HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	出生後の雌性ホルモン処理によるグッピー(Poecilia reticulata)の機能的雌化
Author(s)	高橋, 裕哉
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 26(3), 223-234
Issue Date	1975-12
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23562
Type	bulletin (article)
File Information	26(3)_P223-234.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
26(3), 223-234. 1975.

出生後の雌性ホルモン処理によるグッピー (*Poecilia reticulata*) の機能的雌化

高 橋 裕 哉*

Functional Feminization of Genetic Males of the Guppy, *Poecilia reticulata*, Treated with Estrogen after Birth

Hiroya TAKAHASHI*

Abstract

In the guppy, *Poecilia reticulata*, in which gonadal sex differentiation occurs at some stages before birth, ethinylestradiol (EEL) mixed with diet at a dose of 125 μg/g was fully effective in causing a complete feminization of genetic males when given during a period from the day after birth to 30 days of age. By mating tests, the sex reversal was proved to be quite functional: the sex-reversed females (XY females) gave birth to males and females after being crossed with sex-reversed males (XX males) which had previously been verified to yield all-female broods when mated with normal females (XX females); most of them functioned as normal females in respect to the succession of broods following a single mating, the interval of successive broods, and the brood size. Treatments with EEL at a dose of 150 μg/g diet, lasting for 30 and 40 days from the day following birth, also elicited a functional feminization of genetic males. But estrogenized females were seen to become atypical in their reproductive functions, some of them being infertile in spite of repeated matings and others showing an unstable production of broods accompanied with a scantiness in the number of young born. The transformation of testes into ovaries was histologically complete in these estrogenized females. However, some of the fish influenced by 150 μg EEL had ovaries affected by conspicuous retardation or inhibition in oocyte development even at ages more than a month following the end of treatment, irrespective of their genetic sex.

Dienestrol (DS), a synthetic estrogen, administered at a dose of 100 μg/g diet for the first 40 days following birth did not induce a sex reversal from male to female. But the estrogen could successfully eliminate the inhibition of body growth in males through an extensive suppression of testicular development, thus giving rise to the appearance of functional males of an unusually large size after the end of treatment. The treatment with DS as well as EEL invariably induced the formation of the ovarian cavity-oviduct system in the gonad of affected males, but failed to block the differentiation of the sperm duct, which remained long as ill-developed tubular structures in the ovarian stroma and in the wall of oviduct of genetic males that had feminized completely by the EEL treatment. This seems to indicate that testicular somatic elements may be determined to differentiate into the sperm duct at some time during prenatal stages of the guppy.

* 北海道大学水産学部淡水増殖学講座
(*Laboratory of Fresh-Water Fish-Culture, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

グッピー (*Poecilia reticulata*) の生殖腺の性分化および発達に対する雌性ホルモンの効果については，Berkowitz[1] の研究をはじめとして数篇の報告がなされている。特に Miyamori[2] は外因性の雌性ホルモンの影響下での生殖腺の卵巣分化の過程を組織学的に詳細に追跡し，出生直後からの処理が雄の完全な性転換を惹起しうることを報じているが，この性転換が果して永久的かつ機能的か否か，すなわち正常雌と同様な生殖機能をもつに至るか否かを確かめてはいない。

生殖腺の性分化が出生前に完了するグッピーでは，雄性ホルモンの経口投与による遺伝的雌の機能的雄化は，処理が出生前の特定時期を通じてなされた場合にのみ可能である[3]。この場合，特に生殖輸管系を含めた生殖腺体細胞要素の処理に対する反応の態度が性転換の機能化と重要な関連をもつ[3)4)]。このような雄性ホルモン処理の効果と対比して，Miyamori[2] の処理法によるグッピーの出生後の雌性ホルモン処理が雄の機能的雌化を誘導しうる条件を検討するとともに，精巣の卵巣への転換にともなう生殖腺体細胞要素の行動を組織学的に観察した。

材料と方法

本研究に用いたグッピー (*Poecilia reticulata*) は，著者が標準型の母系より分離し近親交配により繁殖維持してきた黄色系統のものである。受胎後分離飼育した雌よりの同一胎の稚魚を出生翌日に実験群および対照群に分け，それぞれを常時送気されている 10*l* ガラス水槽に収容し，水温 23～25°C，自然光条件のもとでホルモン処理を行なった。

経口投与に使用した雌性ホルモンは ethinylestradiol（以下 EEL と略記する）および dienestrol（以下 DS と略記する）の2種類である。これらの純結晶をあらかじめ 95% ethyl alcohol に溶解し，餌料 1g あたりの含有量が EEL については 125, 150 μg，DS については 100 μg となるよう市販の養鯉用配合飼料の粉末に加えて充分に撹拌したのち室温で乾燥し，暗所に保存して実験餌料とした。実験群に対するホルモン含有餌料の投与は，出生翌日より1日1回，30～40日間継続し，以後は普通餌料にきりかえて，出生後 70 日以上を経たのち，EEL 125 μg および 150 μg 処理個体の一部を正常雄（XY 雄）ないし人為性転換雄（XX 雄）[3] と交配し，妊娠出産の経過を観察するとともに産仔の性比を調査し，機能的性転換を確かめた。なおホルモン処理期間中，対照群にはホルモンを含まない 95% ethyl alcohol を同量加えてのち乾燥させた粉末餌料を与えた。両群の飼育水槽は通常1週間に1回清掃し換水した。

