

## 論文要旨

## 論文題目 熱帯性海産魚類の性分化および性、性成熟の統御に関する研究

熱帯・亜熱帯の沿岸海域に生息する魚類の効率的かつ安定的な種苗生産技術の確立を目標に、ゴマアイゴ (*Siganus guttatus*, Bloch) を材料として正常性分化過程を解明し、その知見を基に性統御のための人為的性転換および早期性成熟誘導を試みた。

ゴマアイゴの未分化期および性分化過程初期の生殖腺において、これまで温帯性海産硬骨魚類では知られていなかった新たな特徴が観察された。第1に、体細胞要素による二重構造が観察された。この構造の内側組織(性索様構造:SCS)には性的二形が認められ、既知の体細胞による性分化の基準と共に卵巣および精巣分化の基準となることを明らかにした。しかし、最終的な卵巣分化は、卵巣腔形成のための体細胞の性特異的分化により明らかになる。第2に、ゴマアイゴの雌では、卵原細胞の増殖とそれらの卵形成のための減数分裂開始が他の魚に比べて遅く、卵巣の形態学的分化と生殖細胞の分化との間に著しい時間差のあることが明らかとなった。このことにより、生殖腺の性分化過程を体細胞と生殖細胞とに明確に分けて捉えることが可能となった。第3に、卵巣と精巣の発達過程で、生殖腺から剥離した組織の一部が卵巣腔内または輸精管中に放出される現象が見られた。この機構によって、卵巣では最終成熟する卵母細胞数の調節と複雑な卵巣薄板構造の形成が、精巣では生殖輸管系の形成がなされているものと推察される。

ゴマアイゴの生殖腺分化における性ホルモンの関与を調べ、外因性性ホルモンによる人為的性転換の誘導を試みた。性分化開始直前の稚魚に1g当り100、500、1000  $\mu\text{g}$  ( $\mu\text{g/g-diet}$ )の外因性雌性ホルモン(エストラジオール $17\beta$ : $E_2$ )を含む配合餌料を30日間与えた結果、全濃度区の全ての生殖腺に卵巣腔の形成が見られた。しかし、その後約半数は精巣として発達するか対照区の雌の卵巣に比べて著しく生殖細胞の少ない卵巣へと分化した。これらの結果から、卵巣の形態学的分化への雌性ホルモンの関与が示されるが、 $E_2$ 投与による遺伝的雄の性転換誘導には、内因性性ホルモンとの相互関係を始めとする他の要因をも含めて解明することが重要であると考えられる。性分化開始直前の稚魚に1g当り10、50、200  $\mu\text{g}$ の外因性雄性ホルモン(メチルテストステロン:MT)を含む配合餌料を30日間与えた。その結果、200  $\mu\text{g/g-diet}$ 区で全ての生殖腺が精巣へと分化・発達し、約半数には明らかな卵巣腔形成の痕跡が観察された。これらの精巣は性転換によって分化・発達した精巣であると判断された。これらの精巣は対照区の雄の精巣と同等に精子形成が進行し輸精管が精子で充たされていたことから、機能的であることが示唆され性統御技術への応用が期待できる。

ゴマアイゴの卵巣分化における内因性雌性ホルモンの関与をより明確なものとし、性統御技術確立のための基礎知見を得るために、性分化開始直前の稚魚に雌性ホルモンの産生を阻害するアロマターゼ阻害剤(AI)であるファドロゾールを50、100、500  $\mu\text{g/g-diet}$ の異なる濃度で経口投与した。その結果、500  $\mu\text{g/g-diet}$ 区で全ての雌の生殖腺が精巣として分化・発達した。このことにより卵巣分化における内因性雌性ホルモンの関与がより強く示唆される。性転換によって分化した精巣には明らかな卵巣腔形成の痕跡が観察された。これらの精巣では対照区の雄の精巣と同等に精子形成が進行し輸精管が精子で充たされていた。このことから、

