

エストロゲンによるグッピーの性転換

宮 森 弘 子

大阪市立大学理学部生物学教室

昭和 34 年 6 月 15 日受領

グッピー *Lebistes reticulatus* は実験室での飼育と繁殖とがたやすく、また、短期間で性成熟に達するから、ホルモンを使つて性分化の機構を分析するための実験材料として都合がよい。Berkowitz ('41) は、グッピーの稚魚に適量のエストロゲンを経口的にあたえ、注射したときより雌化しやすいことを報告した。著者は経口的投与の方法をもちいて、(1) 発達の中の時期にエストロゲン処理すれば雌化するか、(2) いつたん雌化すれば処理を中止してのちも遺伝的な性へもどらないかどうか、の問題を解決する目的で実験をおこなつた。一応の結果を得たので報告する。

起草にあたり、この実験を示唆され懇切な指導をいただいた大阪市立大学朝山新一教授に深く感謝申しあげる。

材 料 と 方 法

実験用餌は、エチニールエストラジオール (Schering Corporation) を少量の純アルコールにとかし、粉餌に混合してつくる。粉餌 1g 中に含まれるエチニールエストラジオールの量は $128.7\mu\text{g}$ とした。I 匹の雌から同時に生まれた稚魚を一組とし、実験区を三つの組 I, II, III に分ける (Table 1)。I の 50 匹には生後 8 日目からエストロゲンを含む餌をあたえ、半数の A 群には 80 日間、B 群には 158 日間投与しつづけた。その後は普通餌 (イトミミズ) にもどし、同時に成熟雄を同じ水槽中に入れて飼育した。対照 44 匹にはホルモンを含まない粉餌とイトミミズをあたえ、I と平行して飼育した。II の 13 匹、III の 26 匹は生後 2 日目からエストロゲン投与をはじめ、II は 97 日間、III は 140 日間つづけたのち、普通餌にもどし雄とかけあわせた。普通餌で飼つた期間は、I-A—130 日、I-B—60 日、II—110 日、III—70 日で、実験は各組とも生後 210~218 日目に終つた。実験期間中、第 2 次性徴について観察した。

Table 1. Oral administration of ethinyl-estradiol on *L. reticulatus*

Exper. series	Ethinyl-estradiol $\mu\text{g/g}^*$	At start of experiment		Days kept	
		No. of fish	Days after birth	Hormonic diet	Normal diet
I-A	128.7	25	8	80	130**
I-B	128.7	25	8	158	60**
II	128.7	13	2	97	110**
III	128.7	26	2	140	70**
I-Cont.	—	44	8	—	210

* μg per 1g diet

** Days reared after the discontinuation of the administration.

実験中死亡したものは、実験区 I—19 (38%), II—1 (7.7%), III—0, I の対照—16 (36%) である。実験終了時に生きていた魚を全部スサ液で固定。すでに稚魚を生んだもの、剖検の結果稚魚をはらんでいたものを除外して、のこりの魚の生殖巣を 10μ の連続切片とし、デラフィールドヘマトキシリン・エオシンで染色、組織学的に観察した。

結 果

1. 第 2 次性徴にたいする効果 グッピーでは、ふつう、生後 70 日目までに雄の第 2 次性徴（交接肢・赤い体色・黒い斑点・短かい体長）が全部あらわれて、外見上雌雄の区別が明瞭になる。そして、性比はだいたい 1:1 である。本実験で生後 70 日目の観察によると、普通餌をあたえられた対照では生きていた 38 のうち 16 が雄の性徴を示し、のこり 22 は雌の性徴を示した。一方、エストロジェンを含む餌をあたえられた実験区では、I, II, III の各組とも雄の性徴を示すものはなく、全部が体形・体色ともに完全な雌型を示す (Table 2)。生後 2 日目から投与しはじめたものも、8 日目からはじめたものも差がない。実験を終った時の観察でも、実験区 I, II, III の第 2 次性徴は、生存個体の 100% が完全な雌型であつた。この時、エストロジェン投与を中止してから、60~130 日を経過しているにもかかわらず、一様に雄への逆もどりはみられない。

