〔農化 第 50 巻, 第 12 号, R233~R244, 1976〕

卵 形 成

池 上 晋
(東京大学農芸化学科)

Oogenesis

By Susumu IKEGAMI

Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo, Tokyo

は じ め に

われわれの体の中の細胞, たとえば肝臓の細胞は, われわれの日々の生活になくてはならない独得の役割を果しているのであるが, もとはといえば1個の細胞, 受精卵から由来しており, これが幾度も細胞分裂を繰返したのちに肝細胞としての機能が備わってくるのである。こうした正常な日常生活を維持して, 個体としての生を全うするための細胞(体細胞)とは別に, 子孫をつくり出すために専門化された1群の細胞が生殖巣に存在するが, これらが生殖細胞, すなわち卵と精子にはかならない。種が永続できるのは, 個体が卵や精子を生産する能力にもとづいている。ヒトでは, 母体の中に受精卵が宿って24日経つと, 胚の尿膜に近い卵黄囊の後端上部に形態学的に生殖細胞が認められるようになり(第1図), 5週目にはこれらの細胞が卵巣の原基に集まってくるのが認

第1図 羊膜につつまれたヒトの24日目胚

胚の長さは3mm. 始原生殖細胞(黒い点)が尿膜近くの卵黄囊上端部に認められる。E. Witschi: *Carnegie Contrib. Embriol.*, 32, 69 (1948) より改変。

められる。これらの細胞は始原生殖細胞 (primordial germ cell, PGS と略称する) と呼ばれ, 名前のとおり卵と精子の源であるが, 幾度も有糸分裂を繰返して数を増していく(第2図)。このあと, 減数分裂あるいは成熟分裂と呼ばれる, 生殖細胞に特有の細胞分裂が開始されるのである。ヒトの場合には, 受精後2カ月経った胚の卵巣中に, 第1減数分裂前期に入った卵細胞が認められるようになる。これらは1次卵母細胞と呼ばれるが, 胎

発生過程

有糸分裂による増殖
生殖隆起への移動

最後の細胞分裂間期
DNA合成
減数分裂前期の開始

出生 (birth)

卵と濾胞の成長

思春期 (puberty)

濾胞の成熟

第1還元分裂の再開

第1極体の放出

排卵 (ovulation)

精子の貫入
第2極体の放出

卵細胞の状態

第2図 哺乳類卵細胞の生活環

T. G. Baker: In "Germ cell and fertilization," ed. by C. R. Austin and R. V. Short, Cambridge University Press, London, 1971, p. 14 より改変。

児が出生する頃には、ほぼすべての卵細胞は 1 次卵母細胞に移行しているのである。

卵母細胞は、濾胞細胞と呼ばれる体細胞によってとり囲まれており、どんどん栄養源を卵内に貯わえていく。そのために卵母細胞は、いちじるしく大きな細胞となっていくのであるが、この過程は卵黄形成と呼ばれている。思春期にはじまる排卵は、卵巣から卵が輸卵管に放出される現象を指すが、こうして排卵される卵は第 1 減数分裂の前期から第 2 減数分裂の中期に至る、卵成熟と呼ばれる過程を伴う(第 2 図)。半数性(haploid)の染色体をもつ精子が輸卵管に到達して卵に貫入できるのは、このような、卵の成熟が必須の条件である。1 個の受精卵が成熟卵(2 次卵母細胞)を形成するまでの多彩な変化が、卵形成と総称されるものである。卵形成は動物はもとより、種子植物、シダ、藻類、カビにも広くみられる発現現象であるが、ここでは話を多細胞動物に限り、しかも、実験的な解明が進んでいる動物種をその局面ごとにとり上げて卵形成過程のあらましを述べていくことにする。本論考では、卵形成における特徴的な染色体構造の変化や、細胞内小器官の形態変化に関する記述は必要最小限にとどめ、卵形成にかかわりあうホルモンや生体内制御のしくみを解きあかそうとした努力の足跡を紹介することに主眼をおいた。細胞形態の変化を中心に手ぎわよく卵形成を解説した論考として、Longo and Anderson の近著⁽¹⁾を挙げておく。

始原生殖細胞の形成とそのゆくえ

1 個の受精卵が増殖していく間に、どのような契機で体細胞と生殖細胞の系が分離してくるのであろうか。カエル *Rana temporaria* の受精卵には、植物極側の表層近くに特徴的な染色をうける細胞質部分があり、生殖質(germinal plasm)と呼ばれている。この生殖質は、卵割が進むにつれて内胚葉予定域にある少数の細胞の中に認められるようになる。これらの細胞は、さらに発生が進むと内胚葉から移動して卵巣の原基である生殖隆起(genital ridge)に入りこむ。この生殖質が生殖細胞決定因子であろうという示唆を与えたのは古く、1939 年、Bounoure⁽²⁾である。彼は *Rana* の受精卵に紫外線を照射することを試みたが、植物極側から照射する場合に限り生殖巣の小さい、生殖細胞を欠いたオタマジャクシになることを認めた。その後、Smith⁽³⁾は紫外線照射を施して、全く生殖細胞を欠いたオタマジャクシとなるべ

き *Rana pipiens* の受精卵に、紫外線を照射していない受精卵の植物極側の細胞質を注入したところ、それから発生したオタマジャクシに生殖細胞が形成されることを認めた。どの波長の紫外線を照射すると最も効果的に生殖細胞決定因子が破壊されるかを調べたところ、254m μ が最も有効で、つづいて 278, 230, 302 m μ の順序になるので、タンパク質よりもむしろ RNA あるいは DNA が主要な生殖細胞決定因子としての役割を果しているのであろうと考えられている。生殖質部域にはミトコンドリアが密集しており、豊富な RNA の存在が認められるので、RNA がこのような生殖細胞決定因子ではないかと考えられている。

生殖細胞決定因子をもつ細胞、すなわち PGS が将来の卵細胞になるにしても、それ以外の体細胞がなんらかの転機で生殖細胞に変わる可能性はないのであろうか。Blackler⁽⁴⁾はアフリカツメガエル *Xenopus laevis* で、核小体を 2 個有する正常種と核小体が 1 個しかない変異種との間で、神経胚の時期に PGS が存在する部域を変換移植して成体になるまで飼育し、生じた生殖細胞の核小体の数を調べた。正常種の、生殖細胞を含む部分を除去して、そこに変異種の生殖細胞を含む部分を植えた場合には正常種として成体になり排卵するようになるが、それらの卵は 1 個の核小体をもつ変異種の卵であった。逆の場合にも同様な結果が得られたので、PGS 以外に生殖細胞となりうる細胞が存在するとは考えられない。また、*X. laevis* の胚から PGS が存在する部域を除いて、その場所に *X. tropicalis* の PGS 部域を移植すると、*X. tropicalis* の卵や精子をもつ *X. laevis* の雌雄を得ることができる。これらが交尾し、受精・発生の過程を経て生ずる子供は全く *X. tropicalis* にほかならない⁽⁵⁾。すなわち、PGS が別の種に属する母親の腹にまぎれこみ、栄養分を摂って成長しても、立派に祖先の“血”をうけついでいくことを示している。

ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の胚では、極細胞(pole cell)と呼ばれる細胞が胚の後端部から分離してくるが、この細胞は極顆粒(pole granule)と呼ばれる特徴的な顆粒を含んでいる。Illmensee と Mahowald⁽⁶⁾は、極顆粒を将来体細胞となるべき胚の前端部に注入し、これらが胞胚葉細胞(blastoderm cell)になってから遺伝的に異なる胚の後端に移植した。この胚が成長してから生じた卵の形質を調べてみると、宿主の形質ではなく元の親の形質をもった卵であることが明

らかにされた。この実験が示すことは、極顆粒が生殖細胞決定因子としての役割をもっており、たとえ体細胞に分化すると運命づけられた細胞でも、この因子を人工的に入れてやることによって生殖細胞に変化しようということである。このような生殖細胞決定因子を極細胞から抽出し精製していく試みは、現在 *Drosophila* の胚を用いて進められている。

ニワトリの PGS は、孵卵後 12 時間経つと胚の外にある生殖新月環 (germinal crescent) の中に識別することができるようになり、その後血流によって生殖隆起に運ばれる。アヒルの生殖新月環を、その部域をとり除いたニワトリ胚の血管につなぎ合わせて飼うと、ニワトリの生殖隆起にアヒルの特徴をもった PGS が集まってくる⁽⁷⁾。ところが生殖隆起 (卵巣予定域) をとりのぞいておくと PGS は血流によって循環しつづけて特定の部域に落ち着くことができない。培養した PGS は定まなく動きまわり、通常の体細胞にみられるような培養器への接着能力を示さない。生殖隆起部分をこの培養器の端に置いてやると、PGS はそこに集まってくる⁽⁸⁾。したがって、卵巣予定域がなんらかの化学物質を分泌しており、PGS がこの物質に対して走化性を示すように思われる。この物質は 'telopheron' と仮称される未同定の物質であるが、これは種を超えて作用するようである。ニワトリの卵巣は、ハツカネズミの PGS を誘引することができる⁽⁹⁾。

運悪く卵巣がつくられる部域に入りこむことができないで迷子になった PGS は、結局死んでしまうと考えられる。しかし、なんらかの理由で生きながらえ増殖をはじめると、分化したさまざまな組織と、未分化の腫瘍性をもつ細胞群に変貌する。これらは、テラトカルシノーマ (teratoma) と呼ばれる奇形腫瘍である⁽¹⁰⁾。

1 次卵母細胞の形成

卵巣の原基は中胚葉が肥厚した、ヒダ状の形をしており、これを生殖隆起と呼ぶことは前にも述べたが、ここに隣り合う発達途上の腎臓が卵巣の形成に必要な細胞を供給しているように思われる。卵巣は胚芽上皮 (germinal epithelium) によってとり囲まれており、その中に皮質と髄質が判別できる。卵巣として発達する場合には生殖細胞は皮質にとどまるが、精巣の場合には PGS がたどりついたあと髄質に移行し、皮質は退化してしまう。

若い卵巣に入りこんだ生殖細胞は、さかんに細胞分裂を繰返して細胞数を増していく。この分裂は体細胞のそれとなんら変るところがなく、核の染色体が倍化するとひきつづいて細胞は 2 個に分れ、diploid の核をもっている。このように、体細胞と同数の染色体をもつ時期の卵細胞を卵原細胞 (oogonium) と呼ぶ。ある時期に達すると、卵原細胞は DNA の倍化をおこしたあと第 1 減数分裂前期に入る (第 2 図)。この段階の核が通常の細胞分裂前期と異なる特色は、細長く伸びた染色糸に添って大きい不ぞろいな顆粒、染色小粒 (chromomere) が存在することである (第 3 図)。染色糸は収縮して太くなり、やがて核小体が染色体の特定の部位に付着していることが認められるようになる。この時期はちょうど、相同の染色体同士が対になるときである。こうして対合が完了すると、あたかも核の中に diploid の染色体数しかないように見えるが、高倍率の顕微鏡を用いれば、それぞれが 2 本の対になっていることが確かめられる。1 対の染色糸はどんどん短くなり、そのあと突然対合した 2 本の染色糸は分かれていく。しかしながら完全な分離がおこるのではなく、2 本の糸はところどころにあるキアズマ (chiasma) と呼ばれる点で結びついた格好になっている。この時点、つまり第 1 減数分裂前期のディプロネマ (dictyate) 期で卵核内の変化は停止する。これら一連の卵核変化は、多くの哺乳類のばあい、卵細胞が胎児の卵

第 3 図 2 回にわたる減数分裂の各時期を模式化して示したもの

1 対の染色体だけを示してある。終期以降にみられる。1 対の核の間の線は細胞膜を示している。

巢内にある時期でおこる変化であるが、その後、核変化が再開されるのは胎児が出生したあと、思春期になって排卵がおこる時点である。それまでに卵細胞は、細胞の外からさかんに栄養分を吸収して著しく肥大するのである(第2図)。

ところで、さかんに増殖していた卵原細胞がどのような契機で第1減数分裂前期に移行するのであろうか。Erickson⁽¹¹⁾は、ニワトリ12日胚の左の卵巣皮質*をとり出し、仔牛の血清を含む培養液で培養すると、5日後には卵巣皮質に存在するすべての卵原細胞が第1減数分裂前期に移行することを観察した。ところが卵巣皮質をトリプシンではぐし、卵原細胞だけを拾い出して培養したところ、いっこうに減数分裂に入らなかった^(11,12)(第4図)ので、卵巣皮質にはおそらく卵原細胞に減数分裂を誘起させる因子が存在しているのではないかと考えられる。

妊娠後11日目のハツカネズミの雌の胎児では卵巣内の卵細胞はすべて卵原細胞であるが、19日目頃までには大部分が1次卵母細胞となっている。他方、雄の場合には、成体になって思春期を迎えるまで精原細胞が第1減数分裂に入ることはない。11日目の胎児の卵巣片を培養すると、ニワトリ胚の場合と同様に、卵巣片内の卵原細胞は7日後には減数分裂前期に移行している。卵巣片の上にヌクレオポアフィルターをのせて、その上に11日目の精巣片を置き、7日間培養すると精原細胞が減数分裂前期に移行した⁽¹³⁾。精巣片だけを単独で培養しても、このような減数分裂像はみられない。また、卵巣片を単

