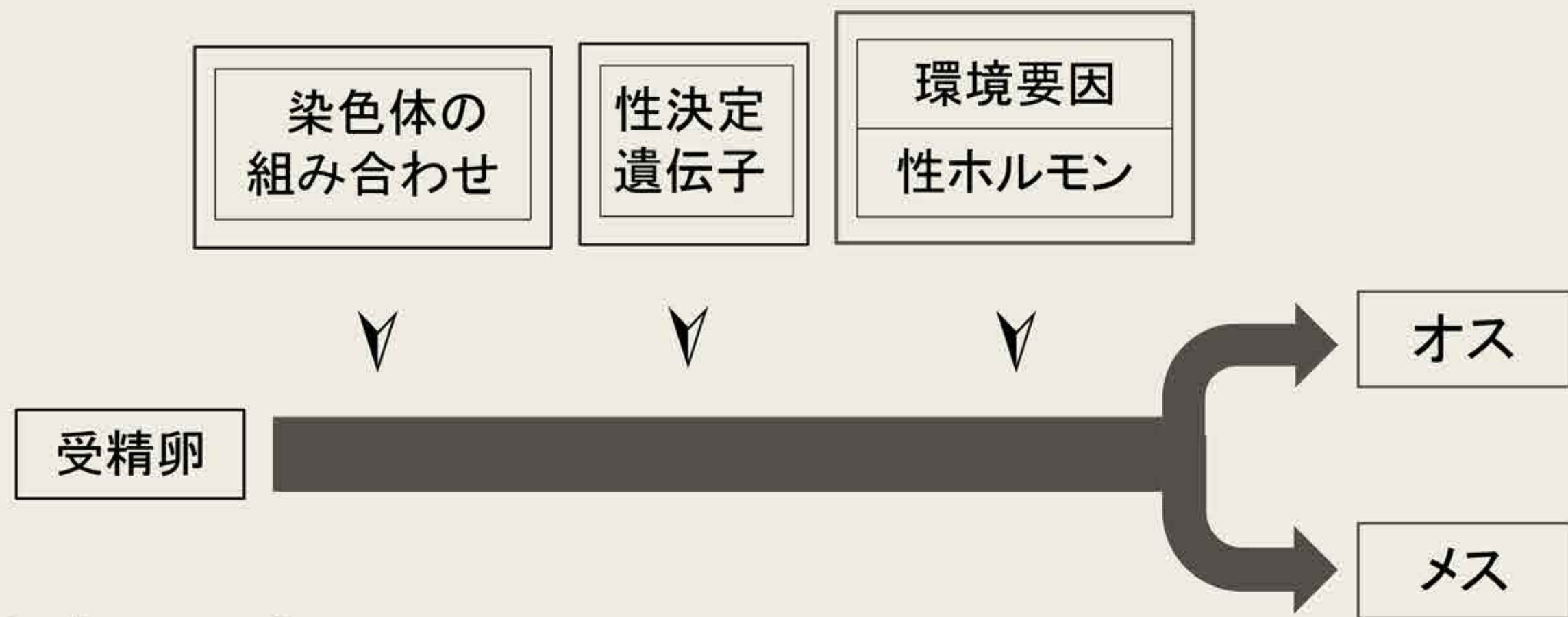


研究の背景と目的

多くの多細胞生物において性は普遍的なシステムとして存在する。しかし性決定システムについては不明な点も多くあり、脊椎動物では哺乳類のsry遺伝子がオスを決定する因子として見つかった。(1)

現在性決定遺伝子が見つかった生物は、メダカやフグなどの魚類、アフリカツメガエルなど(2,3,4)だが、哺乳類以外はその保存性が低く、種によって様々な遺伝子が性決定遺伝子となっている。

