総説

魚類の生殖腺刺激ホルモン

山崎 文雄

(1969年3月17日受理)

The Gonadotropin of Fishes

Fumio YAMAZAKI*

魚類の配偶子形成、排卵、排精の機構を解明し、増養殖、特に種苗の生産に寄与するためには、それらの機構の中心的役割を演じている下垂体の生殖腺刺激ホルモンについて十分な知見が蓄積されなければならない。しかし魚類の生殖腺刺激ホルモンに関しては、近年に至るまで、化学的に純化されたホルモンが得られず、その生理作用も十分明らかにされていない。生殖腺刺激ホルモンの抽出純化は、哺乳類においても近年まで、十分とはいえないが、1959年にスエーデンで Sephadex が開発され、蛋白の純化が質的にも量的にも容易となった。そのため哺乳類の生殖腺刺激ホルモンについては、その純化が急速に進むようになった¹⁻⁶⁾。魚類では FONTAINE et GÉRARD⁷⁾ が初めてコイの下垂体から Sephadex G-100 を用いて生殖腺刺激ホルモンを分画し、その後、CLEMENS⁸⁾ らが同じくコイの下垂体から Sephadex G-75 によつて純化を試みた。引き続いて BRUZAWA-GÉRARD et FONTAINE^{9,10)} がコイから得られた生殖腺刺激ホルモンの生理作用およびその生化学的性質を調べ、さらに、その分子量が 31,000 程度であると報告している。また、YAMAZAKI and DONALDSON¹¹⁾ はマスノスケの下垂体生殖腺刺激ホルモンを Sephadex G-100 および DEAE Cellulose を用いて抽出純化し、その生物学的作用から魚類の生殖腺刺激ホルモンは一種類であると報告している。一方下垂体の電子顕微鏡による細胞学的研究も進んで分泌細胞の活性機構も次第に明らかにされて来た。今後この方面の研究も急速に進展するものと考えられるが、ここではこれまでの研究によつて得られた魚類における生殖腺刺激ホルモンの研究成果を著者の関心に従つて、取りまとめた。

雌魚に対する生理作用

魚の下垂体を雌魚に移殖したり、その懸濁液を筋肉または腹腔中に注射したりすると、早熟的に排卵や産卵を促進することができる。この種の実験は下垂体ホルモンの水産への応用として、アメリカや日本等を中心として各国で盛んに行なわれて来たのであるが^{12,13)}、その示す所は魚類の下垂体中には生殖腺刺激ホルモンがあつて、これは卵巣の成長を促進し、排卵を誘発する作用があるということである。卵巣の成長には卵巣中の卵の数が増加すること、および個々の卵が成長するという二つの要因が考えられる。前者に対しては一般に魚体の栄養が強く関与しており¹⁴⁾、内分泌学的に重要でしかも、卵巣重量変化に大きく影響を与えるのは卵巣卵個々の成長で、下垂体はこの成長に大きく影響を与えている¹⁵⁾。卵巣卵の成長が下垂体の生殖腺刺激ホルモンに依存している事実は、下垂体を摘出すると卵巣卵の成長が阻止されるという実験結果からも理解できる。ハゼ¹⁶⁾、キンギョ^{17,18)}、カレイ¹⁹⁾等で行なわれた雌魚に対する下垂体摘出の影響を見ると、いずれの場合も結果は一致して、卵黄を有するいわゆる第二次成長期の卵だけが崩壊吸収され、第一次成

* 北海道大学水産学部発生学遺伝学講座 (Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan)

長期の無卵黄卵は、下垂体摘出後も何ら影響されることがない。この事実は、下垂体の生殖腺刺激ホルモンが卵巣卵の成長の内の第二次成長いわゆる卵黄形成に特異的に作用することを示している。

一方排卵に対する下垂体摘出の影響をみると、排卵直前と考えられる個体に対しては影響を与えず、下垂体摘出後も正常な排卵の起る場合があるが、一般には卵黄形成が終了し、腹部の膨出した個体で下垂体を摘出すると完全に排卵は抑制される^{16,18,20)}。しかも、下垂体摘出によつて排卵の抑制された個体に下垂体懸濁液や胎盤性生殖腺刺激ホルモン (HCG) 等を腹腔内に注射すると排卵が誘発される^{16,18)}。この事実から成熟の最終段階ともいふべき排卵現象も下垂体の生殖腺刺激ホルモンに依存していることがわかる。

排卵によつて卵巣腔または体腔中に遊離した完熟卵は種に特有な産卵行動によつて体外に排出され受精する。この産卵行動に対して下垂体生殖腺刺激ホルモンが、どのように関与しているのであろうか。BARR¹⁹⁾は、カレイの下垂体を摘出すると産卵行動が抑制されることを確め、産卵行動にも下垂体ホルモンが関与することを示唆している。しかし YAMAZAKI^{18,20)} がキンギョで行なつた実験では、下垂体摘出後少なくとも3時間以内であれば全く正常な産卵行動を繰り返し、卵巣腔内の卵をほとんど完全に水草に産みつける。また、下垂体摘出後4日間経過した個体でも HCG によつて排卵を誘発された個体は、注射翌日に雄魚と一緒にすると産卵する。HCG や魚類の下垂体から抽出された生殖腺刺激ホルモンは未熟な個体に注射しても産卵行動を誘発することはない。これらの事実は下垂体の生殖腺刺激ホルモンは、直接には産卵に関与しないことを示している。したがつて雌魚に対する下垂体の生殖腺刺激ホルモンは卵巣に直接作用して卵の第二次成長を促進し、さらに排卵を誘発する二つの大きな作用があり、産卵行動に対しては直接関与していないと結論できる。魚類の卵巣には Estradiol-17 β , Estrone, Estriol 等の発情ホルモンおよび Progesterone 等の性ステロイドが存在することはよく知られている²¹⁾。これらの性ステロイドの生物学的意味は明らかではないが、下垂体の生殖腺刺激ホルモンが、これらのホルモンの分泌調節を行なっている可能性は強いだろう。性ステロイドは一部の内荏膜細胞^{22,23)}や顆粒膜細胞²⁴⁾で生産されるといわれているが、卵をとりまくこれらの沱胞細胞層の活性と下垂体生殖腺刺激ホルモンの関係は今後の興味深い研究課題と思われる。YAMAZAKI^{18,25)}は卵黄形成期に顆粒膜細胞は肥大し、顆粒膜細胞層中に分裂中の細胞が多数観察され、下垂体を摘出すると直ちに分裂が停止して細胞の縮小、一部には崩壊の現われることをみている。TAKANO²⁶⁾もグッピーで卵黄形成に伴う顆粒膜細胞の変化を観察してキンギョと同様に細胞の肥大と分裂増殖の起こることをみている。これらの観察は下垂体生殖腺刺激ホルモンが、卵細胞の卵黄形成を刺激促進する際に顆粒膜細胞がその機構内にあつて重要な機能を演じていることを暗示しているといえよう。

排卵の際にも顆粒膜細胞および内外荏膜を含む沱胞層に顕著な形態的变化の現われることがキンギョで知られている²⁷⁾。この排卵時の沱胞層の変化について、山本²³⁾が詳しく述べているが、顆粒膜細胞と卵との間に見られる絨毛連絡が消失し、両者の間に隙間ができて、そこに体液がたまつて卵と細胞がお互いの接着をゆるめること、および顆粒膜細胞と内荏膜、外荏膜細胞の間にも同様の体液がたまつて各層の細胞がお互いの接着をゆるめることの二つの大きな変化をあげることができる。このように卵とそれを取り囲む沱胞との接着が著しくゆるくなるため、卵は卵巣薄板中に分布する筋肉の作用により容易に脱出し排卵が起こると考えられる。いずれにしても雌魚に対して生殖腺刺激ホルモンは沱胞細胞層に作用して卵黄の蓄積を促進し、さらに排卵を誘発すること、およびステロイド産生細胞に作用してステロイドの生合成とその分泌を調整している可能性があり、今後さらにこの点の詳細な解析が待たれる所である。