独で培養してから、組織片をとり除いて培養液を集め、この中で精巣片を培養しても、精原細胞に減数分裂を誘導させることができるので、培養卵巣片中には“液性”の減数分裂誘導因子が生じ、これが精原細胞に作用したものと考えられる。

卵 黄 形 成

第1減数分裂前期に達した1次卵母細胞は、濾胞細胞にかこまれて体積を増大していくが、それは主として卵黄を蓄積するためである。*Xenopus laevis*の生長した卵母細胞では、結晶性の卵黄小板を核として卵黄顆粒が形成されている。卵黄小板はホスビチン(phosvitin)と、リポビテリン(lipovitellin)と呼ばれる2種類のタンパク質によって構成されている。これらの分子は、雌の血清中に存在する前駆体タンパク質、ビテロゲニン(vitellogenin)が卵母細胞にとりこまれ、分子の再配列がおこなわれて生じたものである⁽¹⁴⁾。卵母細胞がビテロゲニンを取り込む速度は、卵母細胞の生理的条件によって左右される。生殖腺刺激ホルモン(この場合、妊婦の尿から得られるHCGが用いられた)を雌のカエルに注射したあと卵母細胞をとり出して、ビテロゲニンを加えた培養液中で飼うと卵母細胞がビテロゲニンを取り込む速度は早くなる⁽¹⁵⁾。生殖腺刺激ホルモンのほたらきは、こればかりではない。雌のカエルにHCGを注射してやると、卵巣からエストラジオール-17 β (第5図)が分泌されるようになるが、雌にエストラジオール-17 β と一緒に³²P-リン酸塩を注射すると、直ちに血液中に³²Pでラベルされたビテロゲニンが出現してくる。また、ふつう、雄の血清中にビテロゲニンはまったく検出されないが、エストラジオール-17 β を注射すると血中にビテロゲニンが現われてくる⁽¹⁶⁾。ビテロゲニンを生産する器官は肝臓であり、肝臓をとり除いて飼った雌の血中にはビテロゲニンが存在しなくなる。また、あらかじめエストラジオール-17 β を注射した雌のカエルの肝臓をとり出し、スライスにして³H-ロイシンや³²P-リン酸塩の存在下で培養すると、³Hや³²Pでラベルされたビテロゲニンが培養液中に認められるようになる⁽¹⁴⁾。

卵巣から分泌されるステロイドホルモンがビテロゲニンの合成を促す例は、ネッタインマカ *Aedes aegypti*でも認められる。血を吸わせないで飼った蚊の脂肪体でも単独で培養しても顕著なビテロゲニンの合成は認められないが、培養液に β -エクダイソン(第5図)を加えて

第4図 ニワトリ12日胚の単離卵原細胞(1の場合)、卵巣皮質(2の場合)を仔牛の血清を含むHam's F-12培養液で5日間培養したあと、卵細胞を集めて作成した染色体標本

酢酸アルコール固定。Giemsa染色。倍率、 $\times 1000$ 。
1. 培養卵原細胞から得た染色体。凝集はみられない。2. 培養卵巣皮質内の卵細胞から得た染色体。染色体は凝集しており、第1減数分裂前期の像を示す(池上原図)。

第 5 図 卵形成にかかわる低分子化合物

(A) エストラジオール-17 β (脊椎動物); (B) α -エクダイソン ($R=H$), β -エクダイソン ($R=OH$) (昆虫); (C) 幼若ホルモン I ($R_1=R_2=C_2H_5$), II ($R_1=C_2H_5$, $R_2=CH_3$), III ($R_1=R_2=CH_3$) (昆虫); (D) アステロザポニン A ($R=CH_3CO$, $CH_3CHCOHCH_2COCH(CH_3)_2$, $CH_3CH\cdot CH_2COCH=CH(CH_3)_2$, $CH_3C=CHCOCH_2CH(CH_3)_2$, etc.) (ヒトデ); (E) 1-メチルアデニン (ヒトデ); (F) プロジェステロン (カエル); (G) 黄体形成ホルモン放出因子 (ブタ).

おくと、ビテロゲニンの合成が誘導されてくるのである⁽¹⁷⁾。 β -エクダイソンは、蚊の卵巢から分泌されてくる α -エクダイソン (第 5 図) が体液中で酸化をうけて生ずるものである。しかしながら、同じ昆虫の間でもゴキブリ *Leucophaea maderae* の場合には、ビテロゲニン合成に関与するホルモンは、エクダイソンよりもむしろアラタ体から分泌される幼若ホルモン (第 5 図) が主役であると考えられている。若い時期にアラタ体を除去した雌のゴキブリを飼っておくと、卵母細胞は正常に生じてくるが卵黄を蓄積することはできない。アラタ体を移植するか、幼若ホルモンを注射するとアラタ体が除かれた雌の卵母細胞にも卵黄が蓄積されてくる⁽¹⁸⁾。幼若ホルモンがおそらく直接あるいは間接的に脂肪体に作用して、ビテロゲニンが合成され、体液中に放出されたあと卵母細胞にとりこまれたものであろうと考えられている。

卵 の 閉 鎖

われわれは、PGSが形成されて卵母細胞に変じ、卵黄を蓄積する過程をたどってきたが、ここで、どのくらい数の卵細胞が卵巢中に存在するのかという点に触れて

おく。ヒトの胎児のなかで、PGSが移動している時期ではおおよそ 2000 個程度の生殖細胞を認めることができる。卵巢内に入って卵母細胞が形成される時期には、その数は約 700 万に達する。そのうち卵母細胞の数はどんどん減じてゆき、出生時には 200 万程度となる (第 6 図)。ヒトの一生のうち、排卵される卵の数はせいぜい 500 に過ぎない。このようないちじるしい生殖細胞の崩壊過程は閉鎖 (atresia) と呼ばれているが、なにゆえ 1 握りの卵が生き残って卵成熟の過程を経て排卵されていくのに、隣り合う卵

はその成長過程のさまざまな時期で閉鎖し、卵巢から排除されていくのか全くわかっていない。ウニやヒトデのような海産動物では、成熟した卵が海水中に放出されるが、それはおびただしい数にのぼる。海のなかで受精を遂げても無防備の幼生が厳しい環境の中で生き延びていく数は限られたものであろう。こうした生物では、卵細胞が閉鎖する現象は知られていない。

