II-2. 水産重要魚種における配偶子形成の内分泌機構 —サバ等—

松 山 倫 也

九州大学大学院農学研究院

II-2. Endocrinological regulation of gonadal maturation in chub mackerel etc.

MICHIYA MATSUYAMA

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Fukuoka 812-8581, Japan

1. はじめに

温帯域に生息する多くの海産魚は産卵期に繰り返し産卵を行い、それらの卵巣内には種々の発達段階の卵母細胞が同時に存在する。本稿では、多回産卵を行う海産の重要種の中でも、これまで研究対象として取り上げられることの少なかった回遊魚の一つとしてマサバを取り上げ、我々が行った研究を中心に、その配偶子形成の内分泌機構に関する情報を提供する。マサバは近年高級活魚として西日本各地で蓄養されており、親魚の購入と飼育が比較的容易なことから併せ、実験動物としても優れた特質をもつ。

2. 飼育下におけるマサバの産卵

飼育下のマサバ雌では卵黄形成は進行するが、卵成熟のための生殖腺刺激ホルモン（GTH）放出が起こらないため、産卵しない。^{1,2)} 卵径 600 μm 以上の卵黄形成が完了した卵をもつ複数の雌を選別し、合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH α ）を投与し雄とともに飼育すると1ヵ月以上にわたり産卵が継続する。³⁾ 産卵適水温は17~23°Cで、北部九州では4月下旬~6月中旬に当たる。産卵活動中の雌では、卵成熟と吸水が日中から夕刻にかけて進行し、深夜23:00を中心とした数時間の間に排卵とそれに続く産卵が起こる。³⁾ 雌親魚と採集された受精卵のミトコンドリアDNAのD-loop領域の塩基配列を調べ、塩基置換情報に基づいた母子判定を行った結果、マサバは連日産卵が可能であり、産卵期間を通じ1個体は平均1回/2日の産卵を行っていることが明らかとなった（未発表）。

3. マサバのGnRH

HPLCとRIAによる解析により、マサバは脳内にsbGnRH（タイ型）、cGnRH II（ニワトリII型）およびsGnRH（サケ型）の3種のGnRH分子種をもつことが明らかとなった。特異抗体による免疫組織化学を行った結果、それぞれの陽性細胞が視索前野と視床下部（sbGnRH）、中脳被蓋（cGnRH II）、終神経節と嗅球

（sGnRH）に存在し、sbGnRH陽性の細胞体から脳下垂体へ投射する神経軸索がみられたことから、マサバではsbGnRHがGTHの放出制御に関わっていることが示唆された（Selbaraj *et al.*, 投稿中）。

4. マサバのGTH

マサバの2種のGTH（濾胞刺激ホルモン、FSH；黄体形成ホルモン、LH）は、脳下垂体の前葉主部を中心とした領域に分布するそれぞれ別の細胞により産生される。³⁾ 2種GTHの機能を明らかにするために、マサバの脳下垂体より抽出、精製したFSHとLHを用いて、各種発達段階にある卵濾胞に対する*in vitro*ステロイド産生能を比較した。FSHおよびLHともに、卵黄形成初期、卵黄形成期および卵黄形成終了期の卵に対してestradiol-17 β （E2）量を濃度依存的に上昇させる傾向にあり、その産生量はほぼ同等であったことから、本種のFSHとLHはともにE2産生能をもつことが明らかとなった。一方、LHはFSHに比べ、卵黄形成終了期の卵濾胞に対して17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one（17,20 β -P）の極めて高い産生能を示した。17,20 β -Pは本種の卵成熟誘起ホルモン（MIH）である（後述）。したがって、本種の卵成熟はLHにより制御されていることが示唆された（未発表）。

5. GTH受容体による制御

マサバの卵巣卵発達様式は非同期発達型で、卵巣内に卵黄形成と卵成熟がそれぞれ同時に進行する卵群をもつ。非同期発達型の卵巣卵発達におけるGTH制御機構を調べるために、明確な卵形成の日周りリズムをもつホシササノハベラ⁴⁾を用いて、卵濾胞における2種GTH受容体（FSHRおよびLHR）mRNAの発現量をReal-time PCRにより調べた。その結果、卵黄形成前期の卵濾胞で高く発現していた*fshr*量は卵黄形成後期では低下した。一方、*lhr*の発現量は卵黄形成前期の卵濾胞では低かったが、卵黄形成後期および核移動前期で増大した後、核移動後期で急激に減少した。このように、血中