魚類の卵巣中にも黄体様組織は出現する^{29~32)}。これには閉鎖黄体が多く、ステロイド産生源として論ぜられたこともあるが³⁰⁾、ステロイドを産生している確かな証左は今の所得られていない。HISAW and HISAW³³⁾は板鰐類ではこの組織は内分泌器官として完全に発達しておらず、本間・田村³⁴⁾もコアユで内分泌器官とは認め難いと報告している。また下垂体摘出後、多数の閉鎖黄体様組織が出現するので、魚類でこの組織が下垂体ホルモンの支配下にあるとは考え難い。

雄魚に対する生理作用

MATTHEWS³⁵⁾ と BURGER³⁶⁾ は *Fundulus* で下垂体摘出を行なうと、精子形成が抑制されることを報告している。その後、BARR³⁷⁾ がカレイで、AHSAN³⁸⁾ がウグイの一種 (*Couesius plumbeus*) で、さらに YAMAZAKI and DONALDSON^{11,39)} がキンギョで、それぞれ精巣に対する下垂体摘出の影響を細胞学的に見ているが、これらの報告によると下垂体摘出によつて精原細胞から精母細胞への移行が阻止され、精母細胞は比較的早く精巣内から消失する。精子は長期間精巣内に残存するが、手術後 200 日以上経過すると残存する精子は非常に少なく、精巣は卵原細胞と結締組織および萎縮した間質細胞だけとなる。キンギョではこのように萎縮した精巣はマスノスケの下垂体から抽出したホルモン 1 尾当たり 0.1 mg, 1 週間 3 回, 3 週間処理すると完全に成熟状態に回復する¹¹⁾。これらの結果は下垂体の生殖腺刺激ホルモンが精子形成を維持促進する作用のあることを示している。生殖腺刺激ホルモンがどのような機序によつて精子形成の維持促進を計るものか明らかではないが、下垂体を摘出して精巣が萎縮した *Fundulus* に Methyl testosterone を 0.2~2 μ g 1 週間 3 回, 8 週間処理すると精子形成が促進され⁴⁰⁾、同様の結果がナマズの一種 (*Heteropneustes fossilis*) に Testosterone propionate を処理した際も得られている。ステロイドホルモンの生合成に必要な酵素の一つである 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase は精巣の間質細胞内にも存在するが^{39,42)}、この酵素活性は下垂体を除去するとただちに減少し、下垂体の生殖腺刺激ホルモンを投与するとその活性が高まる³⁹⁾。これらの結果を総合すると、下垂体の生殖腺刺激ホルモンは直接精巣小葉に作用して精子形成を促進する可能性もあるが、さらに間質細胞に作用して雄性ホルモンの分泌合成を促し、これが精巣小葉に作用して精子形成の維持促進を計る可能性もあるといえる。

最近 YAMAMOTO and YAMAZAKI²⁷⁾ および YAMAZAKI and DONALDSON⁴³⁾ がキンギョの排精と下垂体の生殖腺刺激ホルモンとの関係を報告している。排精というのは、精巣小葉壁または輸精管壁中の特殊な細胞 (哺乳類、両棲類の Sertoli 細胞に相当) によつて分泌される分泌液により精液が薄められて精子が精巣小葉内腔または輸精管中に遊離し放精を容易にする現象で、Henderson⁴⁴⁾ のいう機能的成熟の基礎となるものである。したがつて排精が起こる際、精巣は多量の水分を含み、キンギョの場合排精の起こる 24 時間以内で、体重に対する精巣重量比が正常魚で平均 70% 増加し、下垂体摘出魚では手術後 25 日目にサケの生殖腺刺激ホルモンで処理して排精を促すと平均 128% も増加する (Table 1) 精巣の水分量は正常魚で 78% 前後であるのが排精時には 90% にまで増加する。CLEMENS^{9,45~47)} らは、この水分含量の増加を Gonadal Hydration と名付けているが、これは排精の現象を水分含量増加の面からとらえもので、彼らは、この水分含量増加と下垂体ホルモンの関係を多くの魚種でみている。下垂体を摘出すると少数の例外を除いて、排精は完全に抑制され、さらにこれに HCG またはマスノスケの生殖腺刺激ホルモンを与えると排精が誘発される。しかし、哺乳類の黄体形成ホルモン (LH) が両棲類の排精に効果^{48,49)} があるにもかかわらず、キンギョの排精に効果がない点は比較内分泌学的に非常に興味深い点である⁴³⁾。

Table 1. Comparison of mean gonosomatic indices of non-spermiated and spermiated groups of goldfish.

Group	No. of fish used in each group	Intact fish	Hypophysectomized fish				
			Days after operation				
			5	10	15	20	25
Non-spermiated with saline	5	2.3 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.1
Spermiated with 0.15 mg. salmon gonadotropin	5	3.9 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.7	3.2 $\pm$ 0.9	2.3 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 0.7	1.6 $\pm$ 0.6
Increasing rate (%)		70	70	60	35	59	128

Mean $\pm$ SD.

下垂体ホルモンが排精を誘発する際、精巣内の間質細胞は核、細胞質と共に肥大して、細胞の直径は平均で 10.3μ のものが 13.2μ にまで増加する。この事実は排精時に間質細胞の活性が高まっていることを示すもので、さらに排精には雄性ホルモンが関与していることを暗示していると考えられる⁴³⁾。これを実証するためにキンギョで、下垂体摘出後排精の抑制された個体に Methyl testosterone, Dehydroepiandrosterone, 11-keto testosterone を与えて排精に対する効果をみると、排精の強さは投与量に比例し、体重 10 g に対して 0.1 mg では全く効果がないが、1.0 mg では 40~50%, 10 mg では 100% の排精がみられる³⁹⁾。体重 10 g 当り 10 mg という投与量は一見生理レベルをはるかに超える値に見えるが、間質細胞から雄性ホルモンが分泌されると、精巣内では著しく高濃度になると推定されることから、腹腔内注射によつて採卵を誘発するためには当然大量投与が必要である。またここではビーナツ油に溶かし、腹腔内に注射しているので、24 時間後に全量が吸収されるとは考えられず、したがつて確認された排精は生理的異常によつて起こつたものではないであろう。このような高濃度のステロイドを投与された個体は排精状態を一週間以上継続し、しかも他に何ら異常は認められない。この実験結果から、下垂体の生殖腺刺激ホルモンが排精を誘発するのは間質細胞を介して雄性ホルモンの分泌を高め、これによつて間接的に作用していると考えられることができる。

雄の求愛行動または生殖行動が直接下垂体の生殖腺刺激ホルモンの支配下にあるかどうかについてはまだ十分な知見が蓄積されていない。TAVOLGA⁵⁰⁾ はハゼで下垂体を摘出すると全ての求愛行動が停止すると報じているが、一方 YAMAZAKI²⁰⁾ はキンギョで BARR³⁵⁾ はカレイで下垂体を切除しても放精することを報じている。現在まで下垂体の生殖腺刺激ホルモンによつて未熟な雄魚に、放精を伴わない単なる生殖行動または求愛行動だけを誘発させた実験は報告されていない。キンギョでは下垂体摘出後、少なくとも 3 時間後にはほとんど手術の影響なく追尾および生殖行動を示し、下垂体摘出 24 時間後においても 7 尾のうち 2 尾がこの行動を示したことからも雄の生殖行動に対して、下垂体の生殖腺刺激ホルモンが直接関与しているとは考え難い²⁰⁾。しかし、YAMAZAKI²⁰⁾ や BARR³⁵⁾ が使用した個体はいずれも完熟個体（排精後の機能的成熟に達した個体）で腹部を圧すると精子の流出する状態のものであつた。未熟なまたは未排精の個体で下垂体を摘出した場合には、如何なる条件の下に飼育しても生殖行動は全く起こらない（YAMAZAKI 未発表）。このことは雄魚の生殖行動が精巣の成熟度に大きく依存していることを示すもので、精巣の切除によつて生殖行動が抑制される実験結果¹²⁾からもうなづける。著者はキンギョで下垂体を摘出し、体色が白黄色に変化した個体に Methyl testosterone を個体当り 2 mg 腹腔内に注射すると、排卵前の成熟した雌魚に対して烈しい追尾行動を示すことを観察した。したがつて下垂体の生殖腺刺激ホルモンは直接的には生殖行動を誘発することはないが、雄性ホルモンの分泌を介して間接的にこの行動を支配していると結論できる。