Table 2. Effects of ethinyl-estradiol feeding on the secondary sexual characters and the gonad

Exper. series	At the 70th day after birth		At the end of experiment				
	Sec. sex charac.		Sec. sex charac.		Gonad		
	♀	♂	♀	♂	Ovary	Intersex	Testis
I-A	22	—	15	—	14	—	—
I-B	22	—	16	—	16	—	—
II	13	—	12	—	12	—	—
III	26	—	26	—	24	2	—
I-Cont.	22	16	13	15	13	—	15

2. 生殖巣に対する効果 実験を終った時、対照区では雌雄ともに例外なく成熟した生殖巣を持っていた。すなわち、雌 13 のうち 10 はすでに稚魚を産んだものか、または稚魚をはらんでいるものであり、のこり 3 では多くの卵母細胞と成熟卵とを含む卵巢が分化していた。雄 15 は、その全部が、無数の精子を含む十分成熟した精巣を持っていた (Fig. 1, Table 2)。

実験区ではすでに稚魚を産んだり稚魚をはらんだ雌が、I-A—13, I-B—15, II—12, III—18 であつた。そして成熟卵巢をもつものは I-A および I-B ではそれぞれ 1, III では 6 である。つまり実験区では、



Fig. 1 Mature testis of control male (at the 210th day after birth). $\times 35$.

Fig. 2 Reduced germinal tissue of experimentals. Germ cell differentiation is completely suppressed. $\times 50$.

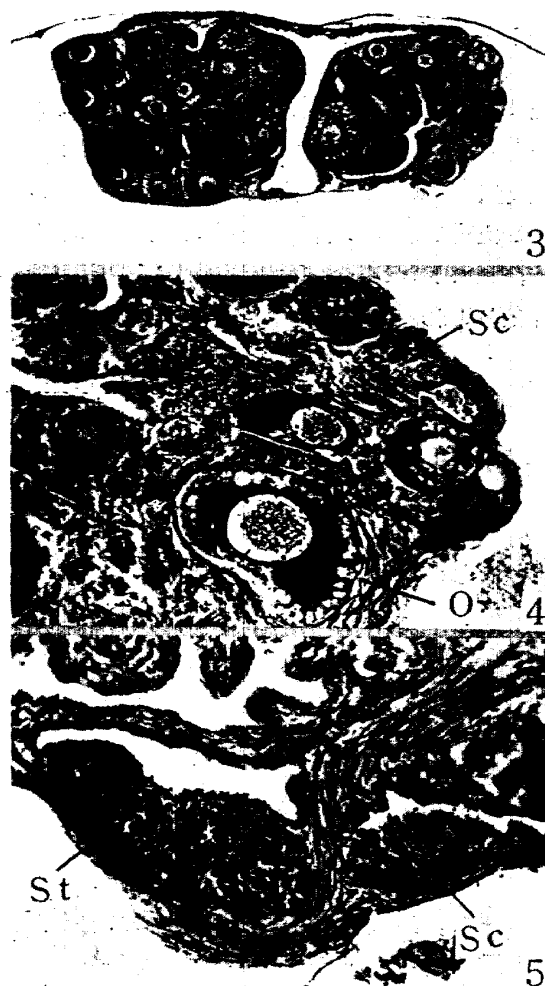
I-A における 1, III における 2 例のほかは全部が卵巢を持つていた (Table 2)。精巢の分化は、実験区の各組では全くみられない。I-A の 1 個体で、例外的にいちじるしく退化縮小した生殖巣状組織がみいだされた (Fig. 2)。この退化した組織は雌雄いずれの生殖細胞もふくまず、おそらく雄生殖巣に由来すると思われる管状の構造からなる。その管状配列のすきまには、ところどころにエオジン好性の物質がみられる。III の 2 個体で間性生殖巣がみいだされた。これらの生殖巣は同じ年齢の正常な生殖巣にくらべると、かなり小さい。これらの生殖巣の前部は卵巢状組織からなり、いろいろの発達段階にある多数の卵母細胞をふくむ (Fig. 3)。これらの卵母細胞は多くの仁と染色糸をふくむ囊状核をもち、濾泡細胞で囲まれる。比較的大きなものでは卵黄粒の形成がみられる。しかし、これらの生殖巣の後部では精巢状組織がみいだされた。その部域の横断切片は、精母細胞の cyst のあいだに卵母細胞が散在して、モザイクな構造をしめす (Fig. 4)。卵母細胞は前方域のものにくらべて小さく、細胞質が空胞化している。更に後方の、生殖輸管に近い部域は精巢組織のみから構成され、雌の生殖細胞はみいだされない。豊富な精母細胞・精娘細胞をふくむ cyst が観察される。しかし、成熟した精子はみいだされない (Fig. 5)。

