

## Abstract

## 論 文 題 目

The sexual plasticity of ovary in two species of gonochoristic fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and the goldlined spinefoot *Siganus guttatus*

It is well known that in gonochoristic fish, treatment with exogenous sex hormones cannot induce sex reversal after gonadal sex differentiation because the gonads lose their bipotentiality. However, there is insufficient information regarding the sexual plasticity of the adult gonads, including issues such as the origin of germ cells and Leydig cells during early testicular differentiation in the developed ovary.

At the beginning of this investigation, attention focused on the steroid producing cells (SPCs), as it is generally known that sex hormones are usually produced from SPCs and play important roles in the differentiation of germ and somatic cells. The origin and differentiation of SPCs and folliculogenesis during ovarian development of Nile tilapia were immunohistochemically and ultrastructurally examined.

Because fadrozole, a commonly used non-steroidal AI, is no longer available for experimental purposes, exemestane (EM), a new-generation steroidal AI, was tested for studying sex differentiation in Nile tilapia. The effectiveness of EM was examined and it was found that treatment of tilapia juveniles with EM (1000µg/g diet) during critical period of sex differentiation leads to the development of testes, apparently by a complete suppression of aromatase activity.

The success of EM treatment led me to conduct sexual plasticity experiments in two different age groups of Nile tilapia after ovarian differentiation, which are the main themes of the research. I investigated the origin and differentiation of SPCs and of Leydig cells, which are the site of androgen production during early testicular differentiation in the differentiated ovary. Treatment of 70 and 150 dah female tilapia with EM after completion of ovarian differentiation showed a redirection to testicular differentiation that eventually led to production of functional sex changed male from female with immature and mature ovaries. This is the first report of functional induction from adult female to functional male in gonochoristic fish.

To reconfirm the presence of sexual plasticity in the ovary of another gonochoristic fish, the goldlined spinefoot *Siganus guttatus* was used as a model. Two different age groups, i.e., 60 and 150 dah, of fish were treated with EM 1000µg/g diet for long periods (8-9 months). Sex distribution in the two EM experimental groups was biased toward the presence of males and hermaphrodites. Sex distribution and gonadal histology revealed that EM treatment brought about testicular differentiation in the ovary after the completion of ovarian differentiation in *S. guttatus* as a result of E2 depletion. Therefore, sexual plasticity may actually be a more widespread feature than previously believed.

Name: Ruksana Sabina

平成23年8月8日

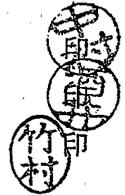
琉球大学大学院  
理工学研究科長 殿

論文審査委員

主査 氏名 中村 將

副査 氏名 酒井一彦

副査 氏名 竹村明洋



### 学位（博士）論文審査及び最終試験の終了報告書

学位（博士）の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

#### 記

申請者	専攻名 海洋環境学 氏名 Ruksana, Sabina 学籍番号 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span>	
指導教員名	中村 將	
成績評価	学位論文 <input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格	最終試験 <input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格
論文題目	The sexual plasticity of ovary in two species of gonochoristic fish, the Nile tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> and the goldlined spinefoot <i>Siganus guttatus</i> (二種の雌雄異体魚ナイルティラピア <i>Oreochromis niloticus</i> とゴマアイゴ <i>Siganus guttatus</i> の卵巣の性的可塑性)	
審査要旨 (2000字以内)	雌雄異体魚の性分化後の生殖腺は性的可塑性を失い、卵巣は精巣へ転換させることは不可能であると考えられてきた。申請者は二種類の雌雄異体魚の性分化後の卵巣を用いて、雌性ホルモンの合成を阻害し、低下させることで卵巣が機能的精巣へと分化転換する能力（性的可塑性）を持つことを脊椎動物ではじめて証明した。	

(次頁へ続く)