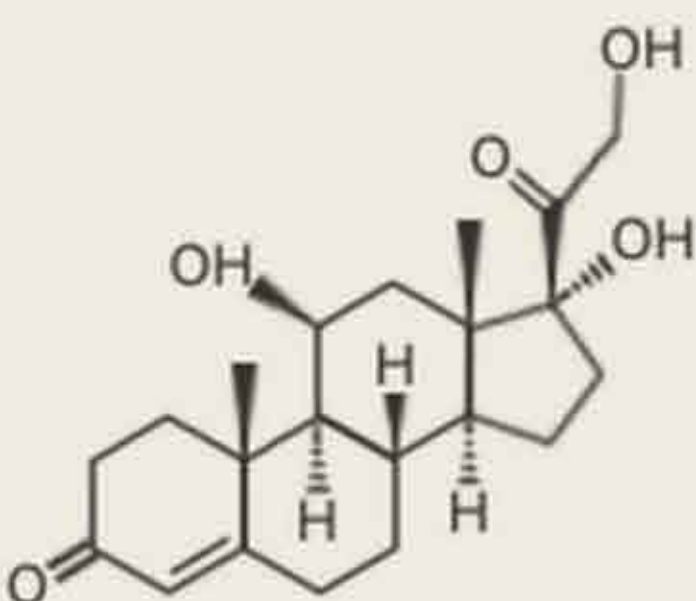
一方カメやワニなど、爬虫類には環境依存的に性が決定するものも存在し、魚類の中にも性分化時期の環境、特に高水温でオスに性転換するものも多く知られている。



基礎知識

コルチゾル

ストレスホルモン



- 副腎皮質ホルモンである糖質コルチコイドの1種
- ストレスによって分泌
- メダカやヒラメにおいて性転換を引き起こす(5,6)
- 高温水のとき体内で増える(メダカなど魚類)(5,6)

ニホンアカガエル

Rana japonica



- 体長: 成体のオスで34~63mmメスで43~67mm
- 本州から四国・九州にかけて広く分布する日本固有種のカエルである
- 分布域一部において生息条件が悪化している
- 「水辺と森林の連続性」が評価されている
- 環境変化の指標となっている

