神経節懸濁液によるエゾアワビの放卵誘起

八幡 剛 浩

(1973 年 7 月 26 日受理)

Induced spawning of abalone (*Nordotis discus* REEVE)
injected with ganglionic suspensions

Takehiro YAHATA*

The cerebral (CG), pleuro-pedal (PPG) and visceral ganglia (VG) of mature females of the abalone, *Nordotis discus* REEVE, were respectively homogenized separately in filtered sea water, in tap water or in 0.6% NaCl solution in a concentration of one ganglion per 0.1 ml of the vehicle. The homogenates were injected 1, 2 or 3 times, once a day, in a constant amount of 0.1 ml per animal, into the head of pre-spawning females of 9.0-11.9 cm in shell length.

In groups of PPG-, PPG+VG- and VG-injected animals, ovaries exhibited a remarkable swelling and softening followed by a slight increase in mean body weight, possibly owing to an increased water content in the ovaries caused by the uptake of water. Moreover, they spawned a huge number of fertilizable eggs after 1 or 2 injections, which resulted in a loss in body weight. Conversely, a group of CG-injected animals showed a gain in mean body weight without revealing any notable change in the ovaries.

It seems likely that the visceral and pleuro-pedal ganglia may produce and release substance(s) which induces spawning in the abalone, and that an uptake of water in the pre-spawning ovary might be physiologically significant for the execution of spawning.

軟体動物においても神経節細胞が神経分泌物を産生することが知られているが¹⁾、神経分泌物の持つ生理機能についての研究は極めて少ない。神経分泌物と生殖現象との関連については、腹足類では、HEKSTRA and LEVER²⁾ が *Lymnaea* でその脳神経節または側神経節を切除すると交尾・産卵が抑えられることを確かめており、PELLUET and LANE³⁾ は *Arion* で、触角切除により卵数が増加し、脳抽出物投与により卵形成が促進すると述べている。また PELLUET⁴⁾ は *Arion* 及び *Mirax* で、脳が卵形成促進物質を、触角が精子形成促進物質をそれぞれ産生すると推論している。さらに、KUPFERMANN⁵⁾、STRUMWASSER *et al.*⁶⁾ 及び TOEVS and BRACKENBURY⁷⁾ によれば、*Aplysia* では壁・内臓神経節、特にバッグ細胞群の抽出物が産卵を誘起するという。

しかしこれらの種類はすべて後鰓類に属するものであり前鰓類についてのこの方面の知見は極めて乏しく、僅かに ANDREWS⁸⁾ が *Bithynia* で、脳神経節の神経分泌細胞が交尾または産卵に、内臓神経節より出る神経中の神経分泌物が生殖機構に関与し得ることを述べ、また YAHATA and TAKAHASHI⁹⁾ がヒメエゾボラで神経分泌物が生殖巣成熟に影響を持つことを推察しているなどにすぎず実験的にその生理効果を確かめたものは見当たらない。

著者は先にエゾアワビにおいて、脳神経節の神経分泌現象が同種の生殖と関連を持つことを形態的に示唆したが¹⁰⁾、本報告では神経分泌物の生殖現象とりわけ産卵に及ぼす効果について述べる。

* 北海道大学水産学部 (Faculty of Fish., Hokkaido Univ., Hakodate)

材料および方法

実験は岩手県水産試験場下閉伊分場で飼育されていた殻長 9.0–11.9 cm, 平均 10.2 cm の放卵期のエゾアワビ *Nordotis discus* REEVE を用いて, 1972 年 10 月 10–13 日および同年 11 月 11–15 日の 2 回, 同分場において行なつた。

投与材料として, 同じく同分場で飼育されていた未放卵の成熟個体 (殻長 8.0–14.5 cm, 平均 10.0 cm) より摘出した脳神経節 (CG), 側・足神経節 (PPG) または内臓神経節 (VG) の 1 個体分を 0.1 ml の汙過海水, 煮沸冷却水道水または 0.6% NaCl 溶液に懸濁した液を投与直前に作製した。