## 審査要旨

性的可塑性を証明するための基礎的情報として、可塑性を調節する性ホルモン産生の場である性ホルモン合成細胞(SPC)の分化・発達についてナイルティラピアの卵巢を用いてステロイド代謝酵素の特異抗体による免疫細胞化学的および微細構造学的手法により調べた。その結果、SPCは血管周辺部にある未分化細胞群より分化・発達することを明らかにした。卵巢の発達に伴いSPCは繊維芽細胞に取り囲まれ、発達した卵母細胞周部に移動して莢膜細胞になることを明らかにした。次に、性的可塑性を証明するために雌性ホルモンの合成を阻害するステロイド系のアロマトラーゼ阻害剤であるエキセメスタン(EM)の魚類における有効性について調べた。全雌のティラピアを用いて性分化期に種々の濃度で経口的に投与して性分化に及ぼす影響を調べた。その結果、1、2mg/g餌料で処理した全ての個体は性転換して雄になることを明らかにした。このことからEMは、魚類においても有効で雌性ホルモンの合成を抑制することで性転換を誘導することを証明した。

全雌ティラピアの孵化後70日の未熟卵巢と150日の成熟直前の卵巢の性的可塑性をEM 4-8ヶ月間連続的に投与することで調べた。その結果、孵化後70日の卵巢ではEMを1ヶ月連続的に投与することで卵巢中に精巢組織が分化することを明らかにした。一方、孵化後150日の卵巢では、EMを3ヶ月連続的に投与することではじめて卵巢に精巢組織が分化した。EM処理期間は雌性ホルモンの血中濃度が対照と比べて著しく低下するが、雄性ホルモンは増加しないことが明らかになった。このことから、雌の雌性ホルモンの長期の低下は卵巢中に精巢分化をもたらすことを明らかにした。このことから、卵巢分化後の卵巢中には長期にわたって精巢へと分化可能な体細胞と生殖細胞があることを証明した。孵化後70日の未熟卵巢の精巢組織は卵巢の先方部位から後方部位にかけて広く出現することを明らかにした。一方、孵化後150日の成熟直前の卵巢では、精巢分化を誘導するものの、精巢の出現は、後方の卵巢腔に面する極限られた部位であった。このことから、卵巢の発達の初期には可塑性の持つ体細胞と生殖細胞は卵巢の前方から後方に渡り広く分布しているが、成熟に伴い生殖腺の後方の特定の部分にのみ分布することを明らかにした。精巢組織中の性ホルモン合成の場であるSPCは精巢分化後に分化することも明らかにした。EMにより卵巢分化後に雄へ性転換した個体は正常な雄の性行動を示し、正常雌と交配し全雌の子孫を残すことを証明した。卵巢分化後においても機能的な雄へと誘導することが出来ることを脊椎動物においてはじめて証明した。

このような性分化後の卵巢の性的可塑性が他の雌雄異体魚の卵巢においても共通に認められるかについて熱帯性の雌雄異体魚であるゴマアイゴを用いて調べた。孵化後60および150日の卵巢分化後の個体にEMを3-8ヶ月間連続投与した。その結果、60日から処理した群では、正常な卵巢は全く見られず、約半数個体はわずかに卵母細胞が認められるが大半が精巢組織で占められる雌雄同体であった。150日からの処理群ではわずかに卵巢を持つ雌が見られるものの多くは卵巢から精巢へと転換したと判断される雌雄同体魚が出現した。残りの半数は遺伝的と思われる雄の精巢であった。このことから、ゴマアイゴの卵巢においてもティラピアと同様に卵巢分化後においても性的可塑性を持ち、精巢へ分化転換が可能であることを明らかにした。性分化後の卵巢には性的可塑性を持つ体細胞と生殖細胞が広く魚類の生殖腺に存在していることを証明した。

以上のように、熱帯性の雌雄異体魚の分化後の卵巢においても性的可塑性を持つこと、性的可塑性を持つ体細胞と生殖細胞は成熟に伴い特定の場所に分布すること、更には卵巢を機能的な雄へと転換させる技術を開発したことは博士論文として十分に評価されるものである。

したがって、本研究成果は海洋環境学において有用であり、提出された学位論文は博士の学位論文に相当するものと判断し、学位論文の審査を合格とする。また、平成23年8月8日に行われた論文発表会における発表ならびに質疑応答において、申請者は専門分野および関連分野の十分な知識ならびに琉球大学大学院理工学研究科博士後期課程修了者として十分な研究能力を有していることが確認できたので最終論文審査委員会は全会一致で最終試験を「合格」とした。