

ヒラメにおける生殖腺の性分化機構

北野 健*

Mechanism of Gonadal Sex Differentiation in Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Takeshi KITANO*

Abstract Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) is a teleost fish which has a XX (female)/XY (male) sex determination mechanism. Genetic females can be experimentally sex-reversed to phenotypic males when the larvae are reared at high water temperature or treated with androgens, providing an excellent model to study mechanisms of gonadal sex differentiation in teleost fishes.

In the present paper, I review recent findings on gonadal sex differentiation in Japanese flounder, and then discuss mainly about roles of sex steroid hormones on the sex differentiation.

Key words: Japanese flounder, sex differentiation, steroid hormone

ヒラメの性は、通常は遺伝的に決定され、XX個体は雌へ、XY個体は雄へと分化する (Tabata, 1991)。しかしながら、XX個体にアンドロゲン (17 α -メチルテストステロン) 投与または高水温処理を行うと雄へ (Tabata, 1991; Yamamoto, 1995)、XY個体にエストロゲン (エストラジオール-17 β) 投与を行うと雌へと性転換することが知られている (田中, 1988)。ヒラメ性分化に伴う生殖腺の最初の形態的变化は、雌では全長30mm前後での卵巣腔の形成、雄では全長37mm前後での生殖細胞の分布様式 (生殖細胞が生殖腺の背縁側に沿って集中する) と特異な体細胞の発達であり (田中, 1987; Yamamoto, 1995)、XX個体を日齢30から18 飼育により雌へ、27 飼育により雄へと分化誘導した個体では、日齢60前後がその雌雄の性分化開始時期にあたる (Kitano *et al.*, 1999)。

ヒラメの性分化に関する研究は、近年、性ホルモン及び増殖因子に関する知見が蓄積されてきたので、それらを中心に概説したい。Kitano *et al.* (1999) は、通常雌 (XX) と性転換雄 (XY) との交配により生産

した全雌集団を18 飼育により雌へ、27 飼育により雄へと分化誘導し、それら個体の生殖腺におけるアロマトラーゼ (アンドロゲンをエストロゲンに変換する酵素) mRNAの発現量をRT-PCRにより調べた結果、性分化開始時期 (日齢60) 以降、雌の生殖腺では急激に増加するが、雄の生殖腺では減少することを明らかにした。さらに、性分化時期のXX個体にアロマトラーゼ阻害剤 (ファドロゾール) または抗エストロゲン剤 (タモキシフェン) を投与することで、生殖腺でのアロマトラーゼ mRNAの発現が抑制されて雄へと性転換する一方、これらと同時にエストラジオール-17 β を投与することにより、アロマトラーゼ mRNAの発現が誘導されて雌へと分化したことから、雌への性分化にはアロマトラーゼ mRNAの発現及びエストロゲンが不可欠であると考えた (Kitano *et al.*, 2000)。また、アンドロゲン (17 α -メチルテストステロン及び11 α -テストステロン) の投与により雄へと性転換を誘導した個体においても、生殖腺でのアロマトラーゼ mRNAの発現が抑制されたことから (Kitano *et al.*, 2000; Yoshinaga

et al., 2004), ヒラメにおける遺伝的雌から雄への性転換には, エストロゲン量の減少が引き金となっている可能性が考えられる。

11-ケトテストステロンの合成に関与する酵素の一つである11-水酸化酵素 mRNAの発現をRT-PCRにより調べた結果, 性分化後(日齢80)に雄の生殖腺でのみ増加した(Kitano et al., 2002)。このことは, アンドロゲンは雄への性分化後, 主に精巢の発達に関与していることを示唆している。しかしながら, 11-水酸化酵素 mRNAは, *in situ* hybridization法を用いた解析では, 性的未分化時期(日齢50)及び日齢60の雌雄の生殖腺でも弱い発現が観察される(北野, 未発表)。したがって, アンドロゲンがヒラメ性分化において重要な役割を果たしている可能性もあることから, 今後, 抗アンドロゲン剤等を用いたアンドロゲンの機能解析が待たれるところである。一方, ヒラメにおけるエストロゲン受容体(ER α , ER β)及びアンドロゲン受容体(AR α , AR β) mRNAの発現は, 日齢50から雌雄の生殖腺において検出されるものの, 性差は認められなかった(Kitano et al., 2002)。これらのことは, 性分化におけるエストロゲン及びアンドロゲンシグナル量の調節には, これら受容体は関与していないことを示唆しているが, タンパク質レベルでのこれら受容体の発現解析などにより, mRNAレベルでの結果を確認する必要があるだろう。