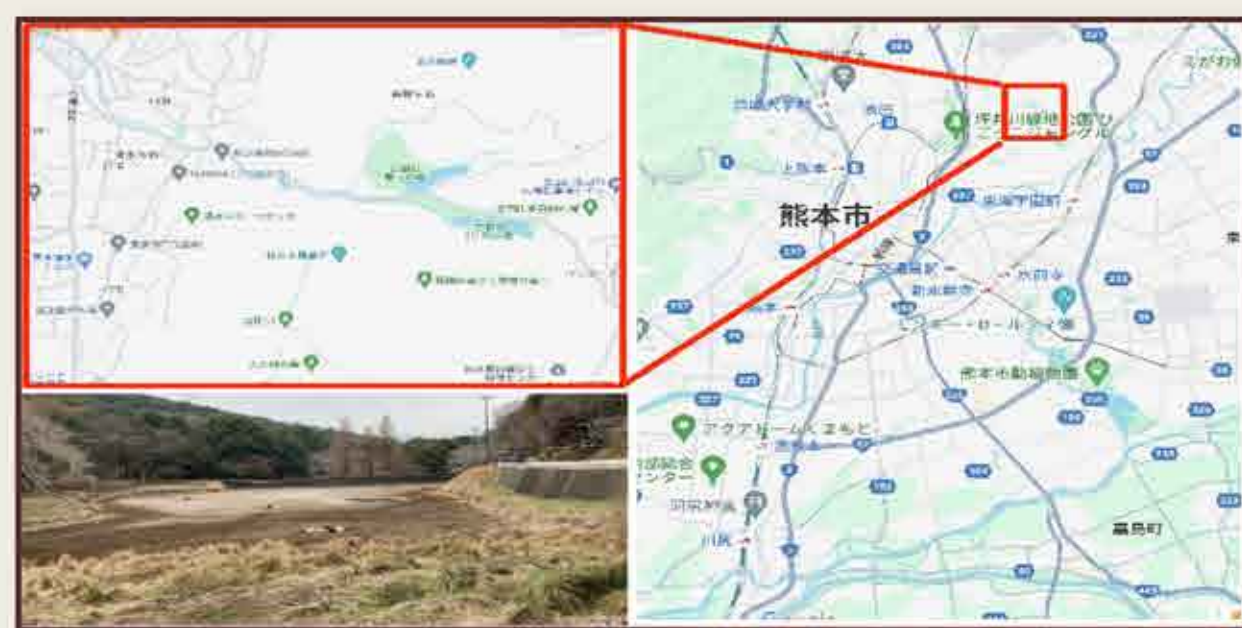
材料と方法

I. 卵塊のサンプリング

採集日
2024年2月10日