生殖腺の組織学的観察には，実験群および対照群の双方の若干個体を処理終了時および出生後 70 日，90 日を規準として体計測後，体全体をそのまま Bouin 氏液または Bouin-Hollande 液に固定，生殖腺および生殖輸管系を含む軀幹後半部の連続横断切片 (8～10 μ) を作成し，Delafield の hematoxylin および eosin による染色を施して検鏡した。

結　　果

生殖腺の正常発達の過程

前報[5] に記述したように，グッピーの生殖腺の性分化は出生時にすでに完了している。出生直後の雄の精巣は背側腸間膜の背端部近くの左右に短かい精巣懸膜により附着している。この時期の精巣の生殖細胞要素は増殖期初期の精原細胞として辺縁部から中央部にかけて分布し，体細胞要素は精巣懸膜に連なる基部に顕著な集塊をつくる。出生後7日頃には精原細胞の活発な増殖とともに，精巣基部の体細胞集塊が主輸精管原基および間質組織への分化を開始し，精巣後端から後方へのびる体細胞索，すなわち後部輸精管原基は肛門上方の正中部で合一して貯精のう原基を構成する。出生後 10-12 日には主輸精管原基の中央に単層上皮にうらうちされた内腔が出現し，同時に輸精小管の分岐がはじまる。

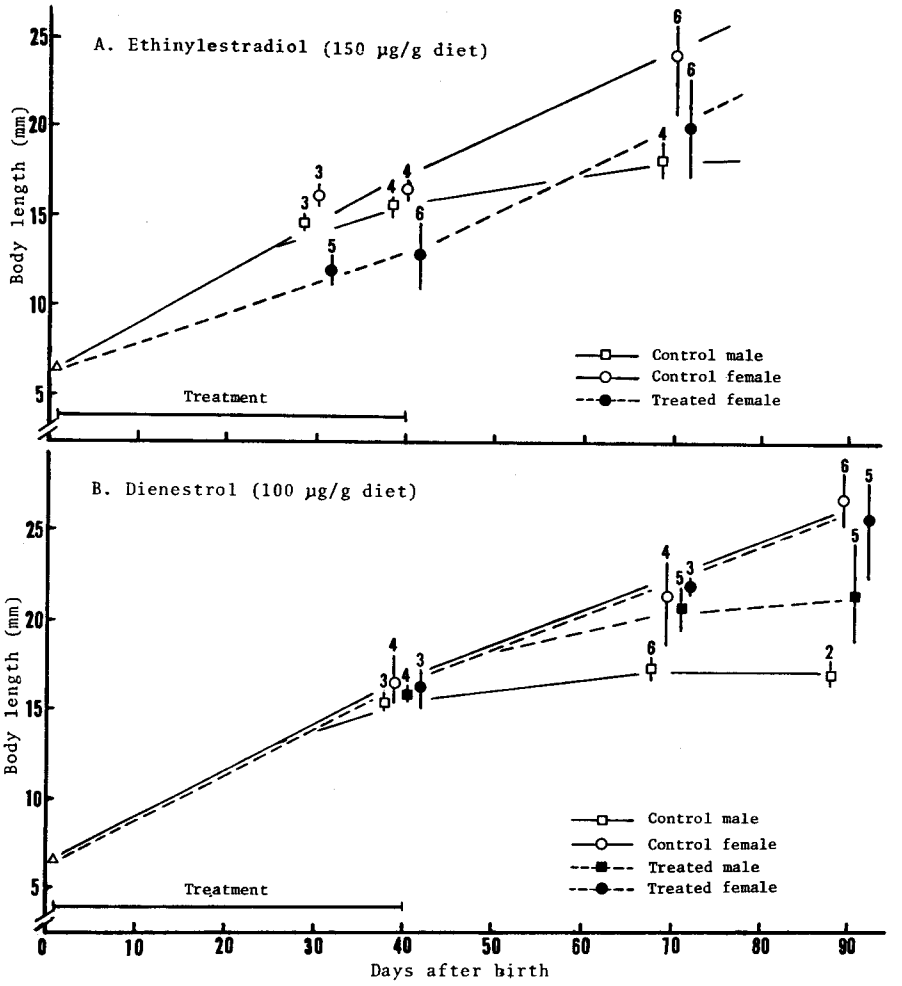


Fig. 1. Body growth in control and esterogen-treated groups of the guppy. Vertical bars and numerals affixed to each mark in the figure indicate the range of individual variation and the number of fish measured, respectively.

一方生殖細胞は出生後 20 日頃には第一精母細胞期へ，30 日頃には精細胞期へと発達し，50 日以後には分泌物で膨満した輸精管内に多数の精子球がみられて，放精可能な成熟状態に達する。

一方グッピーの雌は出生時にすでに周辺仁期前期の卵母細胞の存在を特徴とする明らかな卵巣をもつ。卵巣の体細胞基質はきわめて疎であって，精巣にみられるような集塊をつくることはない。出生時の卵巣は背側腸間膜の背端部近くの左右に対をなして卵巣懸膜で附着しており，卵巣腔は未だ形成されていない。出生後 7 日頃には左右卵巣の正中部での融合がすすむと共に，その両側縁が背方へ弯曲して背部体腔壁の正中域の左右に接着し，卵巣背方の腸間膜が消失して単一の卵巣腔がつくられる。この変化は卵巣前端部にはじまり漸次後方におよんで，出生後 12-15 日には卵巣の全長にわたって卵