雄性ホルモンによつて誘発されるその他の現象、例えば多くの魚種で見られる雄性第二次性徴、ある魚種例えばナマズでみられる貯精のうの維持⁴¹⁾、ヨウジウオ、タツノオトシゴ等の育児のう形成等も間接的に下垂体の生殖腺刺激ホルモンの支配下にあるといい得るが、これらの詳細については他の総説にゆずることにする^{21,51,52)}。

生殖腺刺激ホルモンの生物試験法

魚類の生殖腺刺激ホルモンの生理作用や生化学的性質を詳細に調べるためには、純化された魚類の生殖腺刺激ホルモンが得られなければならないが、ホルモンの抽出作業中にはすぐれた生物試験のあることが不可欠な条件である。従来まで魚類の生殖腺刺激ホルモンの生物試験には、哺乳類の FSH または LH の生物試験に使われるネズミ⁵³⁾、Weaver Finch⁵⁴⁾、カエル⁵⁵⁾などを用いて行なわれて来た。この内カエルの排精を用いた研究はかなり多くの実を結んでいる^{7,9,10)}。しかし、蛋白ホルモンの種属特異性の問題を考慮すると、魚類の生殖腺刺激ホルモンの生物試験には魚でみられ、しかも生殖腺刺激ホルモンに特異的に反応する現象を用いることが重要であると考えられる。

下垂体生殖腺刺激ホルモンの目標器官はいうまでもなく生殖腺であつて生殖腺の重量増加は確かに生殖腺

刺激ホルモンの効果の判定に使用することができるが、近年その他のすぐれた方法も逐次開発されている。これらの方法は次の4つに分けることができる。

i. 未成熟雄魚の精巣重量増加による方法

この方法は未成熟雄魚を用い、これに抽出物または試験試料を腹腔内または筋肉内に注射し、精巣の重量増加を対照群と比較して効果を判定する方法である。ROBERTSON and RINFRET⁵⁶⁾ はニジマスの孵化後6月から9カ月の個体をあらかじめ開腹して精巣の状態を調べ、糸状の精巣を有する個体だけを実験に使用している。注射は腹腔内で25日の実験期間中に下垂体抽出物を10~15 mg (1 mg $\equiv$ 下垂体 0.56) 投与してその間、魚は絶食させている。絶食は対照魚の精巣の発達を抑制して効果の判定を容易にするためであるが、25日の実験期間内に対照群では精巣重量は平均63%増加し、抽出物で処理して最も効果のあつた群では精巣重量が平均で3034%増加している。SCHMIDT⁵⁷⁾ らも同様にニジマス雄魚を用いて生物試験を行なっているが、使用したニジマスは実験終了後の体長が7.8~20.2 cmの生後6~9カ月の個体である。この実験ではニジマスの雌雄の判別が困難で、雌雄にかかわらず週3回2週間を原則として腹腔内注射を行なっている。この結果によると生殖腺重量変化は、雌よりも雄で明瞭であることがわかる。ギンザケ稚魚もすぐれた実験魚といわれている(HODGINS 私信)が精巣重量増加による生物試験では、対照魚の精巣重量が実験中に増加しては効果の判定を困難にするので、この点を十分考慮して魚種を選定し飼育条件を吟味することが大切である。しかし、この試験では1週間2回または3回の注射を少なくとも1週間以上は続ける必要があり、しかも投餌、水温および環境の調整、水質等に十分な配慮が必要であり、多数の試料を試験するには時間的にも適当な方法とはいえない。

ii. 雌魚の排卵による方法

CLEMENS and SNEED⁵⁸⁾ は雌魚の排卵による生物試験のための試験魚としてゼブラと金魚をあげている。ゼブラは魚体が小さいため、試験試料が少なくすむことおよび熱帯魚であつて周年卵巣の発達している個体が得られること等の利点をあげている。ゼブラの排卵は注射後12~20時間で起こるので先の方法に比較すると非常に早く結果を出すことができる。キンギョの排卵も水温20°Cの場合、1回の注射で15~24時間後に起こり、ゼブラと同様にすぐれた試験魚といえるのでキンギョを中心にしてこの方法を述べることにしよう。

排卵は腹部を軽く圧するだけで熟卵が生殖口から流れ出るので容易に判別できる。この際個体によつて熟卵の量が非常に異なるので排卵量だけで反応の強さを判断することは危険である。試験魚としては未排卵魚でしかも卵巣が十分発達し腹部の膨出した個体が望ましい。肥満度(体重/体長³)が0.045以上の個体は投与ホルモンに極めて敏感に反応するが、肥満度が大きすぎると投与ホルモン以外の小さな刺激でも排卵する恐れがあり注意が必要である。一年を通じて適当な試験魚を得るためにはあらかじめ水温が13~14°Cの水槽を用意し、ここに予備のキンギョを入れておくと卵黄形成は正常に起こり、しかも排卵が抑制されるため、年間を通じて適当な材料を得ることができる⁵⁹⁾。この方法では結果を出すために魚を犠牲にする必要がないために排卵が起こるまで魚体は何回も繰り返し使用できるが、排卵が起こると次の回復まで数カ月必要で、この間実験には使用できない。

iii. 雄魚の精巣内水分含量増加による方法

この方法は、下垂体生殖腺刺激ホルモンを成熟間期の雄魚の腹腔内または背筋に注射すると排精が起こり、精巣内の水分量が増加する現象を使つた生物試験法で試料を注射して24時間後に開腹し精巣をとり出してただちにこの重量を測定する。その後24時間乾燥器中で完全に乾燥させて、その差から水分含量を求め、最初の重量に対する水分の割合を対照魚と比較して効果を判定する方法である。

この方法に用いられる試験魚は主にキンギョやコイ等であるが、その他にも Green sunfish (*Lepomis cyanellus*), White crappie (*Pomoxis annularis*), White bass (*Roccus chrysops*), Largemouth bass (*Micropterus salmoides*), Golden shiner (*Notemigonus crysoleucos*) があげられている⁵⁹⁾。

コイでは体重1 g 当りコイの下垂体抽出物を22.0 μ g 腹腔内に注射すると、腹部を圧迫して0.12 cc の

精液が流出したのが、注射後には 2.90 cc に増加し、水分含量は 78.6% から 85.7% に増加する⁴⁷⁾。この現象は下垂体の生殖腺刺激ホルモンに特異的に反応するので極めてすぐれた生物試験法である。この方法でも試験魚の選択は極めて大切であつて精巢の発達の悪い個体や、すでに排精によつて精液が薄められている個体はこの試験には使用できない。常に対照魚の結果と比較して効果を吟味しなければならないが、対照魚も水温の変化や取り扱い上の刺激等が重つて水分含量が増加する場合があります、注意しなければならない。また試験魚は注射 24 時間後に精巢を取り出すために次の試験には使用できず、そのため多数の抽出分画を試験するためには多数の試験魚を準備しておく必要がある。

iv. 下垂体を摘出したキンギョの排精による方法

この方法は YAMAZAKI and DONALDSON⁴⁸⁾ によつて開発された方法であるが、先の精巢内水分含量増加による方法を改良したもので、下垂体を摘出することによつて正常魚で起こり得る排精を抑え、これに試料を腹腔内に注射して水温 20°C の下で 24 時間経過後腹部から生殖口にかけて軽く圧迫することにより精液が出るか否かによつて効果を判定する方法である。この方法のすぐれている点は、先の方法と同様に反応が敏感であること、一個体を少なくとも 6 回は繰り返し使用できること、対照魚が不要なこと、注射後 24 時間で結果が出ること（先の方法では精巢を乾燥するためさらに 24 時間必要）、判定が容易であること、すでに排精を起こしている個体でも下垂体摘出によりこれを抑制し試験魚として使用できること、精液の量の肉眼的観察によりある程度効果を数量化できること等をあげることができる。