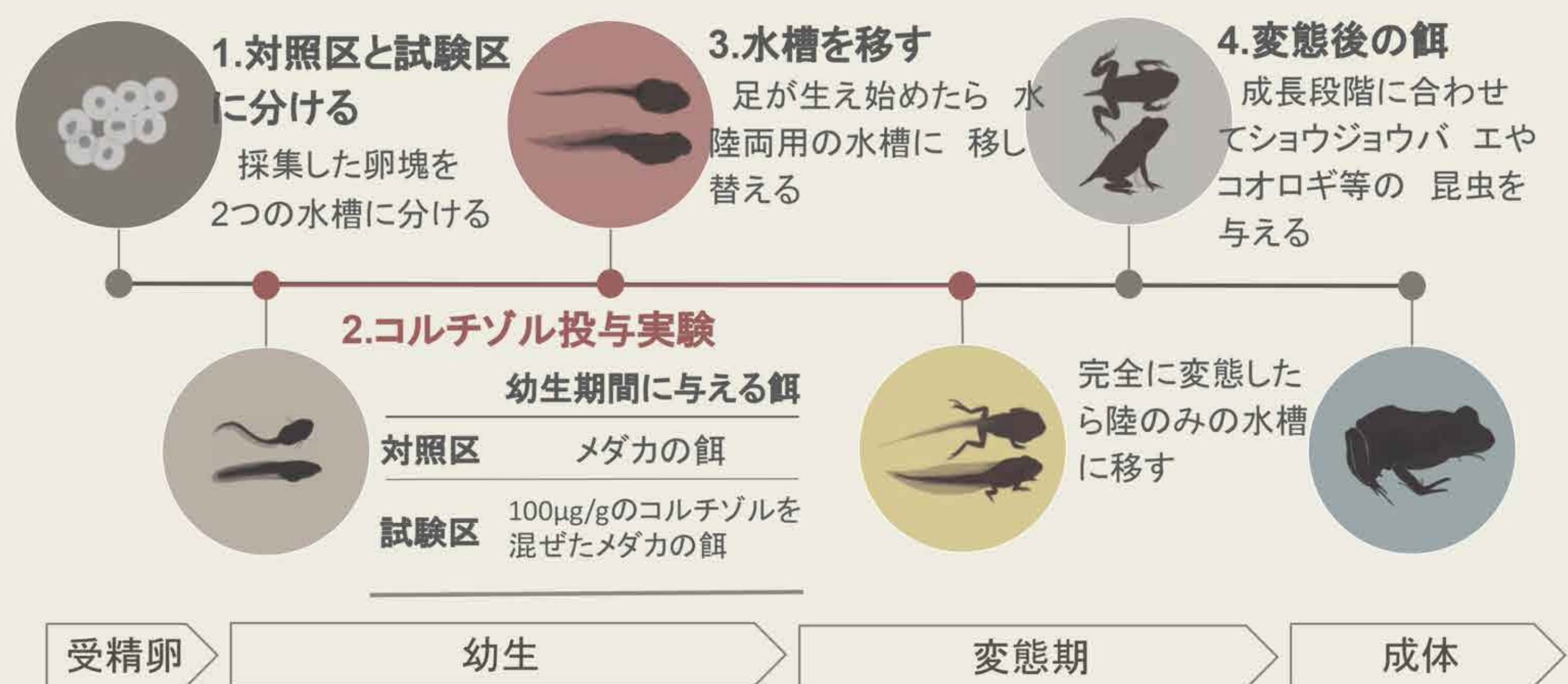
採集場所
熊本市立田山のトンボ池及びサクラ池

発生が進んでいない卵塊を採集



Googleマップより