実験 I では実験個体を 3 ないし 5 個体ずつの 4 つの群に分け, 第 1 群には汙過海水または煮沸冷却水道水に懸濁した CG を各 1 回, 第 2 群には汙過海水に懸濁した PPG+VG および煮沸冷却水道水に懸濁した PPG を 1 回ずつ, 第 3 群には煮沸冷却水道水に懸濁した VG を 1 回投与した。第 4 群は, 対照群として神経節を含まない汙過海水および煮沸冷却水道水を各 1 回投与した。また実験 II では 0.6% NaCl 溶液に懸濁した PPG 3 回投与群 (4 個体) と 0.6% NaCl 溶液投与の対照群 (3 個体) を設定した。両実験とも各個体 1 回につき 0.1 ml の各懸濁液を頭部体腔域に注射した。実験個体は各群毎に汙過海水をオーバーフローした 21×37×28 cm³ のプラスチック水槽に収容して放卵の有無を観察した。実験期間中給餌は行なわなかつた。

結 果

実験 1 の結果は Table 1 および Fig. 1 に示してある。

Table 1. Effects of ganglionic suspensions on the induction of spawning of the abalone, *Nordotis discus*.

Experimental group	Period of experiment	Origin of ganglionic suspension injected	No. of animals used	No. of animals spawned
I	Oct. 10–13, '72	Cerebral ganglion	5	2*
		Pleuro-Pedal and Visceral ganglia	5	5
		Visceral ganglion	3	3
		————	4	1
II	Nov. 11–15, '72	Pleuro-Pedal ganglion	4	4
		————	3	0

* These abalone spawned a small amount of clustered eggs.

神経節投与後の体重変化を各個体の実験開始時の体重に対する百分率によつて追つてみると, 対照群ではそれぞれ平均で, 2 日目 99.4%, 3 日目 100.0%, 4 日目 99.4% とほとんど変動を示さなかつた。この群では 4 個体中 1 個体が汙過海水投与によつて放卵した以外は実験期間を通じて大きな変化が見られず, また, 組織学的にも実験開始時の対照群との間に差は認められなかつた (Plate I-1)。

CG を投与した第 1 群では 1 回投与後の 2 日目に 106.4%, 2 回投与後の 3 日目には 107.1% と上昇した。しかしその後は投与を停止したため 4 日目には 105.2% とやや低下した。この群では 5 個体中 2 個体が 1 回目の投与後, ゼリー状物質で帯状に固まつた少量の卵を放出したが, これらの卵巣には外見的にも組織学的にも対照群との間に差異は認められなかつた (Plate I-2)。

これに対し第 2 群の平均体重は, PPG+VG 1 回投与の翌日に 100.1%, また 2 度目の PPG 投与後の 3 日目には 99.5% であつたが, この 3 日目には卵巣は非常に柔らかくなり全個体で多少なりとも放卵するのが観察された。特に 5 個体中 3 個体はその後多量の分離卵を放卵し続け, 4 日目には, うち 1 個体は前日に比べ約 4%, 他の 2 個体は約 10% の体重減少をみせた (Plate I-3)。残りの 2 個体では 4 日目までの放卵

Fig. 1. Changes of the mean body weight of female abalone injected with suspensions of cerebral (◎), pleuro-pedal and visceral (⊙), and visceral ganglia (○), and with filtered sea water and tap water as a control (●). Standard errors are shown by vertical bars. Arrows indicate the days of injection of the suspensions.

Fig. 2. Changes of the mean body weight of female abalone injected with a suspension of pleuro-pedal ganglion (⊙) and with 0.6% NaCl solution as a control (●). Standard errors are shown by vertical bars. Arrows indicate the days of injection of the suspension.