しかし、この方法では試験魚の下垂体を完全に切除する必要があるが初心者には手術そのものが問題となる。手術は鰓蓋腔から行なう方法 (Opercular Approach)¹⁷⁾ がすぐれている。熟練すると 99% 成功させることができ、しかも 0.25% NaCl 溶液中で一年以上飼育できる。手術にはできるだけ成熟の進んだ個体を選ぶのが望ましい。また、この試験には手術によつて精巢内の精子が漸次減少するので手術後 3 週間以上経過した個体は用いない方がよい。

数量化の方法として YAMAZAKI and DONALDSON⁴⁸⁾ は腹側中央部よりやや後方に寄つた部分より生殖口に向けて 3 回軽くしごいて 3 回共全く精子の出ない個体を (－)、1 回目には出るが 2 回 3 回目には出ないか出ても極めて少量の場合を (+)、3 回共多量の精液が出る個体を (++) として、(+) を (++) の半値とし、1 つの試料に対して 5 尾用いて結果をパーセントで表わしている。この方法では多量の試料も短期間に処理でき、しかもかなり正確に効果を判定できる。

以上魚類を用いた生殖腺刺激ホルモンの生物試験法について述べたが、各々の事情に応じて上記四つの方法を使い分け、さらにはより進んだ生物試験法も開発しながら仕事を進めることが必要であろう。

抽 出 法

哺乳類の生殖腺刺激ホルモンと同様に魚類の生殖腺刺激ホルモンも水に溶解することを利用して、従来多くの実験で簡単に蒸留水による抽出が行なわれて来た。この方法は単に下垂体を少量の蒸留水ですりつぶしこれに適当量の蒸留水を加えて攪拌し、その後遠沈によつて上澄を取り、これをそのまままたは凍結乾燥して保存使用する方法である。これにはもちろん多量の不純混雑物が含まれている。

OTSUKA⁵³⁾ はサケ (*O. keta*) の下垂体から哺乳類の生殖腺刺激ホルモンの抽出に用いられていた方法^{60,61)} を用いて生殖腺刺激ホルモンを二つの異つた方法で抽出した。第 1 の方法は、アセトン乾燥を行なつた 1 g のサケ下垂体を 40% エタノール 20 cc で 24 時間攪拌して抽出し、これを濾過して残渣を捨てる。上澄の濾過液にエタノールを加えて 85% の濃度に上げ、氷酢酸を用いて pH を 5.2 に調整した後 2 日間放置して沈殿物を遠沈によつて集める。これを乾燥して得られた抽出物を 40% エタノール抽出物として次の抽出に用いている。第 2 の方法は 1 g のアセトン乾燥したサケ下垂体を冷した 2% NaCl 溶液 20 cc で 12 時間攪拌を行なう。遠沈によつて上澄を取り残渣は同様の方法で 2 回抽出を行なう。全抽出液は一緒にして HCl で pH を 4.3 に調整する。10 cc の上澄液に固形の硫酸アンモニウムを加えて飽和度を 0.9 とする。濾過した沈殿物を冷却蒸留水に溶解して透析を行ない硫酸塩を取り除く、透析後 pH 5.2 としてエタノールを加

えて 85% 濃度にし、沈澱物を純エタノールを用いて乾燥する。この乾燥抽出物を 2% NaCl 抽出物と呼んでいる。

上記二つの粗抽出物をさらに 1% リバノール および アセトンを用いて純化精製しているが、最近では Sephadex, DEAE-Cellulose, Carboxy Methyl Cellulose (CMC) 等のカラムを用いたすぐれた方法があり、OTSUKA⁵³⁾ の以下の手順は純度を高める上では適当と思われず詳細については彼の論文を参考にして戴きたい。

ROBERTSON and RINFRET⁵⁶⁾ はシロザケ (*O. keta*) とマスノスケ (*O. tschawytscha*) の下垂体から生殖腺刺激ホルモンの粗抽出物を得ているが、その方法について略記すると下垂体乾燥粉末を氷酢酸アセトン混合液 (16:2.5 ml) で 24 時間抽出、これに等量の蒸留水を加え、遠沈によつて上澄を取る。この上澄にアセトンを攪拌しながら沈澱が生ずるまで加えてしばらく放置した後、沈澱を遠沈によつて集めエチルエーテルで 2 回洗滌、これに蒸留水を加えて溶解し十分な氷酢酸を加えて 37°C に温めエーテルを除去後凍結乾燥する。これによつて得られる抽出物は最初の重量の約 13% である。この抽出物はニジマスの精巣重量増加を促進する効果がある。

FONTAINE and BRUZAWA-GÉRARD⁷⁾ はコイの生殖腺刺激ホルモンを生理食塩水で抽出し、これを Sephadex G-100 のカラム ($l = 110$ cm, $d = 2$ cm, Buffer = 0.1 M NH_4HCO_3) を用いて分画している。各分画の検定にはカエルの排精を用いて第 3 の分画に生殖腺刺激ホルモン活性を見つけている。この抽出分画は、下垂体のアセトン乾燥粉末の 20 倍の強さを有する。

CLEMENS⁸⁾ らは同じコイの下垂体を用いて生殖腺刺激ホルモンの抽出を行なっているが、先ず蒸留水で抽出を行ないこれを Sephadex G-75 で分画して検定にはキンギョの精巣内水分含量増加による方法を用いている。これによつて得られる抽出分画は分子量が 50,000 以上の蛋白であるという。

DONALDSON and YAMAZAKI⁶²⁾ は凍結した マスノスケ (*O. tschawytscha*) の下垂体から生殖腺刺激ホルモンを分離した。先ず、OTSUKA⁵³⁾ の方法で 40% エタノール抽出を行ない、この抽出物を Sephadex G-100 のカラム ($l = 100$ cm, $d = 2.5$ cm, Buffer = 0.1 M NH_4HCO_3) で分画し、下垂体を摘出した雄キンギョの排精による方法によつて検定して第 2 の分画に強い排精促進作用のあることを見つけている。この分画部分を凍結乾燥してさらに Sephadex G-100 で精製する。これを Sephadex G-25 のカラム (Buffer: 0.001 M Na Glycinate pH 9.2) を通してさらに DEAE Cellulose カラム (Buffer 0.001 M Na Glycinate $\rightarrow$ 0.001 M Na Glycinate + 0.25 M NaCl) によつて分離する。これによつて分離される生殖腺刺激ホルモンは 1 mg が約 12,000 I. U. HCG に相当し体重 10 g 当り 0.0003 mg で明らかにキンギョの排精を促進する。

種類および性質

両棲類では哺乳類と同様に下垂体には FSH (卵胞刺激ホルモン) と LH (黄体形成ホルモン) の二種類の生殖腺刺激ホルモンが存在すると考えられている⁴⁸⁾ 魚類ではこの問題に関してこれまで WITSCHI⁵⁴⁾ の研究が多く、の総説や論文に引用されて来た。彼はサメ (Elasmobranchii), *Lepisosteus* (Holostei) およびサケ (Teleostei) の下垂体抽出物をラットの Vagina Cornification Reaction で FSH 作用を、Weaver Finch Feather Reaction で LH 作用を調べ、これらの抽出物中に FSH および LH の両作用のあることを観察した。しかし FSH 作用は極めて弱く、LH 作用が強いことから、彼は魚類では LH は脳下垂体に貯えられているが、FSH は産生されるとただちに分泌されるため、抽出物中の FSH 効果が弱いのだらうと推論している。この研究は、魚類の下垂体中にも FSH および LH の二種類のホルモンの存在を暗示しているといえる。BALL⁶³⁾ もこの問題をいろいろの角度から論じているが、同様の推論を行なつて、二種類のホルモンの存在を推定している。また YAMAZAKI⁹⁾ もキンギョの雌の生殖周期を下垂体の機能を中心にして詳細に調べ、卵黄形成と排卵が異なつた機構に層することおよび両現象には各々異なつたホルモンすなわち FSH および LH 様の二種類のホルモンがあつて FSH は卵黄形成に、LH 様ホルモンは排卵に特異的に作用すると推定した。そしてこの魚類で想定される FSH は哺乳類の FSH とは生理作用上全く異なつていて、著