II. 飼育実験

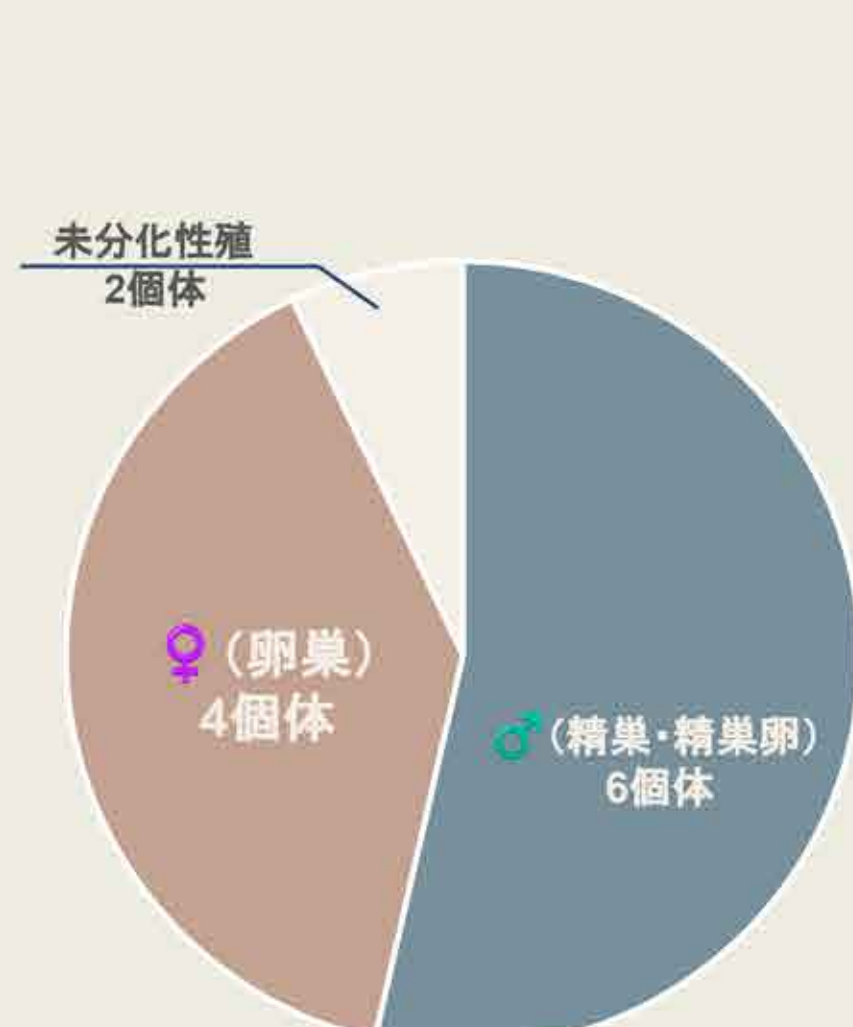
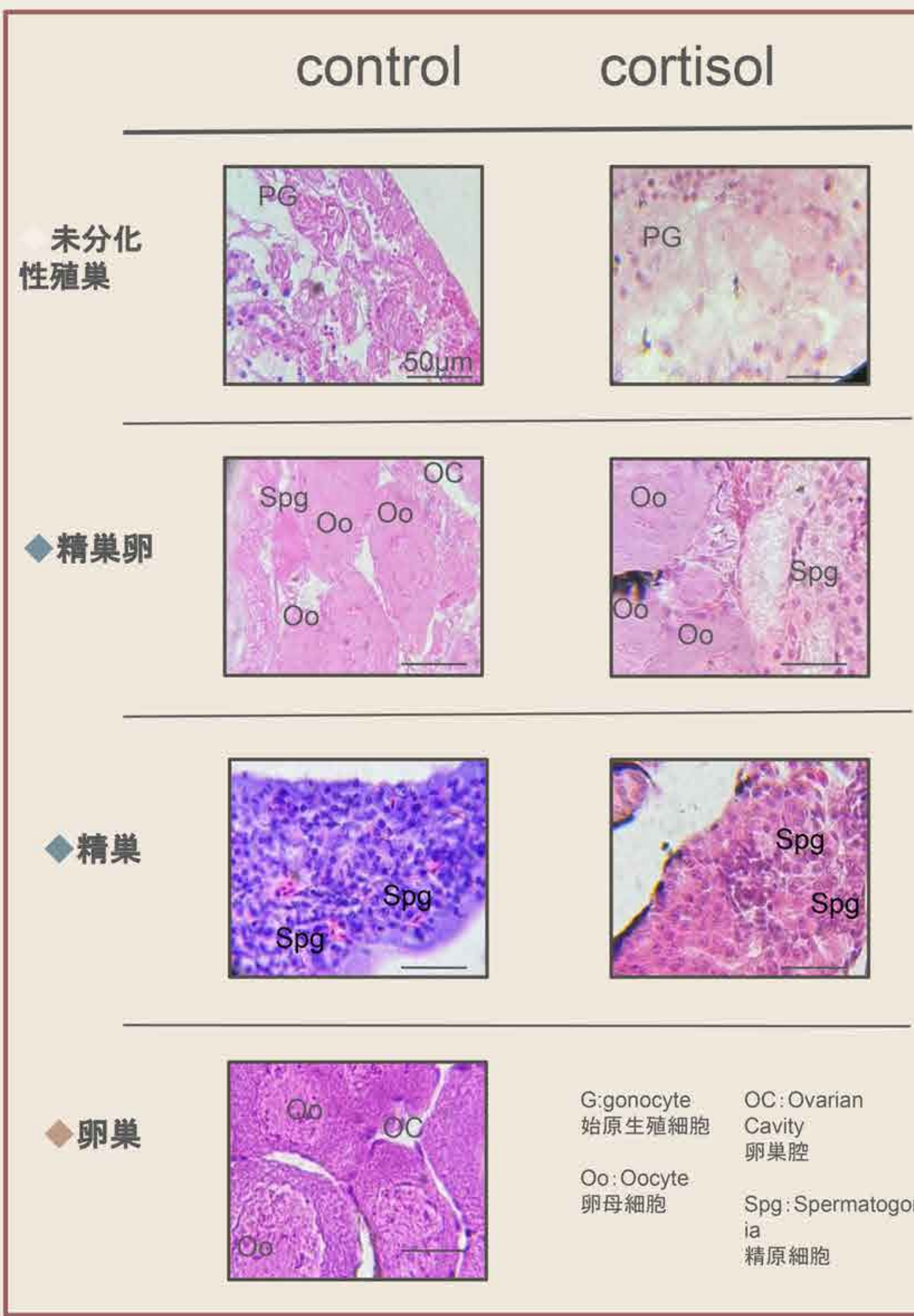