巣腔が完成し，卵巣後端から泌尿生殖洞へとのびる体細胞索もその両側縁が背部体腔壁と接着して単一の内腔をつくり輸卵管としての形態をととのえる。出生後 35-40 日には卵母細胞が第一次卵黄期に入り，70 日頃には受精可能な熟卵が認められる。卵巣発達の過程で注目されることは，卵巣腔壁を構成する単層柱状上皮内に，卵原細胞や染色仁期の卵母細胞の形態的特徴をそなえた球形の細胞が見出されることである。これは出生後 30-40 日の卵巣に特に著しい。

以上のような生殖腺の発達に伴って，外部的には雄に特異的な第二次性徴の発現がある。出生後 20-25 日には雄の臀鰭の第 3-5 鰭条の伸長がはじまり，35-40 日には交接肢 (gonopodium) としての形態分化を了える。交接肢の発達はまた，その支持骨格系や泌尿生殖洞の性的二型の発現をも伴う[4]。また本研究に用いた黄色系統のグッピーの成熟雄は，尾柄部および軀幹部背側域に 3-4 対の橙赤色長円形の斑紋を婚姻色として現すが，この斑紋の出現は出生後 40 日以降にみられるのがふつうである。また体成長では，図 1 に示すように，雄では出生後 25-30 日で体長増加率が雌でのそれよりも小になりはじめ，40 日以降には確然とした雌雄差がみられる。これらの雄性第二次性徴の発現はいづれも，精巣で産生分泌される雄性ホルモンの作用に依存することが明らかにされている[4]。

Ethinylestradiol (EEL) 処理の効果

餌料 1g あたり 150 μg の EEL を出生翌日より 40 日間投与した場合，処理期間中の処理個体の体

Table 1. *Sex distribution in three broods of the guppy subjected to treatment with ethinylestradiol (EEL) after birth.*

Group	No. of fish at start	Duration of treatment (days)	Age at fixaton (days)	Sex distribution*			
				M	F(M)	F	Total
A. EEL 150 μg/g diet	20	40	40		1	5	6
			70		5	1	6
			170		2	5	7
			(Total)		(8)	(11)	(19)
Control	21	-	40	4		4	8
			70	4		6	10
			170	3		0	3
			(Total)	(11)		(10)	(21)
B. EEL 150 μg/g diet	21	30	30		5		5
			-		15		15
			(Total)		(20)		(20)
Control	21	-	30	3		3	6
			-	8		7	15
			(Total)	(11)		(10)	(21)
C. EEL 125 μg/g diet	10	30	-		9		9
			(Total)		(9)		(9)
Control	9	-	-	6	3		9
			(Total)	(6)	(3)		(9)

* M, male; F(M), sex-reversed female with residues of sperm duct in the gonad; F, female with no sperm duct residues in the gonad.

長増加は対照個体のそれよりも小であり，また処理終了後 30 日を経過しても平均体長 20.3 mm と対照群の雌の 24.4 mm に達せず個体差も大であったが，一般に雄にみられる顕著な体伸長抑制はみられなかった（図 1-A)。これらの処理個体では処理 15 日目頃から全個体の臀鰭の第 3, 4 鰭条が軽度の伸長をみせたが，雄の交接肢特有の構造分化をとげることはなく，また処理終了後にも橙赤色斑紋を生じたものもなかった。いわゆる妊娠斑点 (gravid spot) は全ての処理個体にみられ，全個体が外観的に雌としての特徴を維持しつづけた。EEL 処理を 30 日間に短縮した場合も全く同様であって，処理個体は臀鰭の軽度の変化を除いて体形的には雌として成長し，約 1 年にわたる観察期間中雄性徴を回復させたものは全くなかった。

EEL 150 μg 30 日間処理（表 1-B）の終了時に固定した 5 個体には，周辺仁期の卵母細胞と上皮肥厚の著しい卵巣腔をもつ卵巣と，発達した輸卵管が形成されていた。しかしこのうち 3 個体の卵巣（図 4）では卵母細胞が最大径 150 μ 以下の小型のものが多く，他の 2 個体の卵巣（図 6）および対照群雌のそれ（図 2）に比して明らかな発達の遅滞がみられ，また結合組織の増量が著しかった。さらにこれら 3 個体の卵巣基質の卵巣腔周辺部および輸卵管壁内には痕跡的な輸精管が形成されており（図 4, 5, 図 2, 3 と比較せよ)，これらの個体が処理開始時に精巣を有していた遺伝的雄であることを示した。生殖腺の間性化，すなわち精子形成組織の残存は観察されなかった。

EEL 150 μg 40 日間処理群（表 1-A）も，処理 19 個体の全てが組織学的に明瞭な卵巣を有しており，うち 8 個体には卵巣基質内および輸卵管壁に輸精管の残存が認められ（図 7)，遺伝的雄の完全な性転換が起ったことを示していた。しかしこの群での処理終了後 30 日から 170 日の間の組織学的検索によると，その遺伝的性とはかかわりなく卵巣の発達程度の個体差が著しく，一般に卵母細胞が少数であるほか，2 個体では卵成熟の顕著な遅滞が，また 1 個体では成熟卵の溶解などの退行現象がみられた。輸卵管系には特に異常はみられなかった。