者は魚類の FSH に卵黄形成刺激ホルモンという名称を与えたこともある⁶⁴⁾。OLIVEREAU⁶⁵⁾ は魚類の下垂体分泌細胞を細胞化学的に検索し、二種類の生殖腺刺激ホルモン産生細胞のあることを報告しているが、これも魚類の生殖腺刺激ホルモンに二種類あることを暗示していると考えられる。確かに哺乳類や両棲類のごとく、魚類の場合にも二種類の生殖腺刺激ホルモンを想定することにより、魚類の生殖現象を、よりよく説明することができる^{18,66)}。しかし、従来魚類の生殖現象について生理学的生態学的あるいは生殖腺の形態学的観察だけからは、この問題に十分な結論を与えることができない悩みがあつた。これに対して OTSUKA⁵³⁾ は生化学的にサケの下垂体から異なつた二つの方法で生殖腺刺激ホルモンの抽出を試み、マウスの腔開口、腔角質化、グラーフ氏浮胞の成長、子宮内膜の変化、黄体の形成等に対する効果を調べている。そして、異なつた抽出分画中に各々 FSH および LH 作用のあることを認め、サケ下垂体中に両ホルモンの存在することを結論としているが、抽出された両物質の詳しい生化学的相異点については触れていない。

AHSAM³⁸⁾ は Lake chub (ウグイの1種)の精巣の周期的変化を調べ、それに関与する下垂体の生殖腺刺激ホルモンについて論じているが、注目すべき点は、彼の研究も含めて従来は哺乳類の FSH および LH 作用を有する PMS (妊馬血清性ホルモン) または哺乳類の下垂体前葉から抽出したホルモン等を魚類に投与した多くの実験で、これらのホルモンが、いずれも魚類の生殖に対して明瞭な効果が認められない点である^{18,67~72)}。この事実は少なくとも、魚類には哺乳類の FSH に類似したホルモンは存在しないことを示すものといえよう。HOAR⁷³⁾ は、この点に関して論じ、十分な知見が蓄積されていないが魚類では FSH は存在せず LH 様ホルモン一種類だけが存在する可能性のあることを述べている。

最近、魚類の下垂体から生殖腺刺激ホルモンを抽出した実験結果もこの推論を支持しているようである。BURZAWA-GÉRARD et FONTAINE⁹⁾ がコイの下垂体から抽出分離した生殖腺刺激ホルモンはラッテの摂護腺および子宮に対する LH 作用はなく、また STEELMAN and POHLEY⁷⁴⁾ の方法による FSH 検査も陰性で哺乳類の FSH および LH とは化学的に異なつた蛋白であると報告している。このホルモンは分子量が約 31,000 の一種類のホルモンか、または幾つかの因子から成る同一分子量を有するホルモンとされ¹⁰⁾、生理作用としてウサギの精巣の P³² 摂取量を高め、オタマジャクシの精巣肥大をもたらし、カエルの排精を促進することが知られている。YAMAZAKI and DONALDSON¹¹⁾ はマスノスケの下垂体から分離した生殖腺刺激ホルモンが下垂体を除去したキンギョの卵黄形成、排卵、雄の精子形成、排精に効果があり、さらにこのホルモンは沈降係数 $S_{20w} = 1.68$ で、これから求められた分子量は約 18,000 の一種類の蛋白と考えられることから、やはり一種類のホルモンによつて全ての生殖現象が支配されていると推定している。哺乳類の FSH および LH の二種類のホルモンはイオン交換を行なうと各々異なつた動きを示すがコイの生殖腺刺激ホルモンはイオン交換で動きの異なる二成分に分離することがないことから一種類の蛋白であることが推定されている¹⁰⁾。

CLEMENS⁸⁾ らは Sephadex G-75 の Rf 値からコイの生殖腺刺激ホルモンは分子量が 50,000 以上と推定しているが、このホルモンは 65°C で 4 時間処理しても活性は変わらず、75°C では 4 時間で 50% に落ち、95°C では 75 分で活性が消失する。Dimethylformamide, Diethylether, メタノール, ピリジン, ペンゼンに不溶で、蒸溜水による抽出物は 50% アセトンに溶解するが、75% アセトンには約半量が沈澱し、90% アセトンでは完全に沈澱する。また 90% アセトン沈澱物は原抽出物より強い活性を示す。7.7% NaCl 溶液には溶解するが、23% 溶液には不溶である。三塩化酢酸によつて一部破壊される。これらの事実は魚類の生殖腺刺激ホルモンが蛋白であることを示しているが下垂体の生殖腺刺激ホルモン産生細胞が PAS 陽性であることから糖と強く結合した糖蛋白であると推定され、この点で哺乳類の生殖腺刺激ホルモンと類似しているといえよう。

哺乳類の LH が魚類の排卵や精子形成に効果があることから^{38,75~77)}、しばしば魚類の生殖腺刺激ホルモンと哺乳類の LH との類似性が問題にされるが、ある現象、例えばカエルの排精には哺乳類の LH が極めて効果がある^{48,49)}がキンギョの排精には全く効果がない⁴⁸⁾ことから考えると BURZAWA-GÉRARD et FONTAINE⁹⁾ がいうように魚類の生殖腺刺激ホルモンは哺乳類の LH とも化学的にかなり異なつていて考えられる。

いずれにしても魚類の生殖腺刺激ホルモンは一種類である可能性が強く、二種類に分化するのは両棲類以上に進化してからと考えられ、比較内分泌学的に極めて興味深い問題を提起している。

生殖に対する支配機序

生殖という複雑な現象が、魚類の場合一種類の下垂体生殖腺刺激ホルモンによつて支配調節されているという仮説が成り立つとするなら、非連続的に起ると考えられる雌の卵黄形成と排卵、または雄の精子形成と排精という現象が、このホルモンによつていかに支配調節され、統一ある現象として起こるのであろうか。この問題に対して現在の所十分な解答を与えることはできない。しかし、一種類のホルモンが質的に異なつた二つの現象を支配調節する機序としては、分泌される生殖腺刺激ホルモンの単位時間当りの量的変化を考慮しなければならないであろう。この支配機序の実験的根拠は今の所、十分ではない。ただ、キンギョでは生殖腺刺激ホルモン産生細胞は一種類しかなく、しかもその細胞が排卵および排精時に形態的に極めて顕著な変化を示す^{27,29)}ことは排卵、排精時には急激に多量の生殖腺刺激ホルモンが分泌されるためと解釈できる。また、他の実験結果を例にとると、先述したごとく下垂体を摘出した *Fundulus* に Methyl testosterone を1個体につき 2 μ g を1週間3回、8週間腹腔内に注射すると精巣内に精子が形成されるという実験結果がある⁴⁰⁾。この実験では1個体に対する全投与量は 0.048 mg となるが、キンギョの排精に対しては、この濃度では何ら影響を与えない。排精を誘発させるためには、少なくとも体重 10 g 当り 1.0 mg 以上の Methyl testosterone を腹腔内に投与しなければならない。魚種が異なつているので単純には比較できないであろうが精子形成および排精を誘発させるために必要な雄性ホルモン量に顕著な差のあることは、下垂体の生殖腺刺激ホルモンのこれらの両現象に対する支配機序を解明する上で注目し値する現象といわねばならない。もちろん、これだけの結果から下垂体の生殖腺刺激ホルモンの量的支配を想定することはできないが、この点に関して明瞭な結論を得るためには今後さらに研究を進める必要がある。

