

## 論文要旨

### 論文題目

Morphological and Experimental Studies on Sex Differentiation and Sex Change in the Protandrous Anemonefish *Amphiprion clarkii*

雄性先熟魚クマノミ *Amphiprion clarkii* の性分化、性転換における形態学および実験学的研究

サンゴ礁域に棲む魚類には、雄から雌、雌から雄へと一生の間に性を変える種がいる。これまで、サンゴ礁魚類の性転換を対象とした生理学的研究は少ない。クマノミ属の魚は、社会的環境に依存して雄から雌への性転換を行うことから興味深い種であるが、これまで、性分化及び性転換の詳細な生理機構はほとんど明らかになっていない。本研究では、雄性先熟魚クマノミの性分化及び性転換機構を内分泌学的観点から明らかにするために、形態学および実験形態学的手法を用いて研究を行った。この論文における主な研究結果は、次の通りである。1) 組織学的観察から、雌性先熟魚であるクマノミでは、全ての個体の生殖腺は、まず始めに卵巣へと分化し、その後かなり遅れて、精巣組織が卵巣組織内に分化し、両性生殖腺を形成するという特徴的な性分化過程を経ることが明らかになった。2) 内因性性ホルモンの性分化における働きを明らかにするために、免疫組織学的手法を用いて、ステロイド合成酵素であるコレステロール側鎖切断酵素(P450<sub>scc</sub>)、11 $\beta$ -水酸化酵素(P450<sub>11 $\beta$</sub> )、アロマターゼ(P450<sub>arom</sub>)の抗体を用いて発現を調べた。その全ての酵素は、性分化期、両性生殖腺形成期において発現していることから、生殖腺の性分化過程に、内因性性ホルモンが重要な役割を果たしていることが示された。3) 内因性の雌性ホルモンの性分化における役割を明らかにするために、雌性ホルモンの合成を阻害するアロマターゼ阻害剤(AI)及び雌性ホルモンの受容体への結合を阻害し、雌性ホルモン作用の発現を抑制する抗雌性ホルモン剤(タモキシフェン:TF)の性分化に及ぼす影響を調べた。その結果、AIおよびTFは、卵巣分化を阻害しなかったが、雌性ホルモンおよびその働きの低下が卵巣内への精巣組織の分化を誘導した。このことから、内因性雌性ホルモンは、卵巣分化に必須ではないものと考えられた。4) 雌性ホルモンの精巣分化の役割を明らかにするために、外因性の雌性ホルモンの精巣分化前の生殖腺と両性生殖腺への影響を調べた。その結果、雌性ホルモンは、卵巣内への精巣組織の分化を抑制し、両性生殖腺形成を阻害した。さらに、両性生殖腺の精巣組織の消失を引き起こした。このことから、雌性ホルモンは、精巣分化および両性生殖腺の形成、発達を抑制する可能性が高いことが示された。5) 雄性ホルモンの性分化における役割を明らかにするために、外因性の雄性ホルモンの性分化および両性生殖腺の発達に及ぼす影響を調べた。その結果、雄性ホルモンは、卵巣分化の前後の生殖腺に雄化を誘導しなかった。さらに、両性生殖腺の卵巣への精巣分化、発達においても影響を与えなかった。しかしながら、卵巣腔の形成の遅延や輸精管様構造の分化を引き起こした。このことから、雄性ホルモンは、生殖細胞の分化よりはむしろ体細胞の分化に関与している可能性が高いことが示された。6) 性転換の内分泌による制御機構の基礎的知見を得るために、機能的な雄と雌における内分泌学的な差を調べた。その結果、機能的な雄の生殖腺は、未発達な卵巣組織と精子形成が活発な精巣組織の両方を持つ両性生殖腺であったが、機能的な雌の生殖腺は、卵巣組織のみであった。さらに、雄では、雄性ホルモンが高く、雌性ホルモンが低かったのに対し、雌では雌性ホルモンが高く、雄性ホルモンが低かった。このことから、生殖腺構造だけでなく、性ホルモン産生においても明らかな雌雄差があることがわかった。7) クマノミの生殖腺の可塑性を調べるために、機能的な雌の卵巣へのAIの影響を調べた。その結果、処理した6割の個体の生殖腺で、卵巣中に精巣組織が出現し、通常起こらないとされる雌から雄への性転換を誘起することが可能であると示された。このことから、クマノミの生殖腺は、可塑性を持っていることが明らかになった。

これらの結果から、雄性先熟魚クマノミの性分化過程の卵巣分化には、雌性ホルモンおよび雄性ホルモンのどちらも直接関与している可能性が低いことが明らかになった。一方、精巣分化に伴う両性生殖腺の形成には、雌性ホルモンが低下し、雄性ホルモンが上昇することが重要であるものと考えられる。さらに、雄から雌への性転換過程において、雄性ホルモン産生から雌性ホルモン産生の切り換えが引き金となっている可能性が高いことが考えられる。従って、雄性先熟魚クマノミの性分化、両性生殖腺形成および性転換機構において、性ホルモンが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

氏名 三浦 さおり

平成20年 2月 13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 日高 道雄  
副査 氏名 池田 譲