は少量にとどまり、体重も増加傾向をみせたが、これらの個体においても卵巣は非常に柔くなっており、4日目の体重測定の前4時間後には盛んに放卵しているのが観察された。

第3群では、前群同様、VG投与1回で卵巣は著しく肥厚し、かつ柔らかくなり体重も104%と上昇した。その後全個体が盛んに分離卵を放卵し、平均体重は92.6%と大きく減少した (Plate I-4)。

更に、実験IIの結果はTable 1およびFig. 2にまとめた通りである。

この実験の対照群では0.6% NaCl溶液を投与したが、1回目投与で2日目に体重は96.1%と下り、2回目投与の翌日には96.7%とやや上昇したものの同日3回目の投与を行なった約10時間後には再び94.9%と減少していた。その後は4日目に95.3%、5日目に95.6%と平衡状態が続いた。

PPG 投与群では、1 回目投与により平均体重は 94.4% と大きく低下したが 2 回目を投与した翌日には 96.8%、また 3 回目を投与した約 10 時間後には 97.2% であった。実験 I におけると同様に、PPG 投与群の各個体の卵巢は体重の増加とともに膨らんで柔らかくなりほとんどの個体で体重測定時に分離卵の放出が確認された。4 日目には体重は 97.7% と上昇して卵巢はますます膨潤し全個体で多量の分離卵の放出が起つた。卵の放出は 5 日目にも盛んに行なわれその結果、体重は 95.1% と大きく減少を示した。

考 察

数種の腹足類で神経分泌物が種々の生理機能を有することが知られている¹⁻⁸⁾。

HEKSTRA and LEVER²⁾ によれば、*Lymnaea* では側神経節除去により体の肥大が生ずる。また ANDREWS⁹⁾ は *Bithynia* で食道下神経節が利尿物質を、食道上神経節が抗利尿物質を産生し、さらに側神経節および壁神経節が浸透圧調節に関与していることを述べている。また彼女は同種の脳神経節が交尾または産卵を支配する可能性を示唆している。今回の実験で、脳神経節投与群は著しく体重が増加し、5 個体中 2 個体で放卵が見られたがこれらの卵は塊状であり放卵量も僅かであった。エゾアワビでは塊状卵は通常、異常な状態において産出されるものであり、またこれらの生殖巣には外見的にも組織学的にも体重増加に伴った変化は認められなかつたところから、ここで見られた放卵は注射刺激による筋収縮などにより機械的に引き起こされたものであり、さらにこの群での増重は体内水分量の増加によるものと考えられる。従つて、脳神経節は前報で示されたように生殖巣の成熟に影響をおよぼし¹⁰⁾産卵には関与しないのであろう。

本種の産卵現象を支配するものは、今回の実験結果からして側・足神経節および内臓神経節と推察される。すなわち、側・足神経節または内臓神経節の懸濁液を投与すると生殖巣が著しく肥大して柔らかくなりそれに伴つて体重も増加する。その後これらの個体は多量の分離卵を放出しそのため体重の顕著な減少をみせる。この卵を、同様処理を施して得た精子で媒精するとほとんどすべての卵で受精・卵割が進行する。これらの事実は、側・足神経節および内臓神経節により誘起された放卵は生理的なものであり、さらに放卵に先立つて生殖巣内への水分取り込みが必要なことを示唆している。

Lymnaea では脳神経節および側神経節が交尾および産卵を支配することが報告されており²⁾、*Aplysia* では壁・内臓神経節、特にそこに位置するバグ細胞群の生産物が産卵を誘起する⁵⁻⁷⁾。また、*Bithynia* でも内臓神経節よりのびる神経中の神経分泌物が生殖機構に関連した生理活性を持つことが示唆されている⁸⁾。これらの種類と同様に、エゾアワビでも実験 I で示されている如く内臓神経節は明らかに放卵を誘起する物質を含む。また実験 I の結果は側・足神経節の投与も放卵を促し得ることを示しているが、この群で 2 回投与のうち第 1 回目に用いた懸濁液は内臓神経節をも含むものであつたため、得られた結果が純粋に側・足神経節によるものかどうかは不明であつた。しかし、この点を確かめるために行なつた実験 II では、側・足神経節投与により実験 I 同様、生殖巣の膨潤による体重増加およびそれに続く分離卵の放出が確認されており、側・足神経節もまた内臓神経節同様放卵に重要な役割を果たすことは明らかである。実験 I の側・足神経節+内臓神経節および内臓神経節投与群では極めて多量の卵を放出したのに対し、実験 II の側・足神経節投与群では前 2 群に比して放卵量が少なかつた。両実験の間には 1 ヶ月の差があり、さらに懸濁液の作成に用いた媒液も異なるのでこれらの結果を同一条件で考えることはできないが、このことは側・足神経節よりも内臓神経節が放卵に主導的に働き得るかまたは一連の放卵機構に最終的に作用するものであること、あるいは両神経節の生産物が産卵の誘発に協調的に作用することを示唆している。また、実験 I の対照群 4 個体のうち 1 個体が浜過海水 1 回投与で放卵したが、この個体は実験開始時に他より著しく重かつたところから投与の時点で既に放卵直前の状態になつていたものと考えられる。