魚類に過量の性ステロイドを投与すると、これが生殖腺に抑制的に作用するという実験結果^{79~81)}から、高等脊椎動物でホルモン分泌の重要な調節機構であるフィードバック機構が魚類でも確立されていると推察されているが、魚類について性ステロイドが視床下部または下垂体に上向的に作用することを示す明瞭な実験結果はまだ得られていない。ただ、視床下部と下垂体の関係については魚類でも形態的には多くの研究が発表されている^{82~87)}。

魚類の視床下部神経分泌核には、視床前核 (Nucleus Preopticus) および隆起部外側核 (Nucleus Lateralis Tuberis) の二核が知られているが、この内、隆起部外側核はその分泌活性が生殖の周期変化と関連して季節的に変化することが Brook trout⁸³⁾, *Hugil*⁸⁶⁾, イワナ⁸⁷⁾等で知られており、視床前核の機能は産卵や放精との関連から論ぜられている。いずれにしても性上位中枢が視床下部にあることは事実のようで BALL⁸⁹⁾らが *Poecilia* で行なつた下垂体の移植実験では下垂体を視床下部と切り離すと生殖腺刺激ホルモンの分泌が抑制されることを暗示している。これらの結果を総合して考えると魚類でも哺乳類と同様に下垂体の生殖腺刺激ホルモンの分泌は視床下部の性上位中枢の液素性の調節を受けているといえるだろう。

魚類の生殖には光、温度、飼料、水質、水位、天候等の外的環境要因が極めて重要であるが、これらの環境要因がすべて受容器官を通して視床下部の性上位中枢に働きかけるのかどうかについては明らかではない。LOFTS⁹⁰⁾らは成熟に対する温度の影響について考察し、温度の働きとしては、1. 生殖腺に直接作用しその活性を支配する。2. 生殖腺の下垂体ホルモンに対する感受性を支配する。3. 下垂体の生殖刺激ホルモンの合成と分泌に影響する。という三つを考えているが、各々の外部要因によつてその働き方は異なっているだろう。いずれにしても下垂体の生殖に対する支配機序の解明には環境要因の働きも含めた生殖腺刺激ホルモンの分泌機構の解明が必要である。

分泌細胞および細胞からの分泌機序

魚類の生殖腺刺激ホルモンが下垂体中の移行部または PICKFORD and ATZ¹²⁾ のいう腺性下垂体中部の塩

基好性細胞から分泌されていることは、これまで生殖周期に伴う塩基好性細胞の形態的变化^{81,91~97}、あるいは生殖を抑制された状態、例えば暗黒飼育^{98~100}、寄生虫の付着¹⁰¹の下での塩基好性細胞の退縮変化等によつて多くの魚種で実証され疑うことのできない事実となつている。これらに関しては、幾つかのすぐれた総説で取り扱われているが^{12,63,73,102}、ここではこれらの総説中で論ぜられている二・三の研究を引用し、さらに最近電顕で行なわれている興味深い研究からこの問題を論ずることにする。

ATZ¹⁰⁰ は *Astyanax* を用いて暗黒飼育、チオウレア処理等の条件を与えて PAS 陽性の塩基好性細胞の変化を調べ、反応の様式から塩基好性細胞が二種類に区別できるとしている。そして各々が生殖腺刺激ホルモン産生細胞および甲状腺刺激ホルモン産生細胞に相当すると推察している。この内、生殖腺刺激ホルモン産生細胞は甲状腺刺激ホルモン産生細胞と同様に AF 陽性でこの点は哺乳類の生殖腺刺激ホルモン産生細胞が AF 陰性であるので、魚類の生殖腺刺激ホルモン産生細胞は AF に対する染色性が哺乳類のそれとは異なっている。

グッピーでも塩基好性細胞は生殖腺刺激ホルモン産生細胞と甲状腺刺激ホルモン産生細胞の二つの細胞に分けられ、両者共に AF および PAS 反応に陽性であるが、前者は生殖腺切除によつて顆粒の消失が起こり、後者はチオウレア処理によつて顆粒の消失が起こるので両者を明瞭に区別できる¹⁰³。キンギョでも同様の結果が得られている⁷⁸が BARRINGTON and MATTY¹⁰⁴ はミンノーで AF および PAS 反応によつて哺乳類の場合と同様に PAS 陽性、AF 陰性の細胞が生殖腺刺激ホルモン産生細胞であるとしているが、魚種の違いによるものか今後検討する必要がある。

OLIVEREAU⁶⁵ は腺性下垂体中部に 6 種類の細胞を区別し、この内 2 種類は生殖腺刺激ホルモンの産生に関与すると述べている。彼女は PAS および Alcian blue を用いて Alcian blue の濃淡によつて分けている。しかし、従来の実験的諸手段によつて生殖腺刺激ホルモン産生細胞を検索した研究結果では、いずれもこの細胞は一種類だけしか記載されていない。McBRIDE and VAN OVERBEEK¹⁰⁵ はベニザケでやはり一種類と記載している。山崎¹⁰⁶はキンギョで卵巣の全摘出を行ない 3 カ月および 7 カ月後に腺性下垂体中部の変化を光顕および電顕により調べているが、これによると手術後 3 カ月目に塩基好性細胞内に液泡が形成され、これが発達して核を一方に押しやり、ラッテ等で知られている指環型の去勢細胞に極めて類似した形態を呈するようになる。手術後 7 カ月目の個体では、この変化がさらに顕著で腺性下垂体中部が著しく肥大し細胞の直径が 18μ にも達し、液泡が 6μ にも融合肥大した細胞も出現する (Plate I, Fig. 1)。この細胞は電顕では一種類で、細胞は胞体内に電子密度の高い $160\text{ m}\mu\sim 800\text{ m}\mu$ の比較的小さな顆粒と電子密度の低い最大径 $3,000\text{ m}\mu$ に達する大きな顆粒の二種類の顆粒を有している。これらの顆粒の間に良く発達した小胞体が観察され細胞内の液泡はこの小胞体の拡張融合したもので内部に電子密度の低い液状物質を含んでいる。この小胞体の肥大成長には大小二種類の顆粒が共に関与している (Plate I, Figs. 2, 3)。

NAGAHAMA and YAMAMOTO⁷⁸ は同じくキンギョでチオウレア処理、温度処理による排卵促進等の実験処理を行ない腺性下垂体中部の塩基好性細胞を光顕および電顕で詳細に観察しているが、これによると甲状腺刺激ホルモン産生細胞は菱形または多角形で核は中央に位置し、Azan 染色では赤紫色にそまり、分岐した神経葉に接して存在するものが多い。細胞の大きさは直径が $10\sim 13\mu$ で電顕では細胞質全体に $60\sim 220\text{ m}\mu$ の顆粒が存在し、チオウレア処理でこの顆粒が消失して小胞体が肥大し Vesicle 状の小胞が多数出現する。一方、生殖腺刺激ホルモン産生細胞は一種類で排卵、卵黄卵の崩壊等に伴なつて変化するが、排卵時に主として小顆粒が消失し、卵黄崩壊時には大顆粒が顕著に崩壊すると報告している。

排卵時にみられる変化は、生殖腺切除後にみられる変化とあまり変わらないようであるがその変化は時間的に早く現われる。すなわち、温度処理後 10 時間目で液泡が最大となり、その後時間経過と共にその液泡が縮少する。この細胞内変化は排精時にも観察され、ホルモンの分泌機序と密接な関係にあることを暗示している。これらの細胞内変化を去勢時の変化から精査すると、大顆粒の電子密度が限界膜内でさらに低くなり、内部の均質な構造が網目状に変化する。これに伴つて限界膜がゆるみ、ついには一部が切れて小胞体と連絡するようになる。膜内の電子密度がさらに低くなると小胞体内腔の液状成分と区別がつかなくなり、結