第 6 図 ヒトの卵巢における生殖細胞数の変化

T.G. Baker: *Amer. J. Obst. Gynec.*, 110, 746 (1971) より。

卵成熟と排卵

前に述べたとおり、充分成長した卵母細胞の核は第1減数分裂前期のディクチアート期にとどまり休止した状態にあるが、その核は特徴的に大きく、卵核胞 (germinal vesicle) と呼ばれている (第7図)。卵成熟は通常、ホルモンの支配をうけて開始されるが、その目ざましい細胞変化はヒトデでは2時間、カエルで2日程度といった比較的短い期間で完了する。卵成熟が開始されると、まず卵核胞崩壊 (germinal vesicle beakdown) が目につくが、この過程は卵母細胞の機能と細胞内構成成分に大きな変化をもたらすものであり、大むね卵細胞が卵巣を

第7図 環形動物多毛類 *Pectinaria gouldi* の未成熟卵

大きな卵核胞が認められる。卵核胞の中、右下方に核小体が存在する。スケールの長さは10 μ m (池上原図)。

第8図 卵成熟

1. 卵核胞期, 2. 第1減数分裂中期, 3. 第1減数分裂後期, 4. 極体放出, 5. 2次卵母細胞 (第2減数分裂中期)。PBは第1極体。

出て外へ移動する (排卵, ovulation) 時期に相当する。卵核胞が崩壊する少し前からキアズマ部分は染色体の末端に移動をはじめ、核膜が消失して紡錘糸が形成され、対合した2価染色体が紡錘体の赤道面に並ぶ。これが第1減数分裂中期である (第8図)。2価の染色体は紡錘体の両極にひきよせられたあと、紡錘体は90°回転する (後期)。次に紡錘体に近い卵表面がふくれ上り、そこに2対 (2n) の染色体が放出され (終期)、細胞質がくびれて分裂が完了するが、ここに見られるように分裂はいちじろしく不等であり、小さい方を第1極体と呼ぶ。極体は受精に関与することなく死滅する運命にある。大きい方の卵母細胞は極体を放出したあと、ひきつづき第2減数分裂に入る。前期はきわめて短く、そのまま中期に移行してその状態で中断される (第8図)、この時点での染色体数は2nであるが、半数性 (n) の核をもつ精子が卵に侵入するのはこの時期である。精子が入ったあとで卵は第2極体を放出して半数体 (n) となり、核膜が形成され第2減数分裂が完了する。ここで述べた過程はヒトやカエルの場合の話であるが、ウニの卵成熟過程は途中で中断されないで第2極体を放出したあとの状態で受精する。ツバサゴカイや昆虫の卵では、第1減数分裂の中期でとどまり、この時点で精子が貫入してから減数分裂が再開する (第1表)。このように、減数分裂がどの段階で中断されるかは種によって大きく異なっているため、卵成熟という言葉はそれぞれの種で、卵核胞の時期から正常な受精が成立する段階に至る過程を指すことになっている。

ヒトデ *Asterias amurensis* の卵成熟は、中枢神経系 (神経環、放射神経) に含まれる生殖巣刺激物質 (gonad-stimulating substance, GSSと略称) によって支配されている。ヒトデの卵巣片を神経の抽出液 (粗 GSS) で処理すると、1時間後には卵核胞が消失した卵が卵巣片から放出される。*A. amurensis* の放射神経から抽出・精製された GSS は、分子量が2000あまりのペプチドであることが明らかにされた⁽¹⁹⁾。このホルモンをイトマキヒトデ *Asterina pectinifera* の卵に与えても成熟を誘起させることはできないが、GSSを含む海水中に *A. amurensis* の卵巣を入れて1~2時間インキュベートしたあと、卵巣や放出された卵を取り除いて残る海水を集め、これを *A. pectinifera* の遊離卵に与えると、これらの卵はすべて成熟する。したがって、GSSは卵巣に作用して卵成熟を誘起させる物質 (卵成熟誘起物質, maturation-

第 1 表 精子の貫入がおこる時点での卵核の状態

卵核の状態	種
第 1 減数分裂前期 (卵核胞期)	ゴカイ (<i>Nereis diversicolor</i>) ウバガイ (<i>Spisula solidissima</i>) スルメイカ (<i>Todarodes pacificus</i>) クモヒトデ (<i>Amphipholis squamata</i>)
第 1 減数分裂中期	ツバサゴカイ (<i>Chaetopterus pergamentaceus</i>) イサゴムシ (<i>Pectinaria gouldi</i>) ムラサキガイ (<i>Mytilus edulis</i>) カイコ (<i>Bombyx mori</i>) などの多くの昆虫 ユウレイボヤ (<i>Ciona intestinalis</i>) など多くのホヤ イヌ キツネ
第 2 減数分裂中期	ナメクジウオ (<i>Branchiostoma belcheri</i>) アフリカツメガエル (<i>Xenopus laevis</i>) などカエル一般 ヒトなど多くの哺乳類
第 2 減数分裂完了期 (雌性前核期)	ムラサキウニ (<i>Anthocardia crassispina</i>) などウニ一般 カギノテクラゲ (<i>Gonionemus murbachii</i>)

ヒトデ (*Asterias amurensis*) などヒトデ類は卵核胞の崩壊が始まると途中で中断されないで、第 2 極体を形成するまで成熟が進行するが、第 1 極体を形成する前後で受精した場合が、最も正常発生をする割合が多くなる。

tion-inducing substance, MIS と略称) を新たに生成させるものと考えられる^(20,21)。金谷らは MIS を精製・単離し、これが 1-メチルアデニン (1-MA) にほかならない (第 5 図, 第 9 図) ことを示した⁽²²⁾。*A. pectinifera* の卵は濾胞細胞によってとり囲まれている (第 9 図) が、これらの濾胞細胞を集めて GSS を与えると 1-MA が生成されてくる⁽²³⁾。したがって GSS は、神経から分泌され、卵巣壁を通過し、濾胞細胞に作用して 1-MA を合成させる役割を果たしていることになる。

1-MA を卵内に注入しても卵は成熟しないので、1-MA は卵の外側から作用することがあきらかにされた⁽²⁴⁾。岸本と金谷⁽²⁵⁾はこの実験からさらに 1 歩すすめて、1-MA で処理することによって卵成熟が進行しつつある卵の細胞質を抜きとり、未成熟卵内に注入したところ卵が成熟することを明らかにした。こうして成熟を始めた卵の細胞質を再び別の未成熟卵内に注射していくという操作を繰返しても成熟誘起活性を保っていく。したがって、この未同定の細胞質因子は未成熟卵の細胞質内にあ