III. 性比調査

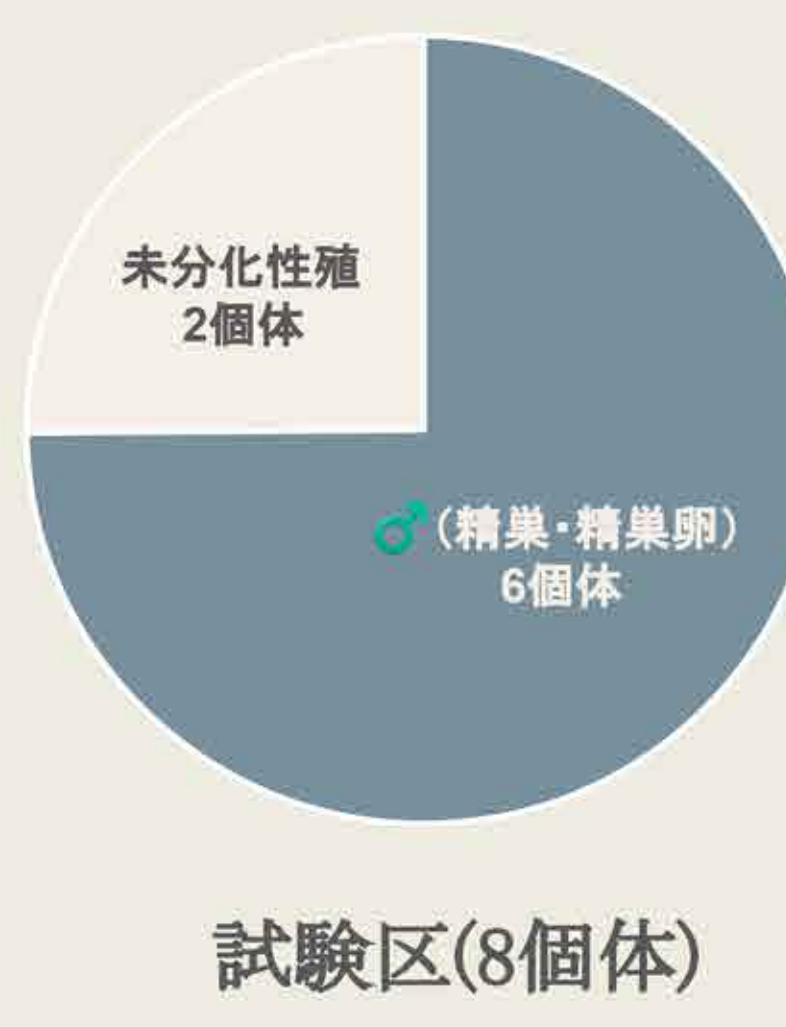


結果

対照区・試験区の性比結果



control		
固定日	確認できた生殖巣	雌雄
6/14 a	未分化生殖巣	—
6/14 b	精巣卵	♂ ^a
7/8 a	精巣	♂ ^a
7/8 b	卵巣	♀
7/25	卵巣	♀
7/30 a	精巣	♂ ^a
7/30 b	卵巣	♀
8/27 a	卵巣	♀
8/27 b	精巣	♂ ^a
9/5 a	精巣卵	♂ ^a
9/5 b	精巣	♂ ^a