果的には小胞体の拡張をもたらす。これと同時に小顆粒も小胞体に拡散して小胞体の拡張にあずかっている (Plate I, Fig. 3)。一部の小顆粒は大顆粒に接して存在するものもある。いずれにしても細胞内の大小二顆粒が質的に変化して液状になり、これが小胞体内腔に溶出して、小胞体を通して細胞外に分泌されるものと考えられる。この分泌様式は従来の漏出分泌 (Eccrine) に属するが、生殖腺刺激ホルモンの分子量が 18,000~50,000 以上の範囲にあり、この大きさの分子では細胞膜を透過するとは考えられない。したがって細胞膜の一部が切れて、この部分が小胞体と接続し、ここから分泌されると考えられる。この分泌様式は黒住¹⁰⁷⁾の分泌放出様式の分類に従うと放出機序IV型 (Eruptocrine Mechanism) に属する。しかし黒住によると放出機序IV型では顆粒がそのままの形で放出され、放出と同時に顆粒の限界膜は細胞膜に移行するということである。これに対して魚類の生殖腺刺激ホルモン産生細胞では顆粒は先ず小胞体内腔へ溶出し小胞体を通して分泌される。しかも分泌後に小胞体の膜全体が細胞膜に移行する像がみられないので、黒住¹⁰⁷⁾のいう放出機序IV型の亜型ということができる。

結 語

魚類の生殖腺刺激ホルモンが哺乳類のごとく二種類あるのか、また実際に下垂体から抽出されたごとく一種類しか存在しないのか、今後さらにいろいろな魚種について検討する必要がある。この問題の解決は魚類の生殖を考える上で極めて重要であり、そのためには種々な魚種の下垂体から生殖腺刺激ホルモンを抽出純化し、その生化学的性質を FSH あるいは LH と比較しながら詳細に調べると共にその生理作用を種々な魚種について調べることが必要である。

これらの研究は比較内分泌学的にも極めて興味深い研究であるが、さらに生殖腺刺激ホルモンの純化はいろいろな応用の道を開らくと考えられる。種による特異性の問題も明らかにされてくるだろうし、魚類の生殖に関する研究も一段と進展し、成熟機構の解明の道が開かれるであろう。また、抗原抗体反応を利用して魚類下垂体の生殖腺刺激ホルモン産生細胞の存在部位を適確にとらえることができ、魚類血清中のゴナドトロピン量の推定または生殖腺の活性を推定できるかも知れない。ウナギやサケ・マスの親魚から適確に卵を取る方法が確立される可能性もある。また品種改良の研究にも利用できるであろう。わが国では魚類の生殖腺刺激ホルモンの抽出に関する研究は OTSUKA⁵³⁾の研究以来ほとんど行なわれておらず、水産国であるわが国にとって今後この方面の研究は益々重要になると考えられる。

おわりに、この論文をまとめる機会を与えて下さり終始御指導戴いた新山英二郎、山本喜一郎両教授に厚くお礼申し上げる。また、有益な示唆を与えて下さった石原義雄教授に感謝する。

文 献

- 1) L. E. REICHERT Jr.: *Endocrinology*, **71**, 729~733 (1962).
- 2) L. E. REICHERT Jr. and A. F. PARLOW: *ibid.*, **73**, 285~293 (1963).
- 3) L. E. REICHERT Jr.: *ibid.*, **75**, 970~972 (1964).
- 4) L. E. REICHERT Jr. and N. S. JIANG: *ibid.*, **77**, 78~86 (1965).
- 5) H. PAPKOFF, D. GOSPODAROWICZ, A. CANDIOTTI, and C. H. LI: *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 431~438 (1965).
- 6) D. N. WARD, M. ADAMS-MAYNE, N. RAY, D. E. BALKE, J. COFFEY, and M. SHOWALTER: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **8**, 44~53 (1967).
- 7) Y. A. FONTAINE et E. GÉRARD: *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **256**, 5634~5637 (1963).
- 8) H. P. CLEMENS, L. S. CLERESZKO, J. D. SHOEMAKER, and F. B. GRANT: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **4**, 503~507 (1964).
- 9) E. BURZAWA-GÉRARD et Y. A. FONTAINE: *ibid.*, **5**, 87~95 (1965).
- 10) E. BURZAWA-GÉRARD et Y. A. FONTAINE: *Annal. Endocrinol., Paris*, **27**, Suppl. 305~309 (1966).
- 11) F. YAMAZAKI and E. M. DONALDSON: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **11**, 292~300 (1968).

- 12) G. E. PICKFORD and J. W. ATZ: The physiology of the pituitary gland of fishes, New York Zool. Soc., New York (1957).
- 13) 日比谷 京: 水産増殖, **12**, 239~259 (1965).
- 14) D. P. SCOTT: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **19**, 715~731 (1962).
- 15) L. M. STOLL: *Zoologica N. Y.*, **42**, 99~104 (1957).
- 16) J. H. VIVIEN: *Bull. biol. Fr. Belg.*, **75**, 257~307 (1941).
- 17) F. YAMAZAKI: *Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ.*, **12**, 167~180 (1961).
- 18) F. YAMAZAKI: *Mem. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ.*, **13**, 1~64 (1965).
- 19) W. A. BARR: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **3**, 205~215 (1963).
- 20) F. YAMAZAKI: *Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ.*, **13**, 39~46 (1962).
- 21) 新井良一・江上信雄: ホルモンと臨床, **16**, 97~112 (1968).
- 22) G. BARA: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 284~296 (1965).
- 23) K. YAMAMOTO and H. ONOZATO: *Annot. Zool. Japon*, **41**, 119~128 (1968).
- 24) J. G. D. LAMBERT: *Experientia*, **22**, 476~477 (1966).
- 25) F. YAMAZAKI: *Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ.*, **14**, 41~45 (1963).
- 26) K. TAKANO: *ibid.*, **15**, 147~155 (1964).
- 27) K. YAMAMOTO and F. YAMAZAKI: *Gunma Symposia on Endocrinology*, **4**, 131~145 (1967).
- 28) 山本喜一郎: 遺伝, **21** (8), 15~19 (1967).
- 29) W. WALLACE: *Quart. J. Micro. Sci.*, **47**, 161~213 (1904).
- 30) L. H. BRETSCHNEIDER and J. J. DUYVENÉ de WIT: *Sexual endocrinology of non-mammalian vertebrates*, Elsevier Pub. Co., Amsterdam, (1947).
- 31) A. W. BEACH: *Can. J. Zool.*, **37**, 615~625 (1959).
- 32) K. SHIRAI: *Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ.*, **13**, 137~151 (1962).
- 33) F. L. HISAW Jr. and F. L. HISAW: *Anat. Rec.*, **135**, 269~277 (1959).
- 34) 本間義治・田村栄光: 魚類学雑誌, **9**, 135~152 (1962).
- 35) S. A. MATTHEWS: *Biol. Bull.*, **76**, 241~250 (1939).
- 36) J. W. BURGER: *ibid.*, **80**, 31~36 (1941).
- 37) W. A. BARR: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **3**, 216~225 (1963).
- 38) S. N. AHSAN: *Can. J. Zool.*, **44**, 703~717 (1966).
- 39) F. YAMAZAKI and E. M. DONALDSON: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **12**, 491~497 (1969).
- 40) B. LOFTS, G. E. PICKFORD, and J. W. ATZ: *ibid.*, **6**, 74~88 (1966).
- 41) B. I. SUNDARARAJ and S. K. NAYYAR: *ibid.*, **8**, 403~416 (1967).
- 42) Z. YARON: *J. Endocrin.*, **34**, 127~128 (1966).
- 43) F. YAMAZAKI and E. M. DONALDSON: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **10**, 383~391 (1968).
- 44) N. E. HENDERSON: *Can. J. Zool.*, **40**, 631~641 (1962).
- 45) H. P. CLEMENS and W. W. JOHNSON: *Copeia*, **No. 2**, 389~398 (1964).
- 46) H. P. CLEMENS and F. B. GRANT: *Zoologica*, **49**, 193~210 (1964).
- 47) H. P. CLEMENS and F. B. GRANT: *Copeia*, **No. 2**, 174~177 (1965).
- 48) B. LOFTS: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **1**, 179~189 (1961).
- 49) M. H. BURGOS and R. VITALE-CALPE: *Am. J. Anat.*, **120**, 227~252 (1967).
- 50) W. N. TAVOLGA: *Physiol. Zool.*, **28**, 218~233 (1955).
- 51) A. GORBMAN and H. A. BERN: *Textbook of comparative endocrinology*, John Wiley & Sons, Inc., New York (1962).
- 52) 竹脇 潔他: 現代の生物学 7, ホルモンとホメオスタシス, 岩波書店, 東京 (1966).
- 53) S. OTSUKA: *Endocrinol. Japon.*, **3**, 272~279 (1956).
- 54) E. WITSCHI: *Mem. Soc. Endocrinol.*, **No. 4**, 149~165 (1955).
- 55) M. FONTAINE and M. CHAUVEL: *Compt. Rend.*, **252**, 822~824 (1961).
- 56) O. H. ROBERTSON and A. P. RINFRET: *Endocrinology*, **60**, 559~562 (1957).
- 57) P. J. SCHMIDT, B. S. MITCHELL, M. SMITH, and H. TSUYUKI: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 197~206 (1965).
- 58) H. P. CLEMENS and K. E. SNEED: *U. S. Fish Wildlife Serv. Res. Rept.*, **61**, 1~30 (1962).
- 59) 山本喜一郎・長浜嘉孝・山崎文雄: 本誌, **32**, 977~983 (1966).
- 60) C. H. LI, M. E. SIMPSON, and H. M. EVANS: *Endocrinology*, **27**, 803 (1940).