第 9 図 イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) の卵成熟

1. 未成熟卵, gv は卵核胞, fc は濾胞細胞層を示す。スケールの長さは 20 μm 。2. 1-メチルアデニン ($3 \times 10^{-7}\text{M}$) を加えて 30 分経ったときの卵。3. 1-メチルアデニンを加えて 1 時間経ったときの卵。pb は第 1 極体を示す。倍率は 1, 2, 3 と同じ (池上原図)。

らに自分と同じ分子をつくりだす触媒的な作用をもっているわけである。

前に述べたとおり、ヒトデ卵は濾胞細胞によってとり囲まれている。*A. pectinifera* は例外として *A. amurensis* など、ヒトデの多くの種において、卵が濾胞細胞によってとり囲まれた状態で海水中に切り出されると GSS を加えなくても卵の成熟がおこる。これは“自然成熟”と呼ばれる現象であるが、卵巣内の卵は卵核胞をもった状態にとどまっているので、卵巣中には“自然成熟”を抑えている“液性”の因子が存在すると考えられる⁽²⁶⁻²⁸⁾。池上ら^(29,30)は、*A. amurensis* の卵巣抽出液からこの因子を精製・単離して、それがアステロサポニン A・B と呼ばれる 1 群のステロイド・グリコシド (第 5 図) であ

ることを明らかにした^{*}。 *A. amurensis* の卵から濾胞細胞をはがして集め、これを海水中に入れておくと GSS を加えないでも相当量の 1-MA が生成されてくる⁽³⁴⁾。これが卵に“自然成熟”をひきおこす原因であると考えられるが、そこにアステロサポニンを加えると 1-MA の生成は抑制される。さらに GSS を加えると、アステロサポニンによる抑制効果は解除され 1-MA が合成されてくる。高い濃度のアステロサポニンを卵に与えても、最小有効量の 1-MA を加えることによって卵成熟が進行するのでアステロサポニンが直接、卵に作用して 1-MA の卵成熟誘起活性を抑えることは認められない^(28,30)。このように、ヒトデの卵巣中で濾胞細胞はもともと 1-MA を生成する能力を持っているのであるが、アステロサポニンが存在するために充分な量の 1-MA を合成することができない状態にあり、卵は未成熟の状態にとどまっている。GSS が濾胞細胞に到達するとアステロサポニンの抑制効果が克服されて 1-MA が生じ、1-MA が直接、卵表層に作用して卵成熟が開始することになるわけである (第 10 図)。 *A. pectinifera* の場合には、“自然成熟”がおこることはまれなので、*A. amurensis* の場合と異なり、“液性”の 1-MA 生成抑制因子が濾胞細胞周辺に存在しているようには思われない。あえて卵巣の海水抽出液を GSS とともに卵巣片に与えると、GSS による放卵と卵の成熟誘起作用は抑制されることが認められるが、この作用を担う卵巣因子は L-グルタミン酸であることがわかった^(35,36)。L-グルタミン酸は、1-MA の放卵・卵成熟誘起作用に対しては全く抑制作用を示さないの

で、グルタミン酸は *A. pectinifera* の GSS がもつ 1-MA 生成誘導作用を特異的に阻害する効果をもっていることがわかる⁽¹²⁾。

ヒトデの卵巣片を 1-MA で処理すると卵は成熟しつつ卵巣片から放出されるので、1-MA が最終的に放卵を誘起する因子であることは疑う余地のないところであるが、卵成熟が誘導されれば不可避免的に卵が放出されるのかどうかという点についてははっきりしない。1-MA で *A. amurensis* の卵巣片を処理する際に、アステロサポニン A を加えておくと卵巣片内で卵は成熟するが、放卵されないまましばらく卵巣中にとどまる。このような処理を受けた卵巣片にアセチルコリンを与えると、直ちにいちじるしい放卵がおこるので 1-MA は卵に作用するだけではなく、卵巣内の神経細胞に作用してアセチルコリンを放出させる作用があり、アステロサポニン A は 1-MA による卵成熟誘起作用を抑えず神経細胞からアセチルコリンを放出させる作用を抑えている可能性が考えられる⁽³⁷⁾。

ホソイカリナマコ *Leptosynapta inhaerens* の卵巣片を 1-MA で処理すると直ちに卵巣片が収縮して精子や成熟卵が放出されるが、1-MA には卵の成熟を誘起させる作用はない⁽³⁸⁾。したがって棘皮動物では、1-MA は 2 つの異なる機能、卵の成熟を促す作用と、生殖巣内の神経細胞に作用してアセチルコリンを放出させ結果的に生殖巣が収縮し卵や精子の放出を誘導する作用を合せ持つわけである。

カエルでは、脳下垂体の生殖腺刺激ホルモンが卵成熟と排卵を誘起する。濾胞細胞がついたままの卵母細胞を卵巣から取り出して生殖腺刺激ホルモンで処理すると、卵成熟がおこる^(39,40)。しかし、あらかじめ濾胞細胞を取り除いた“はだか”の卵母細胞はこのホルモンに反応しない。したがって、カエルの場合もヒトデと同様にホルモンが濾胞細胞に作用して卵成熟誘起物質を生成し、これが直接卵母細胞に作用して成熟を誘起するものと考えられる。カエル *Rana pipiens* や *Xenopus laevis* では、濾胞細胞を除去した卵にプロジェステン (第 5 図) 等の 1 群のステロイドが良く成熟を誘導する^(41~43) ので、生殖腺刺激ホルモンは濾胞細胞にプロジェステロンまたはその類似物質を生成させるものと思われる。プロジェステロンはヒトデにおける 1-MA と同様、卵表に作用するものであり、これを卵母細胞内に注射しても卵核の崩壊はみられない。一方、あらかじめプロジェステロ

第 10 図 ヒトデの卵成熟機構

第 11 図 カエルの卵成熟機構

MPFが生成されてくる⁽⁴⁴⁾ので、卵核胞は MPF 生成に関与しないと考えられる。ヒトデの細胞質因子と同様 MPF は未成熟卵の細胞質に与えると再び MPF を生成させることができる(第 11 図)^(44,47)。Wasserman と Masui⁽⁴⁸⁾ は、プロジェステロンで処理した *X. laevis* の卵を軽く遠心して上澄を集め、これを 10~20% のショ糖密度勾配法による遠心で分画して MPF 活性を有するフラクション, 32S, 15S, 4S 分画を得た。これらの活性はプロテアーゼ処理で失われるが、リボヌクレアーゼでは失活されないで、タンパク質であろうと考えられている。

