

# 2013 年日本農學進步獎得主 大久保範聰博士研究內容介紹

劉恩良、何源興、陳文義

水產試驗所東部海洋生物研究中心

## 前言

臺灣與日本長期以來在科技與產業發展上，一直是既競爭又合作的關係，漁業與水產養殖領域更是如此。日本農學進步獎是由公益法人日本農學會主辦，每年從農業相關學會、研究機構與大學院校選拔出 10 名在日本從事與農業有關之生命科學、環境科學、生物生產科學、食品科學與國際貢獻成果斐然之 40 歲以下青年學者。受獎者皆是日本農學領域裡的傑出精英，深具指標與參考意義。去 (2013) 年水產領域中唯一的得獎者是東京大學大學院農學生命科學研究科的大久保範聰副教授，筆者摘譯他在受獎典禮中以「魚類腦的性成熟機制研究」為題的演講內容，希望能讓國內對魚類繁養殖與生理學有興趣的讀者，或是從事相關課題探索的研究人員，一窺日本在水產養殖領域中基礎研究的一隅。

魚類性成熟相關研究、人工催熟以及穩定的種苗生產，對水產繁養殖有很大的貢獻。然而，眾多研究都聚焦在生殖腺以及腦下垂體的性成熟相關課題上。這些器官以外，前端調控魚類腦的性成熟過程卻鮮為人知。大久保博士對魚類的腦如何經過特殊過

程達到性成熟，直到最終配子形成以及性行為的調控有相當新的研究突破。特別是配子形成與性行為兩者間之調控作用的腦內因子，以及眾所周知產生促性腺激素釋放 (gonadotropin-releasing hormone; GnRH) 神經與發育過程，用雌雄差異的模式當作研究焦點。

## 研究內容與成果

### 一、產生 GnRH 之神經發生與發育過程

包含魚類在內的脊椎動物，性成熟期腦內的特定神經產生 GnRH 與神經勝肽。這些物質誘導配子形成與性行為。然而，產生 GnRH 的神經發生與發育，以及對配子形成與性行為控制狀態，則所知有限。大久保博士運用生殖生物學、發生學與神經科學等領域，具有優勢特徵的日本稻田魚 (*Oryzias latipes*) 當作模式，解析產生 GnRH 神經元的發生與發育過程 (圖 1)。他首先完成日本稻田魚 GnRH 分子選殖確定。過去研究報告指出，日本稻田魚具有 2 種 GnRH，大久保博士研究結果發現新的 GnRH，包含在內共計 3 種 GnRH (GnRH1、GnRH2、GnRH3)。另外，日本稻田魚的 GnRH 受體選殖的結

果，確定共計 3 種 GnRH 受體 (GnRH-R1、GnRH-R2、GnRH-R3) 存在，魚類具有多種 GnRH 受體的現象因而得到證明。與包含人類、小鼠以及大鼠在內，僅具 1 種 GnRH 受體的哺乳類有所不同。從局部解析發現，GnRH1 從腦下垂體分泌促性腺激素，對配子形成具有促進的角色，GnRH2 與 GnRH3 則在腦內具有神經修飾物質功能之作用 (Okubo et al., 2003; Wayne et al., 2005; Karigo et al., 2012)。GnRH2 與 GnRH3 兩者，或其中之一具有促進性行為的角色。另外，GnRH 受體之配體選擇性研究結果顯示，GnRH-R3 媒介 GnRH1 從腦下垂體分泌促性腺激素，另一方面 GnRH2 與 GnRH3 神經修飾物質一同作用，顯示 3 種 GnRH 受體具有相互關聯性 (Okubo et al., 2001; Okubo et al., 2003)。綜合上述結果，為了觀察 GnRH 神經元的發生過程，他藉由螢光蛋白質標識技術作出可視化的基因轉殖日本稻田魚 (圖 2)，GnRH 神經元的發生與發育可被即時追蹤 (Okubo et al., 2006; Kanda et al., 2010)。從腦下垂體促性腺激素分泌，促使配子形成作用得以進行的 GnRH1 神經元，在鼻部和後腦前端部生成後，朝腦後方移動，當到達視索前野時，從此處與腦下垂體連繫。另一方面，被認為與性行為有關的 GnRH2 與 GnRH3 神經元，則逐一由中腦與鼻部形成，GnRH3 神經元則在鼻部形成後，從嗅球到視索前野的區域移動。另外，*p73* 基因是移動後的 GnRH3 神經元定著時所必須的因子，人類生殖疾病 X 染色體鏈鎖卡爾曼症候群 (Kallmann syndrome) 的基因 *KAL1* 控制 GnRH1 與 GnRH3 神經元，從鼻部到腦內的

