

# 琉球大学学術リポジトリ

雌性先熟魚ヤイトハタ *Epinephelus malabaricus*  
の性分化に関する生理学的研究：  
魚類における生殖腺の性分化の多様性と性的可塑性

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学 公開日: 2016-05-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村田, 良介, Murata, Ryosuke メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/33788">http://hdl.handle.net/20.500.12000/33788</a>

## Abstract

Since sexual reproduction generates biodiversity and evolution, sex differentiation is the most important process of ontogenesis. Therefore, it is essential to study sex differentiation in order to understand diversity and evolution in organisms. However, there is little information on sex differentiation in hermaphrodite fishes (Chapter I).

To clarify gonadal sex differentiation in the protogynous hermaphrodite Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus*, the process of gonadal sex differentiation was followed histologically for three years from hatching in chapter II. The observations demonstrate that morphological changes associated with ovarian differentiation in the Malabar grouper begin at approximately 50 days post-hatching (DPH) and that in all individuals the gonads directly differentiate into ovaries. Next, in chapter III, the presence of three steroidogenic enzymes was followed immunohistochemically in the gonads during ovarian differentiation to understand the role of sex steroid hormones on gonadal sex differentiation in this fish. The results suggest that endogenous estrogen is involved in ovarian differentiation. In addition, androgen-producing cells which may function during sex change at adult stage, are already differentiated in the ovarian tunica at the end of sexual differentiation. In chapter IV, the expression patterns of gonadotropins mRNAs and proteins in the fish pituitary throughout gonadal sex differentiation were monitored to clarify the roles of pituitary gonadotropins in this process. From the results, it seems unlikely that gonadotropins have major involvement in gonadal sex differentiation in the Malabar grouper. In chapter V, to clarify sexual plasticity the potential for precocious sex

change to male, in immature female Malabar grouper, the effect of  $17\alpha$ -methyltestosterone (MT) and aromatase inhibitor (AI) administration on precocious sex change from the immature female to male at different ages (0-3 years old) was investigated. The findings support the view that germ cells in the immature ovary of this grouper can differentiate into male germ cells under the influence of androgen. However, androgen-induced precocious sex change from the immature female to male is not permanent; the gonads reverse again from the testes to the ovaries after withdrawal of androgen treatment. Subsequent studies suggested that MT has little effect on endogenous steroidogenesis at immature stage, which is one cause of sex change reversal following treatment withdrawal.

In conclusion, this study indicates that all individuals of Malabar grouper develop into females. No primary males were observed. I speculated that this phenomenon indicates the lack of obligate sex determining factors, such as the sex-determining gene discovered in other vertebrates. The gonadal sex differentiation in this species is thought to be unique compared with that in many gonochoristic fish, and it is demonstrated that fishes show a unique and rich diversity in the sex differentiation. From the results of precocious sex change experiments, immature female Malabar grouper shows high sexual plasticity in gonial germ cells, but the functional sexual plasticity in somatic cells, especially endogenous steroidogenesis, is low at this stage (Chapter VI).

## 概要

有性生殖は生物に多様性や進化を生み出す。生物が誕生して性決定した後、生殖腺が卵巢もしくは精巢へと性分化することで個体に雌雄がもたらされ有性生殖を可能にする。したがって生物の生殖腺の性分化を研究することは生物の多様性や進化、成り立ちを理解する上で生物学的に重要である。しかしながら性転換を行う雌雄同体魚種の性分化に関する研究はこれまでほとんど行われていない (Chapter I)。

本研究では雌性先熟魚ヤイトハタ *Epinephelus malabaricus* をモデルとして、まず生殖腺の性分化過程を組織学的に調べた。その結果、ヤイトハタでは孵化後約 50~80 日目に全ての個体の未分化生殖腺が卵巢に分化する、すなわち全ての個体がメスに分化することが明らかになった (Chapter II)。次にヤイトハタの生殖腺の性分化における性ホルモンの関与を調べるために、性分化に伴う生殖腺でのステロイド代謝酵素の発現変化を免疫組織化学的手法により調べた。その結果、未分化生殖腺中に雌性ホルモン産生細胞が分化し、この細胞で産生される内因性の雌性ホルモンが生殖腺の性分化に関与していることが強く示唆された。また、性分化末期になると雄性ホルモン産生細胞が卵巢外皮に出現することが明らかになった

(Chapter III)。続いてヤイトハタの生殖腺の性分化における生殖腺刺激ホルモンの果たす役割を明らかにするために、性分化に伴う脳下垂体での生殖腺刺激ホルモンの mRNA およびタンパクの発現変化をリアルタイム PCR および免疫組織化学的手法により調べた。その結果、ヤイトハタの生殖腺の性分化に脳下垂体で合成される生殖腺刺激ホルモンは関与していないことが示唆された (Chapter IV)。最後に、水産学的応用を目指して性分化後の未熟な時期の

ヤイトハタに外因性の雄性ホルモン ( $17\alpha$ -methyltestosterone: MT) および雌性ホルモン合成酵素阻害剤 (Aromatase inhibitor: AI) を処理し、未熟なメスからオスへの早期性転換を試みた。その結果、性分化後の未熟なヤイトハタに MT 処理を行うことでオスへの性転換を誘導し精子を得られることが明らかになった。しかし、未熟な時期の早期性転換は永続的ではなく、MT 処理を停止すると速やかに精巣から卵巣へと逆戻りすることが明らかになった。この現象は MT が内因性の性ホルモン合成系に影響を与えていないことが一つの原因であることが示唆された (Chapter V)。

本研究によりヤイトハタは全ての個体がメスになり生まれつきのオスは存在しないことが明らかになった。この事実からヤイトハタは性決定遺伝子を持たず、生殖腺が自律的に雌性ホルモンを産生して卵巣に分化すると推測された。このような性分化は雌雄異体魚の性分化と比較して非常に特殊であることから、魚類の生殖腺の性分化機構には多様性があることが明らかになった。早期性転換誘導の結果から、未熟なメスのヤイトハタの生殖腺中の生殖原細胞は常に高い性的可塑性を持ち、体内の性ホルモンのバランスに従って卵にも精子にも分化できる両性能を持つことが示唆された。一方で生殖腺中の体細胞の機能、特に性ホルモン合成機能に関しては外因性性ホルモンの影響を受けにくく、性的可塑性は低いと考えられた (Chapter VI)。