成体になったカエルの脳細胞から休止期にある核を取り出して未成熟卵の中に注入しても、染色体の凝集はおこらないが、成熟した卵内に注入すると凝集をはじめ、分裂中期の像がみられるようになる^(49,50)。この場合は減数分裂の像ではなく、通常の DNA 合成を伴う有糸分裂が行なわれているのである。染色体の凝集を誘導する因子は成熟卵の動物極側に、DNA の倍化を誘導する因子は植物極側に局在しているという。染色体の凝集を誘導する活性因子は、あらかじめ卵核胞をとり除いて成熟させた卵の細胞質には認められないので、前述の MPF とは異なった作用であると考えられる。

カエル卵では MPF によって第 2 減数分裂の中期まで成熟が進むが、そこで分裂は休止する。さらに第 2 極体を放出して減数分裂が完了するためには卵が受精する必要がある(第 1 表)。プロジェステロンで処理して成熟が

進行している卵の細胞質を、受精して卵割がおこり 2 細胞期に達した卵の片方の割球内に注入すると、その細胞分裂も中期で停止する。未成熟卵の細胞質には、このような細胞分裂抑制活性は認められない。また、受精した卵の細胞質を注入しても卵割を停止しないので、この細胞分裂阻止因子(cytostatic factor, CSF と略称)は、卵成熟によって細胞質中に新たに生成され、受精することによって消失することが明らかにされた^(44,51)。この因子は高分子で熱に弱く、リボヌクレアーゼ処理で失活するがプロテアーゼには抵抗するので、一種の RNA であろうと考えられる⁽⁵¹⁾。

カエル成熟卵の細胞質中に存在する諸因子(MPF, 染色体凝集因子, DNA 合成誘起因子, CSF)の作用と消長に関する増井らの一連の研究は、細胞がどのようなしくみで分裂を開始し停止するのかを問うたものであり、細胞学の基本問題に深くかかわった注目すべき研究成果であるといえよう。

われわれは、これまでヒトデとカエルで、濾胞細胞が卵に重要な影響(卵成熟誘起物質の生産と分泌)をおよぼすことを概観したのであるが、ここで哺乳類の場合に、濾胞細胞(granulosa cell と呼ばれる)が果たす役割について簡単に触れておこう。

脳下垂体前葉から分泌される黄体形成ホルモン(luteinizing hormone, LH と略称)がなんらかの形で卵に成熟を促し、卵巣から輸卵管へと排卵されるために必要なホルモンであることは古くから知られている⁽⁵²⁾。LH が脳下垂体から分泌されるのは、視床下部正中隆起部域から分泌される黄体形成ホルモン放出因子(LH-RF と略称)(第 5 図)によって支配されている⁽⁵³⁾。しかし、ハツカネズミの濾胞から卵細胞を抜きとって、Krebs-Ringer 液中で培養すると、LH などの特殊な誘導物質が存在しない状態で成熟し、第 2 減数分裂中期に達する⁽⁵⁴⁾。この場合、培養液中にエネルギー源としてピルビン酸やオキサロ酢酸を入れておくことが必要であるが、乳酸、フォスホエノールピルビン酸やグルコースでも、その培養器のなかに濾胞細胞を加えておくかぎり共存する卵母細胞は成熟するので、濾胞細胞は卵に適切なエネルギー源(ピルビン酸など)を供給する役割を果たしているように思われる。濾胞細胞がグルコースからピルビン酸に変換する速度は LH に依存しておらず、LH が培養液中に存在しなくても、この代謝はスムーズに進行する⁽⁵⁵⁾。

濾胞細胞(特に卵をとりまく部分を卵丘と呼ぶ)から

卵をとり出すだけで卵は成熟し、受精可能になるのであるから、古くから濾胞には卵の“自然成熟”を抑制する物質が存在しているのではないかと考えられていた⁽⁵⁶⁾。最近、Gwatkin と Andersen⁽⁵⁷⁾は、ハムスター卵を培養する際に、卵丘や濾胞液をいっしょに加えておくことと卵の“自然成熟”が完全に抑制され、そこに LH を加えると抑制が解除されることを認めた。この抑制因子は熱に弱い低分子のペプチドであり、ウシの濾胞液もハムスター卵に有効であるという。それゆえ、卵は卵巣内で“液性”の卵成熟抑制因子にとりかこまれており、脳下垂体前葉から分泌された LH が到達すると、その抑制が克服されて卵成熟が開始され排卵されるようになると考えられる。他方、濾胞細胞を、卵を取り除いた状態で培養するといわゆる黄体化をおこし、妊娠状態の維持に不可欠な黄体ホルモン、プロジェステロンが合成されてくる⁽⁵⁸⁾。ネズミの濾胞細胞を、卵母細胞を含んだままの状態で培養するとこのような黄体化は抑えられる^(59,60)ので、卵母細胞はおそらく黄体形成阻害物質を分泌して濾胞細胞の機能発現を抑えているのであろうと考えられる。LH が卵に作用して成熟を促し、排卵されてしまえば卵による阻害効果が失われ、濾胞細胞は“自然に”黄体化するのであるから LH は黄体形成ホルモンと呼ぶよりも、むしろ卵成熟誘起物質と呼ぶ方が正しいのかも知れない(第 12 図)。

哺乳類でみられるように、特定の誘導物質の助けを借りないで“自然成熟”をおこすことのできる卵は海産無脊椎動物でも広く知られている。たとえばツバサゴカイ

Chaetopterus pergamentaceus の卵母細胞は疋足の中にあるときは卵核胞の状態にとどまっているが、卵を自然海水中に切り出すと、成熟して第 1 減数分裂中期に達し、受精できる状態になる⁽⁶¹⁾。カルシウム欠如海水中ではこのような“自然成熟”は見られないが、細胞内の“遊離”カルシウムイオン濃度を高める試薬、テトラカインで処理すると、卵はカルシウム欠如海水中にあってでも成熟する⁽⁶²⁾。他方、“自然成熟”をおこさないカエル *X. laevis* の卵でも細胞膜の 2 価イオンの透過性を増大させる抗生物質、イオノフォア A-23187 とカルシウムを同時に与えると卵は正常に成熟する⁽⁶³⁾。同様に、ウバガイ *Spisula solidissima* の卵もカルシウムイオンが海水中に存在する場合に限り、イオノフォア A-23187 によって卵核胞が崩壊する⁽⁶⁴⁾。しかしながら、卵内に“遊離”カルシウムイオンが増せばどの種でも卵成熟がおこるというわけではなく、ヒトデ *Patiria miniata* の卵母細胞に電極を差しこみ、脱分極化させるようにパルス電流を流して卵の外からカルシウムイオンを流入させる処理を加えても卵成熟は認められない⁽⁶⁵⁾。