生殖輸管については、実験区で注目すべき効果は観察されない。

考 察

Berkowitz ('38) は、グッピーの稚魚に 45 RU のエストロンおよびエストラジオールをふくむ小片を 2 ヶ月間食べさせると、第 2 次性徴は全部雌型となるが、投与を中止して約 40 日を経過すると、遺伝的雄と思われるもので交接肢が伸び雄の体色があらわれることを観察した。Hillemann ('54) は、同じ材料を 0.0001mg/cc のエストロン懸濁液中で飼うと、全部が雌の性徴を示すが、生後 5 ヶ月で処理をやめると、その後約半数は雄へ発達することを報告した。本研究の結果は、128.7 μ g/g エチニールエストラジオールの投与が雄の第 2 次性徴の発現をおさえて完全な雌型にすること、および、その効果の安定性は投与中止後すくなくとも 60~130 日間は保持されることを明らかにした。したがって、この実験で用いた方法は、グッピーの第 2 次性徴を雌型に保たせるために、より効果的であると思われる。

生殖巣については、実験区各組で精巢の分化が全くみられないこと、I-A で雄の生殖巣に由来すると思われるいちじるしく退化縮小した組織がみいだされたことから、エストロゲン投与が雄の性分化を完全にさまたげることがたしかめられた。そして、実験区で回収された 69 個体のうち 66 個体が成熟卵巢をもつて



Figs. 3-5 Intersexual gonad of experimentals.

3 Cross section of anterior region, showing the ovarian structure which contains many oocytes. $\times 50$.

4 Cross section of posterior region, showing the mosaic structure. O, Oocyte Sc, Spermatocyte. $\times 200$.

5 Cross section of the most posterior level, showing the testicular constitution. Sc, Spermatocyte St, Spermatid. $\times 200$.

おり、2 個体が間性生殖巣をもつていたことは、エストロジェン投与による雄から雌への転換を意味すると考えられる。この解釈について、実験区 I のかなり高い死亡率 (38%) は一つの疑問を残す。しかし、I の対照の死亡率 (36%) も実験区 I とほぼ同率であり、しかも、対照区の実験終了時における性比は実験期間中雌雄がほぼ同じわりあいであること示すから、エストロジェン投与によつて実験区の雄が選択的に多数死んだという危険性はほとんどない。これは、死亡率のきわめて低い実験区 II, III の結果からもうらづけられる。実験 I は水温の調節しにくい夏行われたので、その高い死亡率はむしろ好ましくない飼育条件に原因すると考えられる。以上のことから、本実験で用いた方法は、かなり高い確率で雄を雌へ転換させることが結論される。

性転換をおこすために効果的な投与の時期・期間については、各実験区とも結果はプラスであつたことから、この実験で試みたはいの投与開始時期のズレと投与期間の長短とは、その効果に差をあたえないことがたしかめられた。実験区 I で例外的に観察された生殖細胞を全く含まない退化生殖巣については、かつて Berkowitz ('41) が、未成熟雄のグッピーに、大量のあるいは、長期間のエストロジェン処理をほどこしたばあい全く同様な退化組織を生ずることを報告した。しかし、本実験の結果はそのような退化組織が必ずしも長期間の投与によつて生じたことを意味しない。実験区 I の退化生殖巣は、むしろその個体の投与に対する鋭敏な反応性によつて生じたと思われる。