- 61) B. F. CHOW, B. VAN DYKE, R. O. GREEP, A. ROTHEN, and T. SHEDLOVSKY: *ibid.*, **30**, 650 (1942).
- 62) M. E. DONALDSON and F. YAMAZAKI: 第 51 回カナダ化学学会年会講演要旨, 64 (1968).
- 63) J. N. BALL: *Symp. Zool. Soc. Lond.*, **No. 1**, 105~135 (1960).
- 64) 山崎文雄: 昭和 39 年度日本水産学会シンポジウム講演要旨, 18~20 (1964).
- 65) M. OLIVEREAU: in "Cytologie de l'adénohypophyse" (J. BENOIT and C. DA LAGE, ed). Edition du centre national de la Recherche Scientifique, Paris, 315~329 (1963).
- 66) 江上信雄: 動維, **68**, 379~385 (1959).
- 67) R. VON IHERING and P. DE AZEVEDO: *Zool. Anz.*, **120**, 71~75 (1937).
- 68) M. W. JOHNSON and O. RIDDLE: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **42**, 260~262 (1939).
- 69) I. B. HANSEN: *Bull. Mt. Desert Biol. Lab.*, 25~26 (1939).
- 70) F. W. LANDGREBE: *J. Exp. Biol.*, **18**, 162~169 (1941).
- 71) G. E. PICKFORD: *Yale Journal Biol. Medicine*, **31**, 341~362 (1959).
- 72) S. N. AHSAN and W. S. HOAR: *Can. J. Zool.*, **41**, 1045~1053 (1963).
- 73) W. S. HOAR: *Annual Review of Physiology*, **27**, 51~70 (1965).
- 74) S. L. STEELMAN et F. M. POHLEY: *Endocrinology*, **53**, 604~616 (1953).
- 75) YA. D. KIRSHENBLAT: *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **111**, 504 (1956).
- 76) B. I. SUNDARARAJ and S. V. GOSWAMI: *J. Exp. Zool.*, **161**, 287~296 (1966).
- 77) B. I. SUNDARARAJ and S. V. GOSWAMI: *ibid.*, **163**, 49~54 (1966).
- 78) Y. NAGAHAMA and K. YAMAMOTO: Gunma Symposia on Endocrinol., No. 6 in press. (1969).
- 79) M. C. TAVOLGA: *Zoologica N. Y.*, **34**, 215~237 (1949).
- 80) N. EGAMI: *Endocrinol. Japon.*, **1**, 75~79 (1954).
- 81) N. EGAMI: *ibid.*, **2**, 89~98 (1955).
- 82) E. J. W. BARRINGTON: *Proc. Zool. Soc. London*, **135**, 551 (1960).
- 83) D. C. BILLENSTEIN: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **2**, 111~112 (1962).
- 84) D. C. BILLENSTEIN: *Zeit. Zellforsch.*, **59**, 507~512 (1963).
- 85) K. LEDERIS: *ibid.*, **58**, 192~213 (1962).
- 86) N. ÖZTAN: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **3**, 1~14 (1963).
- 87) Y. HONMA and E. TAMURA: 本誌, **31**, 878~887 (1965).
- 88) A. STAHL and C. LERAY: *Mem. Soc. Endocrinol.*, **No. 12**, 149~163 (1962).
- 89) J. N. BALL, M. OLIVEREAU, A. M. SLICHER, and K. D. KALLMAN: *Phil. Trans. Roy. Soc. London, Series B*, **249**, 69~99 (1965).
- 90) B. LOFTS, G. E. PICKFORD, and J. W. ATZ: *Biol. Bull.*, **134**, 74~86 (1968).
- 91) W. M. SCRUGGS: *J. Morph.*, **88**, 441~470 (1951).
- 92) B. I. SUNDARARAJ: *Acta Anat.*, **37**, 47~80 (1959).
- 93) A. STAHL, R. SEITE, et C. LERAY: *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **154**, 1455~1458 (1960).
- 94) A. G. SATHYANESAN: *J. Zool. Soc. India*, **12**, 175 (1960).
- 95) H. W. SOKOL: *J. Morph.*, **109**, 219~235 (1961).
- 96) 本間義治: 日本産魚類および円口類の内分泌腺に関する形態学的ならびに実験学的研究, 新潟大理生物, 新潟 (1960).
- 97) A. P. VAN OVERBEEKE and J. R. MCBRIDE: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **24**, 1791~1810 (1967).
- 98) P. RASQUIN: *Bull. Amer. Mus. nat. Hist.*, **93**, 497~532 (1949).
- 99) P. RASQUIN and L. ROSENBLON: *Bull. Amer. Mus. nat. Hist.*, **104**, 359~426 (1954).
- 100) E. H. ATZ: *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.*, **14**, 94~116 (1953).
- 101) T. KERR: *Quart. J. micro. Sci.*, **89**, 129~137 (1948).
- 102) A. J. MATTY: *Intern. Rev. General & Exptl. Zoology*, **2**, 43~138 (1966).
- 103) H. W. SOKOL: *Anat. Rec.*, **122**, 451 (1955).
- 104) E. J. W. BARRINGTON and A. J. MATTY: *Quart. J. Micro. Sci.*, **96**, 193~201 (1955).
- 105) J. R. MCBRIDE and A. P. VAN OVERBEEKE: *Gen. Comp. Endocrinol.*, in press (1969).
- 106) 山崎文雄: 動維, **75**, 331 (1966).
- 107) 黒住一昌: *J. Electron Microscopy*, **14**, 12~26 (1965).

Plate I

Explanation of Plate I

- Fig. 1.** Photomicrograph showing signet ring like castration cells found in the mesoadenohypophysis of the goldfish, *Carassius auratus*, which was kept for seven months after the castration. Stained with Azan staining. $\times 1,150$
- Fig. 2.** Electron micrograph of enlarged endoplasmic reticulum (EER) of a castration cell in goldfish which was kept for three months after the castration. Fixed with 0.1% osmium tetroxide, without staining. $\times 12,000$
- Fig. 3.** Electron micrograph showing degenerating granules in the basophilic gonadotroph in the goldfish kept for three months after the castration. There are two types of round secretory granules in the gonadotroph. One (A type) is large (up to $3,000\text{ m}\mu$ in diameter) and is of low electron density, while the other (B type) is smaller (ranging between $160\text{ m}\mu$ and $800\text{ m}\mu$ in diameter) and is of high electron density, if stained with uranyl acetate or lead monoxide.
- Both granules degenerate and diffuse into endoplasmic reticulum (ER) at the formation of the castration cells. Stained with uranyl acetate. AD: Degenerating A type granule; BD: Degenerating B type granule. $\times 15,200$