移動 (Okubo et al., 2006)。GnRH2 與 GnRH3 皆由母系遺傳而來，初期發生過程中非常強的表現顯示，與前腦、眼和嗅覺器的形態形成有關。同樣地，在腦形態形成作用上，性成熟期以後的 Kisspeptin 對 GnRH 扮演著促進分泌的角色 (Hodne et al., 2013)。他發現初期發生過程中 GnRH 和相關分子，出乎意料地與性成熟不相關。

## 二、腦的性別差異與性別分化的過程

小鼠與大鼠在出生前後，根據遺傳因子 (性染色體和性別決定基因) 與內分泌因素的作用，腦朝向兩性之一方進行分化。因此，性別分化完成一方之對應行為，與配子形成相關的內分泌模式可被發現。通常，雄性或者雌性之任一分化完成腦的性別，在生活史中不會發生逆轉。但是魚類在性成熟後，因性激素處理過程，異性的行為模式與生殖腺構造可經誘導而獲得。在自然條件下，自發的性轉變魚種不少。因此，魚類的腦即使發生性別分化，但也保持終其一生性別的可逆性，依靠外在與內在的因子作用逆轉性別。所以，魚類腦的性別分化，明顯和小鼠與大鼠的調控機制不同。然而，魚類的腦性別差異存在的實際分子作用機制，仍舊是未知領域，其實魚類的腦到底存在什麼樣的性別差異，到目前為止，還沒有人能夠掌握。他以日本稻田魚為實驗模式，對魚類腦的性別差異與性別分化過程做了分析工作。

首先，他將日本稻田魚的腦內具性別差異的基因，與跟性別有關的基因選殖出來。之後，將這些基因在腦區作一對應拼圖，並掌握基因表現的性別差異。在這過程中，雌魚隨著個體成長在端腦腹側，與視交叉前區

的一部分區域，同時具有雄性激素與雌性激素受器 (Hiraki et al., 2012)。這些腦區已有報告指出是魚類性行為的控制中樞，只有雌魚可以在這些區域接受雄性激素與雌性激素。根據研究顯示，這些區域除了雌性具有特殊的巨大神經細胞外，雌魚也具有較多被活化的神經元細胞。這種激素的接受性，與神經元的形態和活化程度，可能與性行為時性別的差異有關。從這些腦區域發現，雄性激素受體與雌性激素受體具有雌性特異性，可促進雌性激素以及抑制雄性激素雙重的功能。當人為改變兩種激素平衡時，甚至在性成熟後，這性別特異性仍可以出現逆轉。將這腦區所發現的雌性激素受體的亞型基因 *esr2b* 剔除之後，雌性會變成毫無性行為能力，顯示這類雌性特異的 *esr2b* 對雌性性行為有重要的作用。另一方面，不單是雌性激素，而且雄性激素也被接受的雌性獨有之現象。雄性激素受體在雌魚體內穩定表現，是什麼原因體內一直有雄性激素增加預備的狀況呢？有可能是腦隨時在準備去雌性化。這樣的系統很可能是魚類性行為模式中，性別可逆性的分子基礎。同時經分子篩選所得其他基因作進一步分析的結果指出，截至目前發現中腦視蓋的一部分，存在有未成熟的放射狀神經膠細胞 (radial glia)，可將雄性激素轉換成雌性激素的芳香酶 (aromatase) 基因 *cyp19a1b* 在雌魚腦內被發現。雌性激素對中腦視蓋的細胞週期有影響 (Okubo et al., 2011; Takeuchi et al., 2013)，而新命名的 heme-binding protein 3 與其基因 *hebp3* 在包裹腦組織的腦髓膜，顯示偏向在雌性表現 (Nakasone et al., 2013)。在視床下部、與性行

為和攻擊行為有關的禽類催產素 vasotocin 之基因 *vt*，則只在雄性有特異性表現 (Kawabata et al., 2012)。與性類固醇受體同樣在雌性所發現，但功能尚未清楚之神經勝肽，確定存在上述與性行為有關的腦區。這些被確定的基因群，經多方面的解析顯示，大部分的基因在初期發育階段並無性別差異，一直到性成熟的開始階段 (第二性徵出現期) 才表現出性別的差異，並非藉由遺傳，而且性別的表現型具一致性、不論性成熟後，將生殖腺去除或利用性激素處理、顯示與性別依存相關的表現模式，在雌雄之間具逆轉的現象 (Okubo et al., 2011; Hiraki et al., 2012; Nakasone et al., 2013)。許多被確認的基因與性激素受體皆表現在相同的細胞中，顯示性激素直接調控這些基因的轉錄活性。從這些結果得知，日本稻田魚與大鼠、小鼠迥異，在性成熟前日本稻田魚腦的性別並未建立，腦的性別分化與腦形成後性別差異的維持，並非由性染色體上的基因所控制，顯示性成熟後，由生殖腺產生的雄性素與雌性素之間的平衡造成可逆的結果 (圖 3)。所以，魚類的腦具有性別可逆轉的特性，不論生殖腺為精巢或是卵巢，腦的性別都可自由的變換。