これらの精巢は機能的であることが示唆され種苗生産における性統御技術への応用が期待できる。また、卵巢の形態学的分化完了後（卵巢腔の完成）の雌の稚魚に 500  $\mu\text{g/g-diet}$  の AI を投与した結果、一部の雌の卵巢は卵巢腔を有する精巢へと性転換し、正常な精子形成が観察された。この結果から、卵巢分化後もゴマアイゴ生殖腺の生殖細胞もしくは体細胞、あるいは両者の両性能が維持されていることが強く示唆される。性分化開始直前の稚魚に雌性ホルモン受容体を阻害するタモキシフェンを 50、100、1000  $\mu\text{g/g-diet}$  の濃度で経口投与した結果、1000  $\mu\text{g/g-diet}$  区の雌の卵巢で卵巢腔形成が停止もしくは遅延と SCS の雄化が見られた。このことにより卵巢分化における内因性雌性ホルモンの関与がさらに強く示唆された。

温帯性海産魚類の何種かにおいて、性分化開始前後の稚仔魚が高水温に曝されることにより雄化することが知られつつある。この現象は、これまでの外因性性ホルモンに代表される化学物質に代わる性統御方法の一つとして有効に活用される可能性があることから、性分化開始直前のゴマアイゴ稚魚を通常の生息水温よりも高い 36°C で 30 日間飼育し雄化の誘導を試みた。その結果、高水温での飼育終了直後には遺伝的雌の卵巢で卵巢腔形成の遅延と SCS の雄化（大型化）が見られたが影響は可逆的であり、その後長期間経過した時点では、対照区と同様の比率の卵巢が観察され高水温による雄化は見られなかった。熱帯・亜熱帯海域に生息する魚類は、比較的高水温下で正常な性分化が生じるように進化してきたと考えられる。そのため、ゴマアイゴが生存できる上限付近の水温であっても性転換が誘導されなかったものと結論された。

飼育下では成熟に至らないゴマアイゴの 1 歳未満の雄に生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンの相似物質（GnRHa）を投与することにより、精子形成の促進と早期の排精誘導を試みた。その結果、孵化後最初の産卵期において、対照区では排精が全く見られなかったのに対し、GnRHa 投与区では 50~67% の雄で排精が確認され GnRHa 投与が早期排精の誘導に有効であることが明らかとなった。

本研究をとおして、熱帯性海産魚類の性分化過程が温帯性海産魚類と大きく異なることが明らかとなった。簡潔にまとめると、生殖細胞の性分化に先行して体細胞組織である SCS が卵巢と精巢とで顕著に異なる二形を伴いながら分化・発達するため、性転換誘導を目的として性分化期に与えられた外的要因の影響は常に、最初に SCS の発達様態の卵巢化あるいは精巢化として現れることが示された。また、組織学的観点による体細胞の性分化から生殖細胞の性分化までに時間差があることから、この間におけるそれぞれの生理学的変化の機構を個々に捉える機会と必要性が生じた。これらのことから、効率的・安定的な増養殖技術開発の一環として熱帯性海産魚類の性および性成熟の統御を行うためには今後、温帯性海産魚類で得られた既往知見に本研究をとおして得られた新たな知見を加え、対象に即した技術を開発する必要があると結論された。

氏名 小松 徹

平成19年2月6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 将

副査 氏名 上原 剛

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 小松 徹 学籍番号 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span>		
指導教員名	中村将		
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	熱帯性海産魚ゴマアイゴ <i>Siganus guttatus</i> の性分化および性成熟に関する形態学および実験的研究 (Morphological and experimental studies on gonadal sex differentiation and sexual maturation in tropical marine teleost golden rabbitfish <i>Siganus guttatus</i> )		
小松徹は、研究の目的を以下の様に捉えた。近年、水産資源への需要や期待が高まっているが、最も重要な魚類資源は、乱獲や沿岸整備事業、内分泌かく乱物質による生殖異常などの影響を受け急速に枯渇しつつある。これらの問題を解決するためには、天然個体群回復への資源管理や生息環境回復努力の一方、増養殖による効果的な手段を講じることが重要と考えた。この問題は熱帯・亜熱帯でも深刻化しており早急な対策が必要とされるが、寒帯や温帯の海産魚類に比べ、効率的な増養殖技術開発の基礎となる生殖生理に関する情報は極めて限られている。サンゴ礁域に生息する魚類の繁殖戦略は多様			