以上の組織学的観察が示した遺伝的雄の雌化が機能的か否かを検するため，処理個体の卵巣発達の異常が比較的軽度と考えられた EEL 150 μg 30 日処理群の 15 個体中 7 個体を出生後 70 日以降に性転換雄，すなわち正常雌（XX 雌）との交配により常に雌のみを生ずることから性染色体組成が XX であることを予め確認してある雄と支配し，その出産を追跡した。結果は表 2-A に示した通りであって，雌 2 個体は雌雄両性より成る胎を出産し，性染色体組成が XY, すなわち遺伝的雄であることを，また他の 2 個体は雌単性胎を生じて遺伝的にも雌であることを示した。残余の 3 個体は，異なる雄との 3-5 回の反復交配によっても妊娠出産をみせなかった。本研究に用いた系統のグッピーは 1 回の交配により少なくとも 3 回は妊娠出産を継続することがわかっているが，これら EEL 処理雌は，その遺伝的性を問わず，このような連続出産をみせなかったり，出産間隔が不規則であったり，また 1 回の産仔数が小である（平均 7）などの異常を一般的傾向とした。これらの雌は交配試験終了後卵巣の状態を形態学的にしらべたが，熟卵が一般に少数であるほかは対照個体のそれと大きく異なる点を見出し得なかった。

このような生殖機能異常の直接的原因は不明であるが，EEL の投与量が至適量を越えていたことがその誘因である可能性が考えられる。しかし一連の予備試験の結果によると，EEL 100 μg 40 日間処理は雌化効果はあるが，その効果は常に 100% ではなかった。従って EEL 含量を 125 μg/g 餌料として出生翌日より 30 日間の処理を行なった（表 1-C)。この場合も処理群 9 個体の全てが処理終了後も雄性徴をあらわすことなく，外観的に正常雌として成長した。処理終了後 40-54 日の間に，これら 9 個体の雌をそれぞれ性転換雄（XX 雄）2 個体と交配しその出産と子魚の性比を調査した。表 2-B にまとめたように，これら 9 個体のうち 2 個体は性転換雄（XX 雄）との交配により雌雄両性より成る胎を生じ，性転換雌（XY 雌）であることが確認された。さらに連続出産停止後この性転換雌を正常雄（XY 雄）と交配して，性比が雄に偏する両性胎を生ずることを確かめた。他の 6 個体は性転換

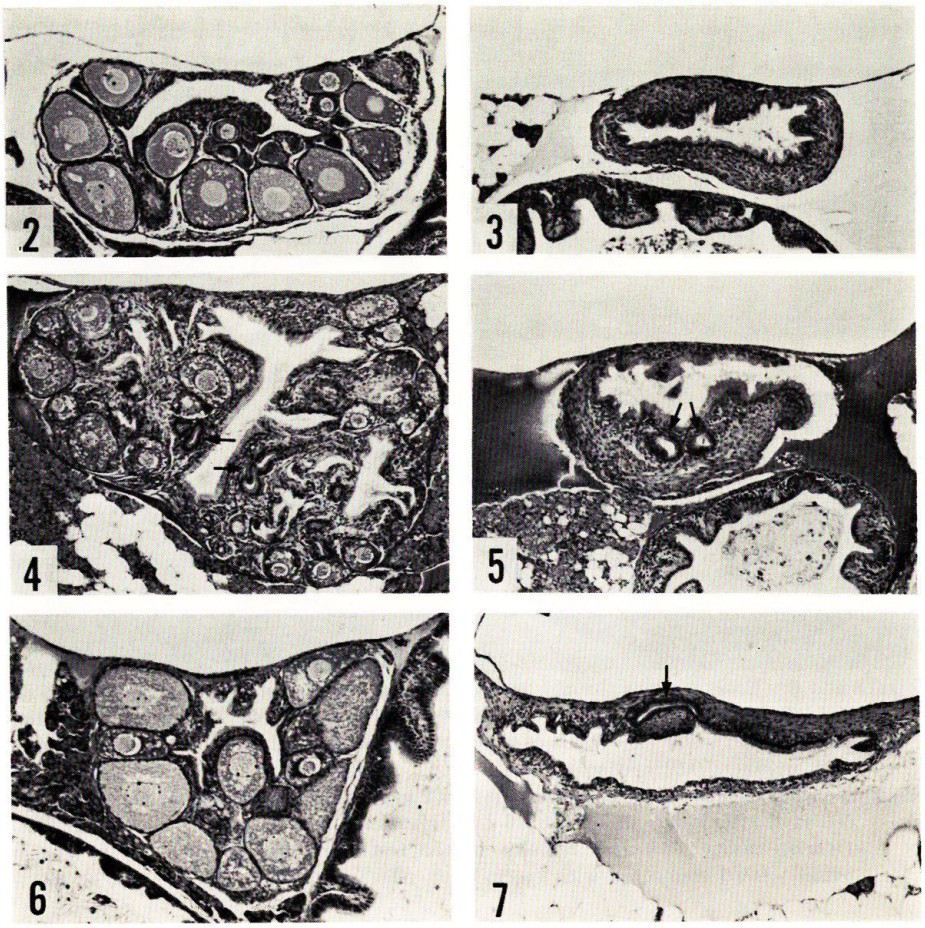
Table 2. *Progeny from matings between estrogenized females and sex-reversed (XX) or normal (XY) males of the guppy, with cases of sex-reversed females indicated by enclosed lines.*

Parents*		Duration of observation (months)	No. of mating	No. of parturition	Mean brood interval (days)	No. of fish born	Progeny*	
M	F						M	F
A. EEL 150 μg								
XX	1	6	2	2	102	18	12	6
XX	2	6	1	3	22	16	9	7
XX	3	2	1	1	-	13	0	13
XX	4	5	5	0	-	-	-	-
XX	5	5	4	0	-	-	-	-
XX	6	6	3	0	-	-	-	-
XX	7	5	2	1	-	17	0	17
B. EEL 125 μg								
XX	1	4	1	4	23	79	31	48
XY	1	3	2	2	26	8	5	3
XX	2	5	1	3	38	54	0	54
XX	3	2	1	2	19	18	0	18
XX	4	4	2	1	-	6	0	6
XY	4	2	1	2	25	10	5	5
XX	5	4	1	2	23	32	0	32
XY	5	2	1	2	24	58	26	32
XX	6	3	1	3	21	73	33	40
XY	6	3	1	3	28	89	65	24
XX	7	4	3	3	29	50	0	50
XX	8**	3	3	-	-	-	-	-
XX	9	4	1	3	24	66	0	66

* M, male; F, female.