に放出されている2種のGTHと同時に曝露される各種卵濾胞では、発達段階に応じたGTH受容体の発現調節によりGTHの作用が制御されていることが示された。⁵⁾

6. ステロイドホルモンの合成経路と機能

マサバの卵濾胞で合成されるステロイド種を同定し、それらの合成経路を解析した。その結果、卵黄形成期の卵濾胞では17-hydroxyprogesterone (17-P) から testosterone を経て最終的にE2が合成されるとともに、別途11-deoxycortisol (S) が合成された。一方、卵成熟期の卵濾胞ではステロイド代謝酵素であるC17,20-lyaseの活性低下と20 β -HSDの活性上昇によるステロイド合成経路の転換が起こり、17-Pから17,20 β -Pが、Sから17,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (20 β -S) が合成された。*In vitro*における卵成熟誘起能を比較した結果、17,20 β -Pが本種のMIHであると結論付けられた。17,20 β -PはMIHとして機能した後、直ちに5 β -reductaseにより卵成熟誘起能の低い17,20 β -dihydroxy-5 β -pregnan-3-one (17,20 β -P-5 β) へと転換され、非同時発達型卵巣におけるMIHの不活性化機構の存在が示唆された。⁶⁾

7. おわりに

マサバの産卵実験系は高い再現性をもち、目的とする生理状態にある親魚の脳-脳下垂体-生殖腺軸(BPG-axis)の器官や細胞の確実な採取を可能とする。最近、GnRHの制御に機能すると考えられる新規の内分泌因子であるKisspeptinの存在が魚類でも報告されてきた。⁷⁾ マサバやホシササノハペラの飼育実験系は、Kiss-

peptinも含め、多回産卵する海産魚のBPG-axisに沿った配偶子形成の内分泌調節機構解明のためのモデルとして、今後も多くの有益な情報をもたらすものと考えられる。

文 献

- 1) Shiraishi T, Ohta K, Yamaguchi A, Yoda M, Chuda H, Matsuyama M. Reproductive parameters of the chub mackerel *Scomber japonicus* estimated from human chorionic gonadotropin-induced final oocyte maturation and ovulation in captivity. *Fish. Sci.* 2005; **71**: 531-542.
- 2) Shiraishi T, Ketkar SD, Kitano H, Nyuji M, Yamaguchi A, Matsuyama M. Time course of final oocyte maturation and ovulation in chub mackerel *Scomber japonicus* induced by hCG and GnRH. *Fish. Sci.* 2008; **74**: 764-769.
- 3) 松山倫也, 白石哲朗, 入路光雄, 岩谷美穂, 北野 載, 山口明彦. 飼育下におけるマサバの生殖生理. 西海ブロック漁海況研報 2007; **14**: 1-14.
- 4) Matsuyama M, Morita S, Nasu T, Kashiwagi M. Daily spawning and development of sensitivity to gonadotropin and maturation-inducing steroid in the oocytes of the bambooleaf wrasse *Pseudolabrus japonicus*. *Env. Biol. Fish.* 1998; **52**: 281-290.
- 5) Kitano H. Studies on the hormonal regulation in diurnal gametogenesis and sex change in bambooleaf wrasse, *Pseudolabrus sieboldi*. PhD Thesis, Kyushu University, Fukuoka, 2009.
- 6) Matsuyama M, Shiraishi T, Sundaray JK, Rahman MA, Ohta K, Yamaguchi A. Steroidogenesis in ovarian follicles of chub mackerel, *Scomber japonicus*. *Zool. Sci.* 2005; **22**: 101-110.
- 7) Kitahashi T, Ogawa S, Parhar IS. Cloning and Expression of *kiss2* in the Zebrafish and Medaka. *Endocrinology* 2009; **150**: 821-831.