通常は 1-MA によって成熟するヒトデ *A. pectinifera* の卵は、DTT(dithiothreitol)や BAL(2,3-dimercapto-1-propanol) のような SH 化剤によっても成熟を促すことができる。逆に、SH 阻害剤である PCMB(*p*-chloromercuribenzoate)、ヨードアセトアミド、*N*-エチルマレイミドなどは 1-MA による卵成熟を阻害する。これらの薬物による阻害効果は可逆的であり、あとで DTT や BAL で処理することによって卵の成熟を誘導することができる⁽⁶⁶⁾。したがって、卵表における SS-SH 交換反応が卵成熟にとって重要であり、1-MA もこうした系に直接または間接にはたらく可能性が考えられている。しかしながら、PCMB はカエル *X. laevis* 卵の成熟を抑えないで、あたかもプロジェステロンのように卵成熟を誘起する⁽⁶⁷⁾し、SH 化剤 DTT をハツカネズミの卵母細胞に与えると、cyclic AMP 誘導体 (N^6, O^2 -di-butyladenosine-3', 5'-cyclic monophosphate) の存在下、“自然成熟”をむしろ抑制するようにはたらくことが報告されている⁽⁶⁸⁾ので、種のちがいを越えて卵成熟過程を統一的な共通原理で説明することのできる現状ではない。このために、卵表層の細胞学的、化学的特性がそれぞれの卵でさらに深く追求されなければならないし、また今日、幾人かの研究者によってそうした努力が注がれているのである。

第 12 図 哺乳類の卵成熟機構

第 2 表 卵形成にかかわる作用物質

作 用 物 質	所 在	性 質	文 献
生殖細胞決定因子	極顆粒 (ショウジョウバエ極細胞)	不詳 (RNA?)	(6)
	生殖質 (カエル受精卵)	不詳 (RNA?)	(3)
始原生殖細胞誘引物質	生殖隆起 (鳥, 哺乳類胚)	不 詳	(7, 8, 9)
減数分裂誘起物質	卵巢皮質 (鳥, ハツカネズミ胚)	不 詳	(11, 13)
濾胞刺激ホルモン (FSH)	脳下垂体前葉 (哺乳類)	糖タンパク質	(69)
ビテロゲン形成誘起物質	アラタ体 (ゴキブリ)	幼若ホルモン	(18)
	卵巢 (蚊)	エクダイソン	(17)
	卵巢 (カエル)	エストラジオール-17 β	(14)
卵成熟誘起物質形成誘導物質	放射神経 (ヒトデ)	ペプチド	(19)
	脳下垂体 (カエル)	糖タンパク質 (LH)	(40)
卵成熟誘起物質形成阻害物質	卵巢 (ヒトデ)	アステロサポニン	(29, 30)
卵成熟誘起物質	濾胞細胞 (ヒトデ)	1-メチルアデニン	(22)
	濾胞細胞 (カエル)	プロジェステロン	(41, 42, 43)
	脳下垂体前葉 (哺乳類)	LH	(57)
卵成熟阻害物質	卵丘, 濾胞液 (ハムスター)	ペプチド	(57)
黄体形成ホルモン (LH)	脳下垂体前葉, (哺乳類, カエル)	糖タンパク質	(69)
黄体形成阻害物質	卵 (哺乳類)	不 詳	(59, 60)
細胞質卵成熟促進因子	成熟中の卵細胞質 (ヒトデ)	不 詳	(25)
	成熟中の卵細胞質 (カエル)	タンパク質	(48)
染色体凝集誘導因子	成熟卵細胞質 (カエル)	不 詳	(50)
DNA 合成誘導因子	成熟卵, 受精卵細胞質 (カエル)	不 詳	(49)
細胞分裂阻止因子	成熟卵細胞質 (カエル)	RNA	(51)

卵形成の問題が農芸化学とどのような関わりあいがあるのか、とまどわれる方もあろう。しかし、農芸化学研究の目的とするものが、人間生活を支える食糧や栄養の諸問題、生物生産の機能にかかわるものであるならば、次の世代の正常な発生に深く思いを及ぼさなければならぬ。卵形成は有性生殖で世代の交番を遂げる生物では個体発生の出発点であり、最も基本的な生命の営みの1つであることは広く知られていることである。この多彩な細胞分化のさまざまな局面で、異なる細胞間での、あるいは細胞内部での制御のしくみがあきらかにされつつある(第2表)ことは小文に述べたとおりであるが、それらの多くについて、いまだ化学的な解析が充分に進んでいるとはいいがたいものがある。生体の構造変化が生化学的反応の新しい組合わせによって生じ、新しい構造はさらに機能の変化をひきおこすものであるから、従来、巨視的、微視的な解剖学、細胞形態学、色彩の濃いこの研究領域にも、適切な生化学、生物有機化学的研究手法の導入が望まれるところである。

* (R 236 頁左 8 行) 12日胚の卵巢中にある卵はすべて卵原細胞である。ニワトリでは1対の卵巢のうち、左側の卵巢だけが正常な機能を営むようになるが、右側の卵巢は後に退化する。

* (R 240 頁左 1 行) アステロサポニン A・B は当初 C₂₂

H₃₄O₃ のアグリコンをもつグリコンドと定義されていた⁽⁸¹⁾が、その後の研究により、このような分子がヒトデのサポニン中に存在しないことがわかった^(82,83)ので、一般にヒトデから得られるステロイドグリコンドをアステロサポニンと総称することとした。

- (1) F. J. Longo and E. Anderson: In "Concepts of Development," ed. by J. Lash and J. R. Whittaker, Sinauer Associates, Stanford, Connecticut, 1974, p.3.
- (2) L. Bounoure: "L'Origine des Cellules Reproductrices et le Problème de la Lignée Germinale," Gauthier-Villars, Paris, 1939.
- (3) L. D. Smith: *Develop. Biol.*, **14**, 330 (1966).
- (4) A. W. Blackler and M. Fishberg: *J. Embryol. expil. Morphol.*, **9**, 634 (1961).
- (5) A. W. Blackler: *Curr. Topics Develop. Biol.*, **5**, 71 (1970).
- (6) K. Iilmensee and A. P. Mahowald: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **71**, 1016 (1974).
- (7) D. Simon: *Archs Anat. microsc. Morph. exp.*, **49**, 93 (1960).
- (8) R. Dubois: *J. Embryol. expil. Morphol.*, **20**, 189 (1968).
- (9) T. Rogulska, W. Ożdżeński and A. Komar: *ibid.*, **25**, 155 (1971).
- (10) L. C. Stevens: *Adv. Morphogenesis*, **6**, 1 (1967).
- (11) G. F. Erickson: *Develop. Biol.*, **36**, 113 (1974).