** The female No. 8 was ascertained histologically to be sterile.

雄（XX 雄）との交配により常に単性胎を，また正常雄（XY 雄）との交配により両性胎を生ずることから遺伝的雌（XX 雌）と判定された。残る1個体は反復交配によっても出産しなかったが，組織学的調査によって，この個体の生殖腺が基本的に卵巣型でありながら生殖細胞を全く欠くこと，および輸卵管壁に輸精管の痕跡をもつことが確認された。この1個体を除き，EEL 125 μg 処理群では，150 μg 処理群にみられたような生殖機能異常がほとんど認められず，単一交配による連続出産，出産間隔，1回の産仔数（平均 17.5）は正常雌のそれらとほとんど一致しており，EEL 125 μg 30 日間処理が遺伝的雄の機能的雌化にきわめて効果的であることを示した。なお性転換雌（XY 雌）と正常雄（XY 雄）との交配によって得られた雄子魚の若干を正常雌（XX 雌）と交配しその子魚の性比を調べたが，常に雌雄両性の分離がみられ，YY 雄の存在は確認できなかった。



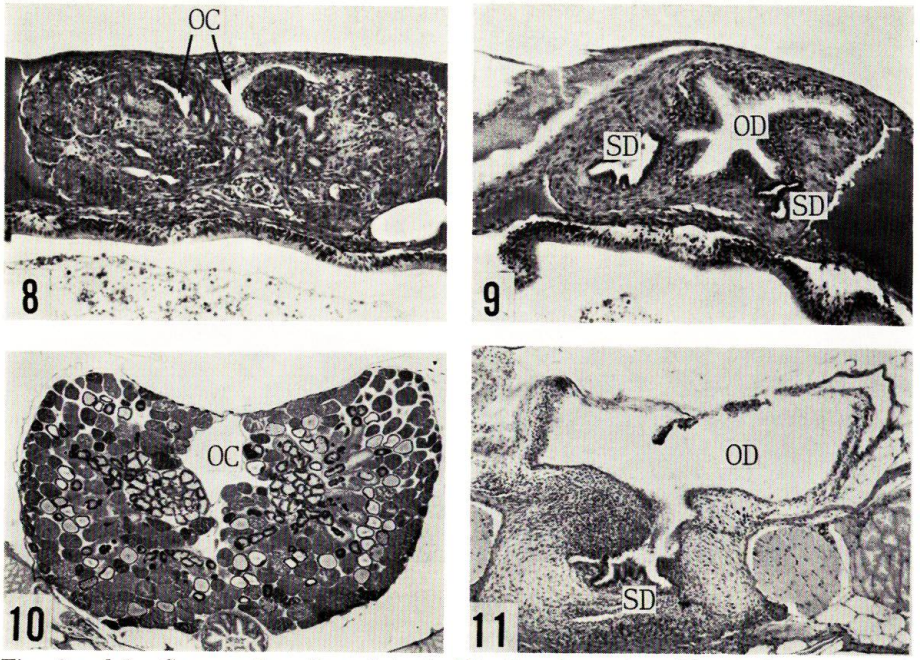
Figs. 2 and 3. Cross sections through ovary (Fig. 2) and oviduct (Fig. 3) of control guppies 30 days after birth. × 80.

Figs. 4–6. Cross sections through ovaries (Figs. 4 and 6) and oviduct (Fig. 5) of guppies at the end of the 30-day treatment with ethinylestradiol (150 μg/g diet). Arrows in Figs. 4 and 5 indicate sperm duct residues occurring in the ovarian stroma and in the wall of oviduct of sex-reversed females. ×80.

Fig. 7. Cross section through oviduct of a guppy 30 days after the end of 40-day treatment with ethinylestradiol (150 μg/g diet). Residual sperm ducts (arrow) still exist in the wall of oviduct. × 80.

Dienestrol (DS) 処理の効果

DS は，同じく合成雌性ホルモンとして汎用される diethylstilbestrol と構造的に近似し生理作用も似るが副作用がより少ないとされている。グッピー雄は，すでに述べたように出生後 25-30 日以降は体長増加が次第にゆるやかとなり，成熟後は雌に比してはるかに小型にとどまる。この体伸長抑制が雄性ホルモンの作用に基くと考えられることから，精巣での雄性ホルモン産生を一時的に阻止するこ



Figs. 8 and 9. Cross sections through testis (Fig. 8) and gonoduct (Fig. 9) of a guppy at the end of the 40-day treatment with dienestrol (100 μg/g diet). In the testis, ovarian cavities (*OC*) occur as a result of the treatment, and the duct is of a mosaic structure with oviduct (*OD*) and sperm ducts (*SD*). × 120.

Figs. 10 and 11. Cross sections through testis (Fig. 10) and gonoduct (Fig. 11) of a guppy 50 days after the end of the 40-day treatment with dienestrol (100 μg/g diet). Ovarian cavity (*OC*) still remains in the testis and the gonoduct is a type of oviduct (*OD*) connected with sperm duct (*SD*). Fig. 10, × 22; Fig. 11, × 60.