それでは, 雄への性分化には, どのような因子が関

与しているのだろうか?最近, ミュラー管抑制物質(MIS)のヒラメホモログが単離された(Yoshinaga et al., 2004)。MISは, トランスフォーミング増殖因子(TGF- β)スーパーファミリーに属する糖タンパク質であり, 哺乳類, 鳥類, 爬虫類において, 性分化時期に雄特異的な発現を示す(Eusebe et al., 1996; Münsterberg and Lovell-Badge, 1991; Western et al., 1999)。XX個体を18 飼育により雌へ, 27 飼育または11-ケトテストステロン処理により雄へと分化誘導し, 性分化時期におけるこれら雌雄の生殖腺でのMIS mRNAの発現を*in situ* hybridization法により調べた結果, 性分化時期(日齢60)以降, MIS mRNAの発現は, 雌の生殖腺では検出されず, 雄の生殖腺の支持細胞でのみ観察された(Fig. 1)。これらのことから, 性分化時期でのMIS mRNAの発現パターンは, 哺乳類, 鳥類, 爬虫類と同様に, ヒラメにおいても保存されていることが明らかになった。ヒラメにおけるMISホモログの生理的機能はまだ明らかではないが, 雄への性分化に何らかの役割を果たしている可能性があり, 大変興味深い。

このように, ヒラメにおける性分化機構の解析は, 近年, 急速に進展している。この一因として, ヒラメの性分化が水温等の環境要因でコントロールしやすく, 阻害剤等の投与実験が容易であることが挙げられる。今後は, アロマターゼ及びMISの発現制御機構の解明が期待される。

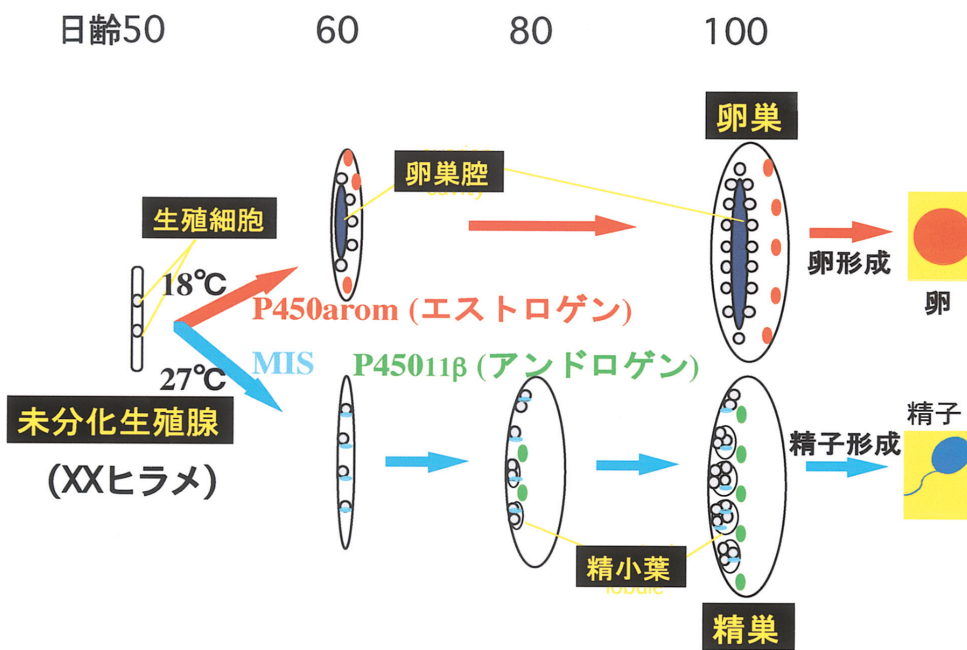


Fig. 1. ヒラメの性分化過程におけるアロマターゼ(P450arom), 11-水酸化酵素(P45011 β), ミュラー管抑制物質(MIS) mRNAの発現パターン

文 献

- Eusebe D.C., di Clemente N., Rey R., Pieau C., Vigier B., Josso N., and Picard J.Y., 1996 : Cloning and expression of the chick anti-Müllerian hormone gene. *J. Biol. Chem.*, **271**, 4798-4804.
- Kitano T., Takamune K., Nagahama Y., and Abe S.-I., 2000 : Aromatase inhibitor and 17 α -methyl-testosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Mol. Reprod. Dev.*, **56**, 1-5.
- Kitano T., Takamune K., Nagahama Y., and Abe S.-I., 2002 : Gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*, **68**, 679-680 .
- Kitano T., Takamune K., Kobayashi T., Nagahama Y., and Abe S.-I., 1999 : Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Mol. Endocrinol.*, **23**, 167-176.
- Munsterberg A., and Lovell-Badge R., 1991 : Expression of the mouse anti-Müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development*, **133**, 613-624.
- Tabata K., 1991 : Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 845-850.
- 田中秀樹, 1987 : ヒラメの生殖腺の性分化過程. 養殖研報, **11**, 7-19.
- 田中秀樹, 1988 : ヒラメの生殖腺の性分化に及ぼすエストラジオール-17 の影響. 養殖研報, **13**, 17-23.
- Western P.S., Harry J.L., Graves J.A.M., and Sinclair A.H., 1999 : Temperature-dependent sex determination in the American alligator: *AMH* precedes *SOX 9* expression. *Dev. Dyn.*, **216**, 411-419.
- Yamamoto E., 1995 : Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in hirame flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Bull. Tottori Pref. Fish. Exp. Stn.*, **34**, 1-145.
- Yoshinaga N., Shiraishi E., Yamamoto T., Iguchi T., Abe S.-I., and Kitano T., 2004 : Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Mullerian inhibiting substance during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 508-513.