- (12) 池上 晋, 未発表.
- (13) A. Byskov, 私信.
- (14) R. A. Wallace and E. W. Bergink : *Amer. Zool.*, **14**, 1159 (1974).
- (15) R. A. Wallace, D. W. Jared and B. L. Nelson : *J. Exptl. Zool.*, **175**, 259 (1970).
- (16) R. A. Wallace and D. W. Jared : *Develop. Biol.*, **19**, 498 (1969).
- (17) H. H. Hagedorn, J. D. O'Connor, M. S. Fuchs, B. Sage, D. A. Schlaeger and M. K. Bohm : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **72**, 3255 (1975).
- (18) F. Engelmann : *Amer. Zool.*, **14**, 1195 (1974).
- (19) H. Kanatani, S. Ikegami, H. Shirai, H. Oide and S. Tamura : *Develop. Growth Differ.*, **13**, 151 (1971).
- (20) A. W. Schuetz and J. D. Biggers : *Exptl. Cell Res.*, **46**, 624 (1967).
- (21) H. Kanatani and H. Shirai : *Nature*, **216**, 284 (1967).
- (22) H. Kanatani, H. Shirai, K. Nakanishi and T. Kurokawa : *ibid.*, **221**, 273 (1969).
- (23) S. Hirai, K. Chida and H. Kanatani : *Develop. Growth Differ.*, **15**, 21 (1973).
- (24) H. Kanatani and Y. Hiramoto : *Exptl. Cell Res.*, **61**, 280 (1970).
- (25) T. Kishimoto and H. Kanatani : *Nature*, **260**, 321 (1976).
- (26) L. V. Heilbrunn, A. B. Chaet, A. Dunn and W. L. Wilson : *Biol. Bull.*, **106**, 158 (1954).
- (27) 金谷晴夫, 大栗美和子 : 動物学雑誌, **79**, 58 (1970).
- (28) S. Ikegami and S. Tamura : *Experientia*, **29**, 325 (1973).
- (29) 池上 晋, 神谷勇治, 田村三郎 : 動物学雑誌, **82**, 368 (1973).
- (30) S. Ikegami, Y. Kamiya and H. Shirai : *Exptl. Cell Res.*, In press.
- (31) T. Yasumoto and Y. Hashimoto : *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 368 (1967).
- (32) S. Ikegami, Y. Kamiya and S. Tamura : *ibid.*, **36**, 1777 (1972).
- (33) *idem* : *Tetrahedron*, **29**, 1807 (1973).
- (34) H. Shirai : *Exptl. Cell Res.*, **87**, 31 (1974).
- (35) S. Ikegami, S. Tamura and H. Kanatani : *Science*, **158**, 1052 (1967).
- (36) S. Ikegami and S. Tamura : *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 1899 (1972).
- (37) S. Ikegami : *J. Exptl. Zool.*, In press.
- (38) S. Ikegami, H. Kanatani and S. S. Koide : *Biol. Bull.*, **150**, 402 (1976).
- (39) L. V. Heilbrunn, K. Daugherty and K. M. Wilbur : *Physiol. Zool.*, **12**, 97 (1939).
- (40) A. C. J. Bergers and C. H. Li : *Endocrinol.*, **66**, 255 (1960).
- (41) A. W. Schuetz : *J. Exptl. Zool.*, **166**, 347 (1967).
- (42) L. D. Smith, R. E. Ecker and S. Subtelny : *Develop. Biol.*, **17**, 627 (1968).
- (43) Y. Masui : *J. Exptl. Zool.*, **166**, 365 (1967).
- (44) Y. Masui and C. L. Markert : *ibid.*, **177**, 129 (1971).
- (45) L. D. Smith and R. E. Ecker : *Develop. Biol.*, **25**, 233 (1971).
- (46) Y. Masui : *J. Exptl. Zool.*, **179**, 365 (1972).
- (47) W. J. Wasserman and Y. Masui : *Exptl. Cell Res.*, **91**, 381 (1975).
- (48) *idem* : *Science*, **191**, 1266 (1976).
- (49) J. B. Gurdon : *J. Embryol. exptl. Morphol.*, **20**, 401 (1968).
- (50) D. Ziegler and Y. Masui : *Develop. Biol.*, **35**, 283 (1973).
- (51) Y. Masui : *J. Exptl. Zool.*, **187**, 141 (1974).
- (52) J. W. Everett : In "Sex and Internal Secretions," Vol. I, 3rd Ed., ed. by W. C. Young, Williams and Wilkins, Baltimore, 1961, p. 497.
- (53) H. Matsuo, Y. Baba, R. M. G. Nair, A. Arimura and A. V. Schally : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **43**, 1334 (1971).
- (54) J. D. Biggers, D. G. Whittingham and R. P. Donahue : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **58**, 560 (1967).
- (55) R. P. Donahue and S. Stern : *J. Reprod. Fert.*, **17**, 395 (1968).
- (56) G. Pincus and E. V. Enzmann : *J. Exptl. Med.*, **62**, 665 (1935).
- (57) R. B. L. Gwatkin and O. F. Andersen : *Life Sciences*, **19**, 527 (1976).
- (58) C. P. Channing : *Nature*, **210**, 1266 (1966).
- (59) M. A. El-Fouly, B. Cook, M. Nekola and A. V. Nalbandov : *Endocrinol.*, **87**, 288 (1970).
- (60) M. V. Nekola and A. V. Nalbandov : *Biol. Reprod.*, **4**, 154 (1971).
- (61) S. Ikegami, T. S. Okada and S. S. Koide : *Biol. Bull.*, **149**, 430 (1975).
- (62) *idem* : *Develop. Growth Differ.*, **18**, 33 (1976).
- (63) W. J. Wasserman and Y. Masui : *J. Exptl. Zool.*, **193**, 369 (1975).
- (64) A. W. Schuetz : *ibid.*, **191**, 433 (1975).
- (65) S. Shen and R. A. Steinhardt : *Develop. Biol.*, **48**, 148 (1976).
- (66) T. Kishimoto and H. Kanatani : *Exptl. Cell Res.*, **82**, 296 (1973).
- (67) J. Brachet, E. Baltus, A. De Schutter-Pays, J. Hanocq-Quertier, E. Hubert and G. Steinert : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **72**, 1574 (1975).
- (68) P. M. Wassarman and P. E. Turner : *J. Exptl. Zool.*, **196**, 183 (1976).
- (69) R. O. Greep : In "Sex and Internal Secretions," Vol. I, 3rd Ed., ed. by W. C. Young, Williams and Wilkins, Baltimore, 1961, p. 240.

(昭和 51 年 11 月 1 日受理)