であるため、それらを支配する生殖生理も多様であることが予測される。

以上の観点から、熱帯・亜熱帯における魚類増養殖技術確立を目標として、当該地域における水産重要種であるゴマアイゴを材料として、性分化から性成熟に至る過程の基礎的知見を集積することにより温帯性海産魚類との相違を明らかにし、熱帯性海産魚類の性分化や性成熟統御の最適技術を模索するための研究を行った。

始めにゴマアイゴの性分化過程を組織学的に観察した。その結果、第1に、体細胞要素による二重構造があることを明らかにした。この構造の内側組織（性索様構造：SCS）には性的二形が認められ、既知の体細胞による性分化の基準と共に卵巢および精巣分化の基準となることを明らかにした。しかし、最終的な卵巢分化は、卵巢腔形成のための体細胞の性特異的分化により明らかになる。第2に、雌では、卵原細胞の増殖とそれらの卵形成のための減数分裂開始が他の魚に比べて遅く、卵巢の形態学的分化と生殖細胞の分化との間に著しい時間差のあることを明らかにした。このことにより、生殖腺の性分化過程を体細胞と生殖細胞とに明確に分けて捉えることを可能にした。第3に、卵巢と精巣の発達過程で、生殖腺から剥離した組織の一部が卵巢腔内または輸精管中に放出される現象が見られた。この機構によって、卵巢では最終成熟する卵母細胞数の調節と複雑な卵巢薄板構造の形成が、精巣では生殖輸管系の形成がなされているものと推察される。以上のように性分化過程初期の生殖腺において、これまで温帯性海産硬骨魚類は知られていなかった新たな特徴があることを明らかにした。

次に、ゴマアイゴの生殖腺分化の基礎的知見を基に性分化期を中心とした外因性性ホルモンによる人為的性転換の誘導を試みた。雌性ホルモン処理による遺伝的雄の性転換では有意に卵巢の比率を高めたが明確な卵巢への誘導は出来なかった。

次に、雄性ホルモン（メチルテストステロン：MT）と雌性ホルモンの産生を阻害するアロマターゼ阻害剤（AI）による雄化を試みた。その結果、MT及びAI処理魚のほとんどは精巣であった。これらの精巣は対照区の雄の精巣と同等に精子形成が進行し輸精管が精子で充たされていたことから、機能的であることが示唆され性統御技術への応用が期待できる。また、卵巢の形態学的分化完了後（卵巢腔の完成）の雌の稚魚にAIを投与した結果、一部の雌の卵巢は卵巢腔を有する精巣へと性転換し、正常な精子形成が観察された。この結果から、卵巢分化後もゴマアイゴ生殖腺の生殖細胞もしくは体細胞、あるいは両者の両性能が維持されていることを明らかにした。

次に、性分化に及ぼす海水温の影響について調べた。その結果、高水温での飼育終了直後には遺伝的雌の卵巢で卵巢腔形成の遅延とSCSの雄化（大型化）が見られたが影響は可逆的であり、雄化を誘導することを出来ないことを明らかにした。

飼育下では成熟に至らないゴマアイゴの1歳未満の雄に生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンの相似物質（GnRHa）を投与することにより、精子形成の促進と早期の排精誘導を試みた。その結果、孵化後最初の産卵期において、対照区では排精が全く見られなかったのに対し、GnRHa投与区では50～67%の雄で排精が確認されGnRHa投与が早期排精の誘導に有効であることが明らかにした。

学位論文の一部は3編の論文としてまとめられ、すでに掲載発表済みである。これらは全て査読付き英文国際学術誌であり、内容に関する評価をすでに受けている。申請学位論文を各論文審査委員が熟読した後、学位論文審査会を開いて内容の検討を行った。その結果、審査委員の全会一致で申請学位論文の成績は十分に「合」に値するという結論に至った。

平成19年2月6日、学位論文の内容に関する学力確認を40分間の口頭発表と20分の質疑応答で行った。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。最終論文審査委員会は全会一致で「合格」とした。