とにより，より大型の雄を得ることができると期待される。この目的で同一胎のグッピー 52 個体を各 26 個体の 2 群に分ち，1 群には 100 μg/g 餌料の DS を出生翌日より 40 日間与え，他の 1 群を対照として，その体成長および生殖腺の発達におよぼす影響をみた。

処理個体は処理期間中交接肢の分化，橙赤色斑紋の出現などの雄性徴を全くみせず，逆にいわゆる妊娠斑点をもち，体成長の度合も対照群の雌とほとんど変らなかった。しかし処理終了後 15 日目頃には若干の個体の臀鰭に交接肢への形態変化がみられはじめ，処理終了後 30 日頃には典型的な交接肢への発達が明らかとなった。この時期（出生後 70 日）の平均体長は対照群雄で 17.4 mm，雌で 21.6 mm であり，また交接肢をもつ処理個体は 20.7 mm であった。出生後 90 日には処理群の雄とみなされる個体は完成された交接肢と橙赤色斑紋をもちながら平均体長は 21.6 mm と，同年令対照群雄の 17.2 mm をうわまわっていた（図 1-B）。

出生後 40, 70, 90 日目に処理，対照の両群について生殖腺の組織学的観察を行なった結果，雌：雄の比は対照群で 14: 11，処理群で 12: 13 であり，この量の DS は性転換を誘導しないことがわかった。処理終了時の精巣はその発達を強く抑制されており，異常に密な精巣間質に埋って発達のわるい輸精管と第一精母細胞期までの生殖細胞包のうが存在していた（図 8）。精原細胞は健常な像を保っ

ていた。またすべての精巣には対をなす卵巣腔が形成されており（図8），精巣に連なる生殖輸管は輸卵管型であって，その壁に1対の輸精管を有していた（図9）。しかし精巣卵は1個体に散在的にみられるのみであった。

処理終了後には，処理個体の精巣はすみやかに発達を回復し，処理終了後30日には精細胞期の包のうが出現し，同じく50日には成熟精子球が発達した輸精管内に放出されていた（図10）が，処理終了時にすでに形成されていた卵巣腔および輸卵管は依然として残存しており，輸精管系がこれら雌型の輸管系に開口している場合もあった（図11）。泌尿生殖洞およびその関連構造は雄型に分化しており，これら処理個体は雄として充分に機能しうると推定された。なおDS処理は卵巣の発達成熟には特記すべき影響をもたなかった。

考　　察

外因性の雌性ホルモンが，硬骨魚の本来精巣として分化すべき生殖腺に卵巣としての分化を誘導する効果をもつことはよく知られている。このような性転換が完全かつ機能的であるためには，性ホルモン処理が生殖腺の性分化開始前に始められ，性分化が形態的に明瞭となる時期まで継続してなされる必要があるとされており[6]，これまで機能的雌化が遺伝的に確認されている二魚種，メダカ *Oryzias latipes*[7] とキンギョ *Carassius auratus*[8] での雌性ホルモン処理はこのような性分化の特定時期を含む期間を通じてなされたものである。生殖腺の正常性分化期を確かめることなくなされたホルモン処理は，おおむね性転換の誘導に成功していない。

グッピーの生殖腺の性分化に対する雌性ホルモンの効果については，Berkowitz[1] にはじまる初期の研究の多くが精巣内にいわゆる精巣卵の出現をまねく程度の部分的雌化の結果を得たにすぎなかったが[9][10][11]，これは処理時期の問題の他に投与したホルモンの量，処理方法などが不適切であったことに依ると思われる。Miyamori[2] は経口投与での有効性の高いethinylestradiolを餌1gあたり125 μgとして出生翌日より30日間以上投与した場合に，雄の生殖腺が雌での卵巣分化と同様な過程を辿って雌化されることを組織学的に明らかにした。Haskinsら[12] は餌料1gあたり20mgという極大量のestradiolを用いてグッピーの遺伝的雄を雌化し，体色の遺伝的研究に用いている。研究目的が異なるため，このホルモン処理の時期，至適量，性転換率などの記述がないが，おそらくこれがグッピーの機能的雌化の最初の例であろう。しかし本研究によって，Miyamori[2] の用いた方法が完全かつ機能的な雌化に充分に有効であることが組織学的にも遺伝学的にも実証され，かつ性転換雌が正常雌と変らない生殖機能を営むことも確認され，この方法をグッピーの遺伝的雄の機能的雌化の標準処理法として用いうることを明らかにした。

グッピーは出生時にすでに卵巣および精巣の分化を了えているにも拘らず，出生後のホルモン処理が完全な性転換を導くことは，前述した性ホルモン処理の有効期についての理解と一致しない。たとえばCichlidaeに属する二，三の種での研究[13][14] では，この有効期が生殖腺の性分化のある特定の時期に限定されうることを示している。このことは性ホルモン処理の性転換誘導効果を，生殖腺の性ホルモンに対する反応性の面から検討する必要を指摘する。第一に生殖細胞がその発達のどの段階まで両性能（bisexuality）を高度に維持しうるのか，という問題である。グッピーの場合出生直後の精巣の生殖細胞は第一精原細胞期にあるが，Miyamori[2] の観察のごとく雌性ホルモン処理はこれらに直接的に卵子形成を行わせるのであるから，少なくともこの段階までは生殖細胞の性分化の不可逆的な方向づけがなされていないものとみなしうる。グッピーではいわゆるgonium stageの生殖細胞は，生殖腺の性分化後もかなり長く両性能を保つと思われる。出生後の雄性ホルモン処理によって卵巣内の卵原細胞の少なくとも一部に精原細胞への機能転換をおこさせ精子形成を行わせることもまた可能