エストロジェン投与によつて雌へ転換したものが、投与をやめてのち元来の性へもどらないかどうかに関連して、実験区 III の間性生殖巣は興味ある問題を提示するだろう。前部は卵巣状であり、後部は精巣状であるこれらの間性生殖巣の組織構造は、あたかも遺伝的な性への逆もどりを暗示するかのようと思われる、しかし、これらの間性生殖巣は最も多くの材料を回収することのできた実験区 III だけにみいだされ、投与期間が短かく、投与中止後長く飼われた実験区 I-A, II ではみいだされない。したがつて本研究の段階では、そのような間性生殖巣の形態を遺伝的な性への逆もどりと解釈するのはまだ早計であろう。山本 ('57) はエストロン処理した遺伝的雄のメダカで、前方は精巣構造をもち後方は卵巣状組織からなる間性生殖巣を観察し、これを、前方から後方へとすすむ生殖細胞分化速度の勾配によつて説明した。すなわち、後方域の生殖細胞は前方域のものよりおそくまで未分化な状態にとどまつているからエストロジェン投与に対する感受性も前方域のものより高いという見解から、間性生殖巣の構造を解釈した。グッピーの雄生殖巣の分化が、前方から後方へすすむか、あるいはその逆であるかは、まだ明らかにされていない。したがつて、本実験で得た間性生殖巣の特殊構造を、生殖巣の形態分化の勾配によつて説明する段階にはまだ達していない。けれども、エストロジェン投与によつて誘導されたグッピーの間性生殖巣では、卵巣状組織と精巣状組織との前後の位置関係が、メダカの場合と全く逆であつたことは、グッピーの雄生殖巣の形態分化が前方から後方へすすむかあるいは、その逆であるか、という問題に関連して大へん興味ぶかい。

文

献

- Berkowitz, P. '38 Anat. Rec., **71**, 161. ———— '41. J. Exp. Zool., **87**, 233. Hilde-
mann, W. H. '54 J. Exp. Zool., **126**, 1. Yamamoto, T. '57 J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., **13**,
140.

Résumé

Sex Reversal of *Lebistes reticulatus* induced by
Estrogen Administration

Hiroko MIYAMORI

Laboratory of Embryology, Department of Biology, Osaka City University

The young of *Lebistes reticulatus* were divided into four experimental series, to each of which the diet containing ethinyl-estradiol (128.7 μ g/g) was given. After the discontinuation of estrogen administration they were fed with the normal diet. The terms during which the animals were fed with the hormonal and normal diet are shown in Table 1. The secondary sexual characters of estrogen-fed fishes developed into female type without exception. The effect was kept unchanged during the period of experiment, i. e., from 60 days to 130 days after the discontinuation of the administration.

The testicular differentiation of male fishes administered with estrogen were completely suppressed, their gonads being feminized. Sex reversal is indicated by both the overwhelming predominance of female differentiation and the development of the intersexual gonads (Table 2). High mortality in the experimental series-I may not be significant to this conclusion. In the intersexual gonads, the anterior part is ovarian tissue and the posterior region is chiefly composed of testicular constitution (Figs. 3-5). This situation is interesting in connection with two problems, that is, the stability of sex-reversed gonads induced by the hormonal administration and the regional difference in the rate of gonadal differentiation in male *L. reticulatus*.

会 記 IV

新 入 会

山 口 武 雄	東京都文京区 東京大学理学部動物学教室
万 部 勇 夫	岐阜市堀田山崎 堀田山荘
村 山 好 道	東京都品川区大井滝王子 4580
田 隅 本 生	京都市左京区 京都大学理学部動物学教室
藤 田 悦 久	兵庫県篠山町 兵庫農科大学動物学教室
白 石 哲	福岡市箱崎町 九州大学農学部動物学教室
白 井 馨	函館市港町 北大水産学部淡水増殖学教室
八 島 義 昭	北海道勇払郡厚真村錦町
山 崎 文 雄	函館市港町 北大水産学部淡水増殖講座
川 上 久 子	広島市東千田町 広島大学理学部動物学教室
横 田 亮	西宮市建石町 66 市立西宮高校内
鈴 木 紀 雄	京都市左京区 京都大学理学部動物学教室
古 屋 周 治	新潟県新発田市三の丸 桑原宏一方