### 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 三浦 さおり 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 ○合格 不合格	最終試験 ○合格 不合格
論文題目	Morphological and experimental studies on sex differentiation and sex change in the protandrous anemonefish <i>Amphiprion clarkii</i>  (雄性先熟魚クマノミ <i>Amphiprion clarkii</i> の性分化, 性転換における形態学および実験学的研究)	
審査要旨 (2000字以内) 三浦さおりにより提出された学位論文「雄性先熟魚クマノミ <i>Amphiprion clarkii</i> の性分化, 性転換における形態学および実験学的研究」を中村將を主査、日高道雄と池田譲の2名の副査として琉球大学理工学研究科博士後期課程の論文の審査基準に従い審査した。 三浦さおりは、以下の視点から研究を行った。サンゴ礁域に棲む魚類には、雄から雌、雌から雄へと一生の間に性を変える種がいる。クマノミ属の魚は、社会的環境に依存して雄から雌への性転換を行うことから興味深い種であるが、これまで、性分化及び性転換の詳細な生理機構はほ		

(次頁へ続く)

とんど明らかになっていない。熱帯魚類の性決定機構の解明のために、雄性先熟魚クマノミの性分化及び性転換機構を内分泌学的観点から形態学および実験形態学的手法を用いて明らかにすることを試みた。

この論文の主な研究結果は、次の通りである。1) 組織学的観察から、雄性先熟魚であるクマノミでは、全ての個体の未分化生殖腺は、まず始めに卵巢へと分化し、その後かなり遅れて、精巢組織が卵巢組織内に分化し、両性生殖腺を形成するという特徴的な性分化過程を経ることをはじめて明らかにした。2) 内因性性ホルモンの性分化における働きを明らかにするために、免疫組織学的手法を用いて、ステロイド合成酵素であるコレステロール側鎖切断酵素(P450<sub>scc</sub>)、11 $\beta$ -水酸化酵素(P450<sub>11 $\beta$</sub> )、アロマターゼ(P450<sub>arom</sub>)の抗体を用いて発現を調べた。その結果、その全ての酵素は、性分化期、両性生殖腺形成期において発現していることから、生殖腺の性分化過程に、内因性性ホルモンが重要な役割を果たしていることを明らかにした。3) 内因性の雌性ホルモンの性分化における役割を明らかにするために、雌性ホルモンの合成を阻害するアロマターゼ阻害剤(AI)及び雌性ホルモンの受容体への結合を阻害し、雌性ホルモン作用の発現を抑制する抗雌性ホルモン剤(タモキシフェン:TF)の性分化に及ぼす影響を調べた。その結果、AIおよびTFは、卵巢分化を阻害しなかった。このことから、内因性雌性ホルモンは、卵巢分化に必須ではないことを明らかにした。4) 雌性ホルモンの精巢分化の役割を明らかにするために、外因性の雌性ホルモン投与により精巢分化前の生殖腺と両性生殖腺への影響を調べた。その結果、雌性ホルモンは、卵巢内の精巢組織の分化を抑制し、両性生殖腺形成を阻害した。さらに、両性生殖腺の精巢組織の消失を引き起こした。このことから、雌性ホルモンは、精巢分化および両性生殖腺の形成、発達を抑制する可能性が高いことを明らかにした。5) 雄性ホルモンの性分化における役割を明らかにするために、外因性の雄性ホルモンの投与により性分化および両性生殖腺の発達に及ぼす影響を調べた。その結果、雄性ホルモンは、卵巢分化の前後の生殖腺に雄化を誘導しなかった。さらに、両性生殖腺の卵巢への精巢分化、発達においても影響を与えなかった。しかしながら、卵巢腔の形成の遅延や輸精管様構造の分化を引き起こした。このことから、雄性ホルモンは、生殖細胞の分化よりはむしろ体細胞の分化に関与している可能性が高いことを明らかにした。6) 雄から雌への性転換の内分泌による制御機構の基礎的知見を得るために、機能的な雄と雌における内分泌学的な差を調べた。その結果、機能的な雄の生殖腺は、未発達な卵巢組織と精子形成が活発な精巢組織の両方を持つ両性生殖腺であったが、機能的な雌の生殖腺は、卵巢組織のみであった。雄では、雄性ホルモンが高く、雌性ホルモンが低かったのに対し、雌では雌性ホルモンが高く、雄性ホルモンが低かった。この様に雌雄で明らかなる差があることを明らかにした。7) クマノミの生殖腺の可塑性を調べるために、機能的な雌の卵巢へのAIの影響を調べた。その結果、処理した6割の個体の生殖腺で、卵巢中に精巢組織が出現し、通常起こらないとされる雌から雄への逆方向の性転換を誘起することが可能であることを明らかにした。このことから、クマノミの親の生殖腺は、卵巢に精巢組織を分化させる可塑性を持っていることを明らかにした。

以上の様に三浦さおりは、雄性先熟のクマノミを用いた研究により熱帯性魚類の性分化、性転換の性ホルモンの役割に関して全く新しい研究分野を開拓した。本研究の一部はすでに4編の査読付きの国際誌に公表されている。

平成19年2月8日、学位論文の内容に関する学力確認を口頭発表と質疑応答により行った。論文審査委員会は、博士課程修了者としての十分な学力を有していると判断し、「合」に値するという結論に至った。以上のことから、本論文は海洋環境学専攻における博士の学位論文として十分価値のあるものであると判断された。2月12日に行われた最終論文審査委員会は全会一致で「合格」とした。