であるからである[4)15)]。

第二に生殖腺基質を構成する体細胞要素の性分化の問題がある。硬骨魚の場合，板鰓類や両生類以上の脊椎動物群と異なり，性分化期の生殖腺の体細胞基質はその量や分布に性特異性をみせぬことが多いため，この問題に焦点を合せた研究はきわめて少ない。しかしグッピーの精巣分化は，将来の輸精管系および間質組織などに分化すべき体細胞が生殖腺の基部に顕著な集塊をつくるのを特徴とする。この体細胞集塊の形成は胎仔期後期の特定の時期にはじまるものであって，この時期を通じて母体を経由して与えられた雄性ホルモンは胎仔雌のすでに卵巣としての分化をとげつつある生殖腺にこの体細胞集塊の形成をみちびき，またその将来の精巣構造への分化を決定させる[16)]。この時期を外れた雄性ホルモン処理は体細胞基質を雄化し得ないか，または雄化し得たとしてもきわめて不完全にでしかない。雄性ホルモン処理による機能的雄化の成否はむしろこの生殖腺体細胞要素の順調な雄化の成否に依存するともいえよう。この精巣体細胞集塊の分化の方向の決定が胎仔期になされることは，本研究で示したように，性転換雌の卵巣内および輸卵管壁に輸精管構造が残存することからもうかがわれる。同様な現象は Miyamori[2)] も観察しており，出生後の雌性ホルモン処理は既に決定のなされた輸精管系の分化を阻止することはできず，単にその形態分化後の発達を抑制するにすぎないのである。

一方卵巣の体細胞要素の性分化として形態的に著しいものは卵巣腔および輸卵管の形成である。これら雌性生殖輸管系は上述の雄性輸管系とは全く異なる形態形成過程を辿るし，また後者の形成よりもおそく，出生後 7-15 日の間にみられる。このような体細胞要素の雌性分化が出生後になされた雌性ホルモン処理により完全かつ機能的に誘導されうることは本研究の結果からも明らかである。また dienestrol 処理の結果から知られるように，雌性ホルモンが生殖細胞の雌化を惹起し得ない場合にも生殖腺基質の雌化がありうるのであって，卵巣の体細胞要素の雌性ホルモンに対する感受性がきわめて高いことを推測させるとともに，性分化という一見単純な現象が，生殖細胞とその環境を構成する体細胞要素相互のきわめて複雑な関連に基くことを示唆する。正常の卵巣分化過程での卵巣腔，輸卵管の分化が内因性の雌性ホルモンに専一に依存すると断定することはできないが，少なくともこれらの構造分化の決定が出生後のある時期になされること，およびそれに雌性ホルモンが関与しうることは明らかである。そしてこれらの事実はまた，生殖腺の性分化を論ずる場合に，生殖細胞についてのみならず体細胞要素の行動についても着目することの必要性を強調するように思える。さらにこのような事実に基いて，前に述べた性転換誘導のための性ホルモン処理の原則[6)] は，至適量の性ホルモンによる処理が生殖腺の体細胞要素の性分化期を通じてなされねばならない，といいかえられるべきかもしれないが，この点は多くの魚種での比較研究により確かめられよう。

雌性ホルモンの作用が単に卵巣腔，輸卵管の形態形成にのみならず，これら卵巣附属構造の機能化にも関係をもつ可能性は，処理個体のこれらの輸管系の上皮が著しい肥厚をみせたことにうかがわれる。特に卵巣腔壁の肥厚は卵巣卵の起源となる生殖細胞の新生と関連をもつと推定されており[4)17)]，このことの立証をも含め，卵巣腔上皮のいわゆる生殖上皮としての機能に雌性ホルモンがいかなる意義をもつかが，今後の解明をまつ重要な問題の一つである。

性ホルモン処理にかかわる要件として重要なものに，投与量がある。これについても，その機能的性転換誘導の至適量をとりあげた研究は決して多くはない。グッピーの出生前の雄性ホルモン処理においては，母体への投与量が至適量をこえると生殖細胞の増殖や生殖輸管系の発達が阻害されることは前報[3)] にのべた通りである。雌性ホルモン処理の場合も，大量，特に長期間の処理は往々にして雌の生殖機能のさまざまな障害の原因となりうる[13)18)]。本研究においても ethinylestradiol 150 μg 処理は，処理魚の遺伝的性とは拘りなく卵巣発達の異常や妊娠，出産などの機能の異常化をもたらした。同じホルモンも 125 μg の量ではそのような処理魚の生殖機能の異常化がなかったことは，機能的雌化に関しても用いる雌性ホルモンの至適量が存在することを示すものである。このような生殖機能異常

が至適範囲をこえた量のホルモンの卵巣への直接作用に起因するのか，もしくはその異常の持続性から推定されるように脳下垂体機能の混乱によるものかは不明であるが，雄性ホルモン処理の場合とは異なり，生殖輸管系の形態異常によるものではないと思われる。ホルモン効果の強度は一回投与量と投与期間の長さの両要因によって定められることもあるので，機能的により正常な性転換を達成するには，投与期間の長さについても検討をすすめる必要があろう。