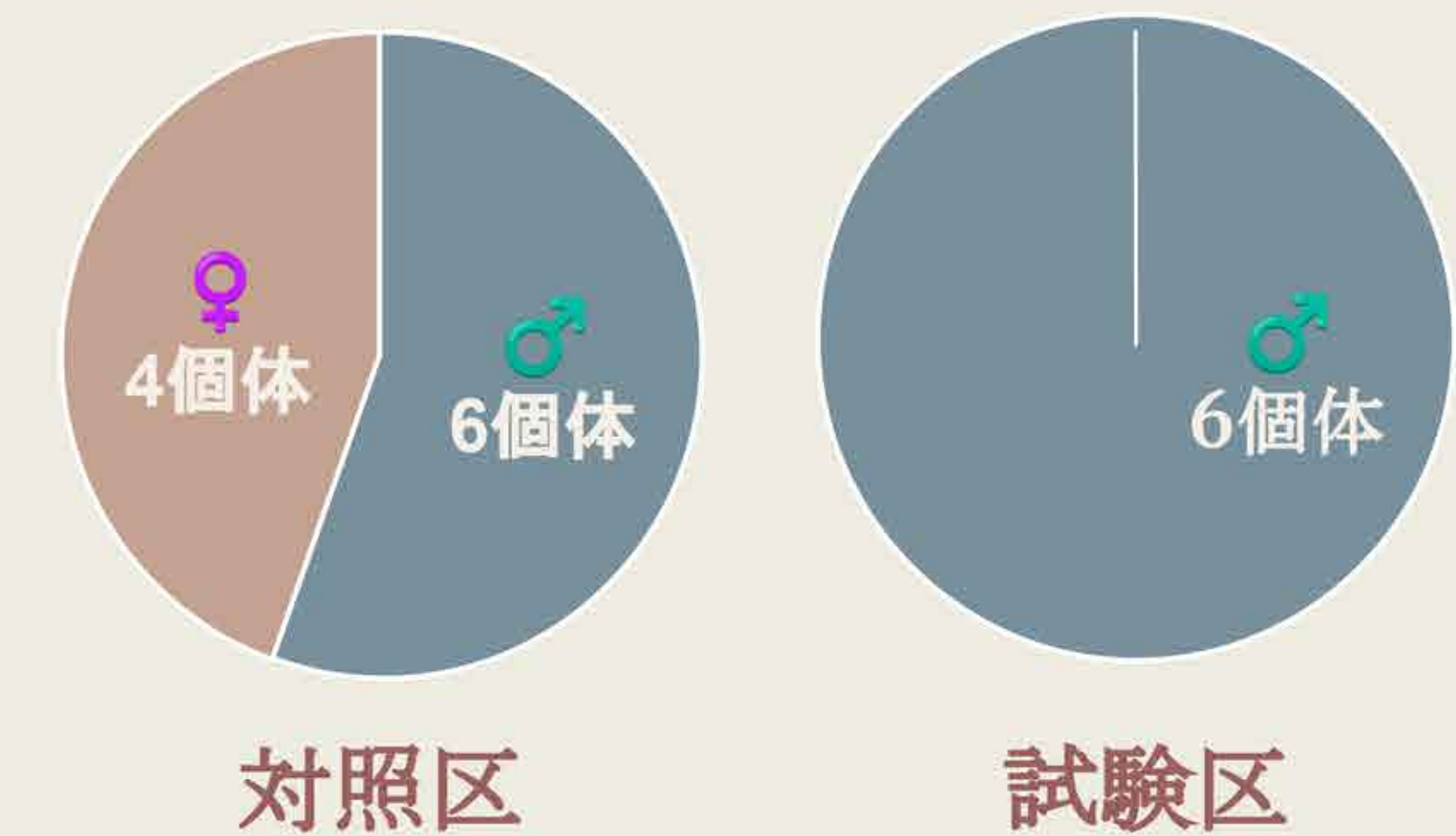


cortisol		
固定日	確認できた生殖巣	雌雄
5/27 a	未分化生殖巣	—
5/27 b	精巣卵	♂ ^a
5/27 c	未分化生殖巣	—
6/25	精巣卵	♂ ^a
7/9	精巣卵	♂ ^a
7/19	精巣	♂ ^a
7/24	精巣卵	♂ ^a
7/25	精巣卵	♂ ^a

ニホンアカガエルの性分化は、まず卵巣が発達し、そこから精巣へと発達していくため、明確な卵母細胞がない場合は未分化とした。メスは卵母細胞や卵巣腔を、オスはロビュール構造を目印とした。

その結果、対照区では未分化の生殖巣と判断した1個体を除き、オスは精巣または精巣卵が確認できた6個体、メスは卵母細胞や卵巣腔が確認できた4個体が確認できた。試験区では未分化の生殖巣と判断した2個体を除き、6個体中オスは精巣または精巣卵が確認できた6個体、卵母細胞及び卵巣腔のみ確認できた個体はいなかったためメスは0個体であった。

2区の比較



未分化生殖巣を除き、対照区ではオスとメスの割合が6:4、試験区では6:0という結果になった。

この結果について帰無仮説を「コルチゾルを餌に混ぜて飼育しても成分化に影響しない」として、カイニ乗検定を行った結果 $X^2=4.090>3.84$ となり、帰無仮説は棄却されたため、コルチゾルの投与により性比には有意に差のある結果が得られたと言える。

考察とまとめ

結果より、コルチゾル投与群はコントロール群よりも雄の比率が有意に多かったことより、ニホンアカガエルも硬骨魚類のようにコルチゾルによって性転換が引き起こされ雄化が進んだと考えられる。またコルチゾル投与群は未発達状態で死亡する個体や成長の遅い個体、尾や足に奇形が現れる個体が多く、カエルにストレスがかかっていたと考えられる。

まだすべての個体の切片を作成し観察し終えていないため今後調べる個体を増やし、コルチゾルの効果による結果の正確性を高めていきたい。水槽の温度を変えていた個体群の性比も調べ高水温によるストレスによってどのような影響があるのか調べていきたい。

そして、ストレスホルモンの分泌によって性転換が引き起こされ、オスの割合が増えるのであれば今後、地球温暖化などの気候変動に伴う環境変化に対するストレスでコルチゾルが分泌されたとき、メスの減少により、子孫を残すことが難しくなるため種そのものの個体数が減少していく可能性も考えられる。

ニホンアカガエルにおけるコルチゾルの分泌量などを調べなければ、断定的なことは言えないが、本研究でコルチゾルにより性比が変わる可能性を示すことができた。

参考文献

- Koopmanら. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. Nature. 1991. 351. 117-121.
- Matsudaら. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. Nature. 2002. 417. 559-563.
- Kamiyaら. A Trans-Species Missense SNP in Amhr2 Is Associated with Sex Determination in the Tiger Pufferfish, Takifugu rubripes (Fugu). PLoS genetics. 2012. 8:e1002798.
- Yoshimotoら. A W-linked DM-domain gene, DM-W, participates in primary ovary development in Xenopus laevis. PNAS. 2008. 105(7). 2469-2474.
- Hayashiら. High temperature causes masculinization of genetically female medaka by elevation of cortisol. 2010. Molecular Reproduction & Development. 146.
- Yamaguchiら. Cortisol Is Involved in Temperature-Dependent Sex Determination in the Japanese Flounder. 2010. Endocrinology 151. 3900-3908.
- 中村正久ら. 2017. 両生類の生殖腺分化比較内分泌学. シリーズ新しい内分泌現象 Vol. 43 No. 162.
- 中村正久. 2003. 両生類の性決定及び性分化. 日本皮革内分泌学会ニュース109号. P. 109~111.
- 丸山敬之. 1975. ヤマアカガエル幼蛙における体の発育と生殖腺分化の程度との関連. 日本爬虫両棲類学会大会記録.