## 結語

大久保博士正針對魚類腦的性別差異，與性別分化的分子機制作更深入的解析，特別是對一些已經由他的研究團隊所選殖確定，在腦的性別差異與性別分化有關的基因，預期能在基因本身與表現型的性別差異

之間的關聯性上有突破性的發現。這些基因不只與魚類配子形成和性行為有關，更與攻擊性、成長、與對緊迫耐受力有關。若這些基因的生理機能與作用機制被完整解析出來，相信對魚類繁養殖將是一大助益。

## 誌謝

感謝東京大學大學院農學生命科學研究科大久保範聰副教授，慷慨提供圖片與相關說明。

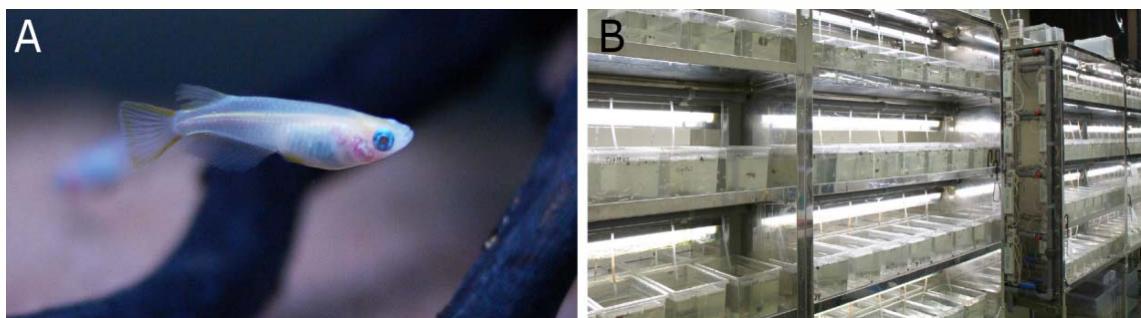


圖 1 實驗模式魚。A：日本淡水稻田魚 (Medaka)；B：足夠生產並蓄養數千尾稻田魚的實驗室養殖設備

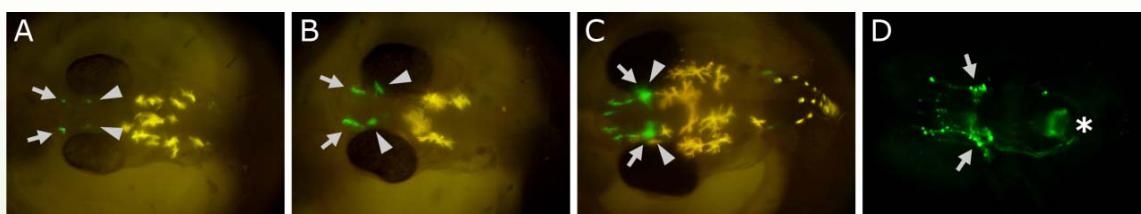


圖 2 稻田魚胚胎經綠螢光蛋白所標識之 GnRH1 神經元。A：二日齡；B：三日齡；C：四日齡（背側觀：左為胚胎前部）；D：從二十日齡仔魚所解剖而得的腦（腹側觀：左為胚胎前部）。箭號（左）與箭頭（右）分別指出 GnRH1 神經元起源於嗅覺區與端腦區；星號指處為腦下垂體

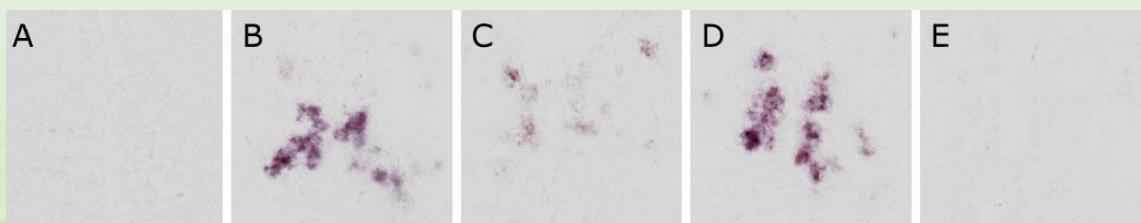


圖 3 雌性素受體在稻田魚腦部視前區細胞核具有雌性專一的表現。雌性素受體以 RNA 原位雜交染色方式，分別在以下視前區細胞核的呈色結果。A：雄魚；B：雌魚；C：切除卵巢後之雌魚；D：切除卵巢後經雌性素處理之雌魚；E：切除卵巢後經雄性素處理之雌魚