最後に，性転換を誘起するには不足な dienestrol 100 μg 処理は，処理魚の精巣発達の抑制を介して，雄での体伸長の早期停止を解消させ，少なくとも処理中は対照群雌とほとんど変らない体成長を行わせるのに有効であり，しかも処理終了後雄はその生殖機能を正常に回復した。このような方法でのグッピー雄の大型化は体成長に関する内的要因の解析に有用であるのみならず，たとえば汚水浄化や害虫駆除などの役割をグッピーやカダヤシ (*Gambusia*) などに期待する場合への応用も考えられよう。単性胎の生産とともにこのような面での性ホルモン処理効果の利用も今後考慮に値することのように思われる。

要　　約

グッピー (*Poecilia reticulata*) の生殖腺の性分化は出生前に完了しているが，出生後の雌性ホルモン処理により，その遺伝的雄を完全に機能的な雌に転換させうる。150 μg/g 餌料の ethinylestradiol (EEL) を出生翌日から 30～40 日間投与した場合，処理魚は全て雌として成長し，その若干は性転換雄(XX 雄)との交配により雌雄両性の子魚を出産して遺伝的雄（XY 雄）の機能的な性転換があったことを証したが，処理雌の多くはその遺伝的性にかかわりなく不妊，出産間隔の不規則，単一交配による連続妊娠の不成立，産仔数の減少などの異常をみせた。組織学的観察によっても精巣の卵巣への転換は，輸精管系の残存が卵巣基質内および輸卵管壁に認められる点を除き完全であったが，生殖機能障害の一因とみなしうる卵成熟の遅滞や異常をみせる個体が多かった。125 μg/g 餌料の EEL による出生翌日から 30 日間の処理も遺伝的雄の 100% の雌化に有効であり，またこの雌化が完全に機能的であることが交配試験により確かめられた。この場合には処理雌のほとんどが上述のような生殖機能異常をみせず，性転換をもたらすべき雌性ホルモンにも至適量を考慮する必要を示した。100 μg/g 餌料の dienestrol の 40 日間処理は性転換を惹起しなかったが，EEL と同様遺伝的雄での卵巣腔—輸卵管系の形成を誘導し，生殖腺体細胞要素の性分化の事実を強調するとともに，精巣発達の抑制を介して雄の体伸長抑制を解除し，処理終了後，大型の機能的雄を生ぜしめた。

文　　献

1) Berkowitz, P. (1938). The effects of estrogenic substances in *Lebistes reticulatus* (guppy). *Anat. Rec.* **71**, 161–175.
2) Miyamori, H. (1964). Study on the morphogenic process of the estrogen-induced feminization of male reproductive organs of *Lebistes reticulatus*. *J. Biol., Osaka City Univ.* **15**, 1–22.
3) Takahashi, H. (1975). Functional masculinization of female guppies, *Poecilia reticulata*, influenced by methyltestosterone before birth. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **41**, 499–506.
4) Takahashi, H. (1974). Modification of the development of female reproductive organs in the guppy, *Poecilia reticulata*, following an androgen treatment in their juvenile period. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **25**, 174–199.
5) Takahashi, H. and Iwasaki, Y. (1973). Th eoccurrence of histochemical activity of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase in the developing testes of *Poecilia reticulata*. *Devel. Growth Differ.* **15**, 241–253.

6) Yamamoto, T. (1969). Sex Differentiation. p. 117–175. In Hoar, W.S. and Randall, D.J. (eds.), *Fish Physiology*, Vol. III. 485p. Academic Press, New York.
7) Yamamoto, T. (1953). Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*). *J. Exp. Zool.* **123**, 571–594.
8) Yamamoto, T. and Kajishima, T. (1968). Sex hormone induction of sex reversal in the goldfish and evidence for male heterogamity. *Ibid.* **168**, 215–222.
9) Berkowitz, P. (1941). The effects of estrogenic substances in the fish (*Lebistes reticulatus*). *Ibid.* **87**, 233–243.
10) Querner, H. (1956). Der Einfluss von Steroidhormonen auf die Gonaden juveniler Poeciliiden. *Biol. Zbl.* **75**, 28–51.
11) Miyamori, H. (1959). Responses of the gonad of *Lebistes reticulatus* to the estrogenic treatment. *J. Inst. Polytech., Osaka City Univ.*, D **10**, 115–127.
12) Haskins, C.P., Young, P., Hewitt, R.E. and Haskins, E.F. (1970). Stabilised heterozygosis of supergenes mediating certain Y-linked colour patterns in populations of *Lebistes reticulatus*. *Heredity* **25**, 575–589.
13) Hackmann, E. and Reinboth, R. (1974). Delimitation of the critical stage of hormone-influenced sex differentiation in *Hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf) (Cichlidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* **22**, 42–53.
14) Nakamura, M. and Takahashi, H. (1973). Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **24**, 1–13.
15) Takahashi, H. (1975). Masculinization of the gonad of juvenile guppy, *Poecilia reticulata*, induced by 11-ketotestosterone. *Ibid.* **26**, 11–22.
16) Takahashi, H. (1975). Process of functional sex reversal of the gonad in the female guppy, *Poecilia reticulata*, treated with androgen before birth. *Devel. Growth Differ.* **17**, 167–175.
17) Goodrich, H.B., Dee, J.E., Flynn, C.M. and Mercer, R.N. (1934). Germ cells and sex differentiation in *Lebistes reticulatus*. *Biol. Bull.* **67**, 83–96.
18) Müller, R. (1969). Die Einwirkung von Sexualhormonen auf die Geschlechtsdifferenzierung von *Hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf)-(Cichlidae). *Zool. Jahrb. Physiol.* **74**, 519–562.