要 約

エゾアワビ *Nordotis discus* REEVE の神経分泌物の果たす生理的役割を明らかにするため、1972 年 10 月および 11 月の同種の産卵期に、未放卵の雌より摘出した脳神経節、側・足神経節または内臓神経節を浜過

海水，煮沸冷却水道水ないし 0.6% NaCl 溶液に，0.1 ml/ 当り 1 個体分の割で懸濁し，その 0.1 ml を 1 日 1 回の割で 1 回から 3 回同じく未放卵雌の頭部体腔域に注射した。

脳神経節投与群では，2 回投与によつて平均約 7% の体重増加がみられたが，同群各個体の卵巣には形態的にも組織学的にも対照個体のそれとの差は見られなかつたので，この体重増加は体内水分の増加によるものと考えられる。他方，側・足神経節，側・足神経節＋内臓神経節または内臓神経節投与群でも投与 1 ないし 2 回で平均 4% 以内の体重増加がみられたが，これらの群では処理個体の卵巣は著しく肥大しかつ柔軟になつており，その後極めて多量の卵を放出したため各群の平均体重は顕著に減少した。従つて，放卵直前の卵巣の膨潤は多分卵巣の水分摂取によるものであり，さらにこの過程が産卵機構に必須のものであることが推察される。また，対照群として汙過海水および煮沸冷却水道水または 0.6% NaCl 溶液を投与した群では，後者投与群で平均約 5% の体重減少が起こつた他には実験期間を通じ特記すべき変化はみられなかつた。

謝 辞

本研究を進めるに当り，終始御指導と御助言を頂いた北海道大学山本喜一郎教授および高橋裕哉助教授に深甚の謝意を表す。また本研究に深い御理解を示され，材料提供をはじめ種々御協力を頂いた岩手県水産試験場下閉伊分場の浜井正博士ならびに場員の各位に心より厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) H. A. BERN and I. R. HAGADORN: in "Structure and function in the nervous systems of invertebrates" (ed. by T. H. BULLOCK and G. A. HORRIDGE), Vol. I, W. H. Freeman and Company, San Francisco and London, 1965, pp. 356-429.
- 2) G. P. HEKSTRA and J. LEVER: *Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc., Ser. C* **63**, 271-282 (1960).
- 3) D. PELLUET and N. J. LANE: *Can. J. Zool.*, **39**, 789-805 (1961).
- 4) D. PELLUET: 同誌, **42**, 195-199 (1964).
- 5) I. KUPFERMANN: *Nature*, **216**, 814-815 (1967).
- 6) F. STRUMWASSER, J. W. JACKLET and R. B. ALVAREZ: *Comp. Biochem. Physiol.*, **29**, 197-206 (1969).
- 7) L. A. TOEVS and R. W. BRACKENBURY: 同誌, **29**, 207-216 (1969).
- 8) E. ANDREWS: *Proc. malac. Soc. Lond.*, **38**, 213-232 (1968).
- 9) T. YAHATA and H. TAKAHASHI: *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **23**, 135-143 (1972).
- 10) T. YAHATA: 同誌, **22**, 207-214 (1971).

Plate 1. Section of ovaries of the abalone injected with the suspensions of cerebral ganglia (Fig. 2), visceral and pleuro-pedal ones (Fig. 3), and visceral one (Fig. 4), and with the vehicles only as a control (Fig. 1). Zenker-formol, Delafield's hematoxyline-eosin $\times 470$.